

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Documentos

ISSN 0103 - 0205
Dezembro, 2007

178

**Biossíntese e Degradação de Lipídios,
Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas**



Embrapa



ISSN 0103-0205
Dezembro, 2007

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Algodão

Documentos 178

Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas

Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão
Maria Isaura Pereira de Oliveira

Campina Grande, PB.
2007

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Algodão

Rua Osvaldo Cruz, 1143 – Centenário
Caixa Postal 174
CEP 58107-720 - Campina Grande, PB
Telefone: (83) 3315-4300
Fax: (83) 3315-4367
algodao@cnpa.embrapa.br
http://www.cnpa.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Nair Helena Castro Arriel
Secretária: Nívia Marta Soares Gomes
Membros: Demóstenes Marcos Pedroza de Azevêdo
Everaldo Paulo de Medeiros
Fábio Aquino de Albuquerque
Francisco das Chagas Vidal Neto
João Luiz da Silva Filho
José Wellington dos Santos
Luiz Paulo de Carvalho
Nelson Dias Suassuna

Supervisor Editorial: Nívia Marta Soares Gomes
Revisão de Texto: Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão
Tratamento das Ilustrações: Oriel Santana Barbosa
Capa: Flávio Tôrres de Moura/Maurício José Rivero Wanderley
Editoração Eletrônica: Oriel Santana Barbosa

1ª Edição

1ª impressão (2007) 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

EMBRAPA ALGODÃO (Campina Grande, PB)

Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em
Oleaginosas, por Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão. Campina Grande,
2007

61p. (Embrapa Algodão. Documentos, 178)

1. Fisiologia vegetal 2. Metabolismo vegetal I. Beltrão, N.E.de M. II.
Oliveira, M.I.P. de III.Título. IV. Série.

CDD 574.192

© Embrapa 2007

Autores

Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão

Eng. agrôn. D.Sc. da Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143,
Centenário, CEP 58107-720, Campina Grande, PB, E-mail:
napoleao@cnpa.embrapa.br

Maria Isaura Pereira de Oliveira

Doutorado em Bioquímica Agrícola pela UFV, estagiária da Embrapa
Algodão. E-mail: oliveira_mip@yahoo.com.br

Apresentação

Através da fotossíntese, a planta usa a energia solar para oxidar a água, enquanto liberam oxigênio, e reduzem o gás carbônico em combinações orgânicas, principalmente açúcares (sacarose e amido), para produzirem energia utilizável pelas células. Este é um processo do anabolismo, em que a planta acumula energia a partir da luz para uso no seu metabolismo, formando o ATP (Adenosina trifosfato), a moeda energética dos organismos vivos.

Os carboidratos, os lipídios e outras moléculas armazenadoras de energia são quebradas pela célula e consumidas na forma de ATP a partir de ADP (Adenosina Difosfato) e Pi (Fósforo inorgânico). O ATP fornece a energia para a maioria das atividades celulares que requerem energia e participa como transportador de energia, na maioria das séries de reações que ocorrem nos sistemas vivos.

O presente documento revisa o conhecimento científico acumulado na literatura para esclarecer como a maioria das plantas oleaginosas de metabolismo fotossintético C_3 , caso do algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch.), mamona (*Ricinus communis* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e gergelim (*Sesamum indicum* L.) produzem bem menos do que as plantas produtoras mais de açúcares, caso do milho (*Zea mays*), que tem somente 14% de óleo nas sementes, além de ser de metabolismo fotossintético C_4 , para produzir óleo a planta gasta mais de três vezes a energia que é usada para produzir açúcar, e no caso da cana-de-açúcar (*Saccharum officinale*) a sacarose é o mais acumulado, e é o açúcar translocável em todas as plantas, sendo assim, mais eficiente e mais econômico para a planta o seu acúmulo.

Robério Ferreira dos Santos
Chefe Geral da Embrapa Algodão

Sumário

Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas	11
1. Introdução.....	11
2. Considerações Gerais.....	12
3. Fotossíntese.....	15
3.1 A via em C ₃ das plantas de oleaginosas.....	17
3.2 A via em C ₄ das plantas tropicais.....	20
4. Via glicolítica.....	22
5. A degradação de substratos da oxidação biológica.....	24
6. Transporte de elétrons.....	26
7. Ciclo de Krebs.....	27
8. Síntese de proteína.....	28
9. Degradação de lipídios.....	37
10. Síntese de proteína.....	47
11. Degradação de proteína.....	49
12. Aminoácidos em plantas.....	51
13. Considerações finais.....	52
14. Conclusões.....	54
15. Referências Bibliográficas.....	55

Biossíntese e Degradação de Lipídios, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas

Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão
Maria Isaura Pereira de Oliveira

1. Introdução

Metabolismo é o conjunto das reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula na presença de enzimas específicas e que garantem certa direção a essas reações. O metabolismo das plantas é dividido didaticamente em metabolismo primário e metabolismo secundário, mas, na realidade, não existe uma divisão exata entre estes dois tipos de metabolismo. Admite-se, porém, que os lipídios, as proteínas, os carboidratos e os ácidos nucleicos, que são comuns aos seres vivos e essenciais para a manutenção das células, são originados do metabolismo primário.

A fotossíntese pode ser considerada como um dos processos biológicos mais importantes da Terra. Todo o metabolismo vegetal está condicionado aos processos fotossintéticos. Destes resultam todas as substâncias do metabolismo primário, as quais por sua vez irão originar os metabólitos secundários.

As plantas usam a energia do sol para oxidar a água e, assim, produzir oxigênio, e para reduzir o dióxido de carbono, produzindo compostos orgânicos, principalmente sacarose e amido, para produzirem energia utilizável pelas células. As plantas também precisam de ATP (Adenosina Trifosfato); uma parte desse ATP também envolve o consumo de oxigênio,

enquanto outra, utiliza diretamente a energia solar. Assim, as plantas fixam CO_2 e produzem oxigênio, em organelas celulares denominados cloroplastos, e consomem oxigênio e produzem CO_2 , nas mitocôndrias. Estes mecanismos envolvem moléculas que transportam elétrons e prótons, criando gradientes de carga que, por sua vez, são utilizados na síntese do ATP.

Os carboidratos, os lipídios e outras moléculas armazenadoras de energia são quebradas pela célula e consumidas na forma de ATP a partir de ADP (Adenosina Difosfato) e Pi (Fósforo inorgânico). O ATP fornece energia para a maioria das atividades celulares, que requerem energia e participa, como transportador de energia, na maioria das séries de reações que ocorrem nos sistemas vivos.

Objetiva-se com este trabalho, tentar esclarecer por que as plantas oleaginosas, a maioria de metabolismo C_3 , produzem bem menos do que as plantas produtoras de açúcares; a exemplo do milho (*Zea mays*) de metabolismo C_4 , que tem somente 14% de lipídios nas sementes e para produzi-los a planta gasta mais de três vezes a energia que é usada para produzir açúcar e da cana-de-açúcar (*Saccharum officinale*) em que a sacarose é o mais acumulado e é o açúcar translocável em todas as plantas.

2. Considerações Gerais

A vida de uma angiosperma, normalmente começa com uma dupla fertilização no interior do saco embrionário do órgão reprodutor feminino. A oosfera funde-se com um dos núcleos masculinos, provenientes do pólen em germinação, para formar o zigoto, enquanto os dois núcleos polares do saco embrionário e o segundo núcleo masculino se fundem para originar um o núcleo triploide do endosperma. O embrião geralmente passa, rapidamente e sem interrupção, pela sua embriogênese precoce. O seu crescimento pára, o teor de água cai e a atividade metabólica diminui, antecedendo a dispersão da semente (STREET; ÖPIK, 1970).

A germinação é um processo anfibólico que envolve tanto reações catabólicas, como a degradação de reservas, quanto reações anabólicas, na produção de novas células e organelas do embrião. A germinação da mamona (*Ricinus comunis* L.) assemelha-se com a da soja (*Glycine max* L.), exceto que as substâncias de reserva da mamona se encontram no endosperma. À medida que o hipocótilo se descurva, o endosperma e, frequentemente, o tegumento são carregados juntamente com os cotilédones e a plúmula para cima. Durante este período, as substâncias digeridas do endosperma são absorvidas pelos cotilédones e transportadas para as plantas jovem. Tanto na soja como na mamona, os cotilédones tornam-se verdes mediante exposição à luz, mas não desempenham uma função fotossintética importante (RAVEN, 1978).

Os cotilédones na germinação epígea, podem contribuir para o crescimento do embrião pela fotossíntese, que começa logo depois que os cotilédones emergem do solo e se tornam verde, sintetizando cloroplastos e outras organelas. Em certas espécies como ervilha e feijão, os cotilédones contêm 25-40% de proteínas; o restante são carboidratos, principalmente amido. Sementes de oleaginosas, como a de mamona, contêm em média 18% de proteína e 48% de lipídios e ausência de carboidratos (Tabela 1). A proteína é armazenada em corpúsculos envolvidos por uma membrana, chamados corpúsculos de aleurona. Os lipídios também estão dentro de corpúsculos denominados esferossomos. As membranas dos corpúsculos de aleurona e os esferossomos também são constituídos de proteínas, lipídios e podem ser metabolizados durante o desenvolvimento do embrião. Em termos metabólicos, a germinação das sementes pode ser classificada em três etapas principalmente:

- 1) a embebição de água;
- 2) a reativação de organelas e macromoléculas preexistentes, formadas durante a manutenção, e
- 3) respiração de reserva, gerando ATP (trifosfato de adenosina) como fonte de energia para o crescimento (FERRI, 1979; STREET; ÖPIK, 1970).

Tabela 1. Conteúdo médio de reserva estocado em sementes de oleaginosas.

Espécie	Composição (%)			Órgão de reserva
	Lipídio	Proteína	Carboidrato	
Dendê/palma (<i>Elaeis guineensis</i>)	22	9,0	28,0	Endosperma
Girassol (<i>Helianthus annuus</i> L.)	43	25,0	2,0	Cotilédone
Colza/Canola (<i>Brassica napus</i> L.)	44	21,0	19,0	Cotilédone
Mamona (<i>Ricinus communis</i> L.)	48	18,0	0,0	Endosperma
Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	42	31,0	12,0	Cotilédone
Soja (<i>Glycine max</i> L.)	18	37,0	26,0	Cotilédone
Gergelim (<i>Sesamum indicum</i> L.)	49	18,5	21,1	Cotilédone
Algodão (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	15	21,0	27,5	Cotilédone

Silveira (1934); Weiss (1983); Eastmond e Graham (2001); Anuário Brasileiro de Agroenergia (2007).

Tão logo o crescimento começa, nas regiões embrionárias, a síntese de ácidos nucleicos, tanto RNA (ácido ribonucleico) como DNA (ácido desoxirribonucleico), inicia-se nessa região. Sementes secas possuem baixos teores de ácidos nucleicos, e os níveis de RNA e/ou DNA, por plântula, aumentam precocemente durante a germinação (STREET; ÖPIK, 1970).

As enzimas preexistente numa forma inativa e que aparecem cedo durante a germinação, incluem amilopectina glucosidades, β -amilases e fosfatases. As enzimas da síntese de *novos* incluem lipases, α -amilase, redutase de nitrato, isocitritase e lisase de fenilalanina-amônia.

As mitocôndrias são também rapidamente reativadas para produção de ATP. A respiração e a absorção de oxigênio aumentam rapidamente nas primeiras etapas da germinação. Os primeiros compostos a serem fosforilados na semente são as hexoses com conteúdo de água de 16,2%. Um pouco mais tarde com 23% de água, NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo), ATP e UDP (Uridina Difosfato) também foram formados, sugerindo que açúcares preexistentes são rapidamente utilizados para produzir compostos fosforilados, rico em energia (FERRI, 1979).

Uma vez que todos os sistemas preexistentes estão em operação, novas organelas, proteínas estruturais e enzimas são produzidas através das reservas. A fase final é caracterizada por divisão celular não sincronizada,

juntamente com um aumento contínuo do peso fresco e na taxa de respiração. Quando a parte aérea fica verde e fotossintetizante e as raízes estão absorvendo nutriente do solo, a planta jovem entrou na fase autotrófica.

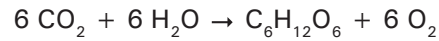
A reserva principal em muitas sementes é o amido hidrolisado por dois caminhos biossintético. O primeiro caminho é o mais comum das etapas iniciais, devido ao fato de que a enzima fosforilase já está presente na semente seca e produz rapidamente glicose para a respiração, sem gastar ATP. O segundo caminho é provavelmente o mais importante, mas começa mais tarde, quando a síntese de *novo* α -amilase está completa (RAVEN, 1978).

As proteínas da semente são hidrolisadas por várias proteases e peptidases. As proteases principalmente no endosperma, produzem aminoácidos livres ou peptídios, enquanto as peptidases degradam os peptídios em aminoácidos; as peptidases ocorrem mais no eixo embrionário. As proteínas são geralmente hidrolisadas *in situ*, dentro dos corpúsculos de aleurona, que formam vacúolos. Além de conterem proteína, estes corpos também contêm ácidos nucléicos, carboidratos e minerais, como fósforo, potássio, cálcio e magnésio, que sobraram durante a síntese de proteínas na fase de maturação. Quatro classes de proteínas ocorrem em sementes: albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas (STREET; ÖPIK, 1970).

Os lipídios são estocados na forma de triacilgliceróis e são hidrolisados a ácidos graxos e glicerol, por lipases. Em girassol (*Helianthus annuus* L.), os esqueletos das moléculas dos ácidos graxos são utilizados para produção de aminoácidos e açúcar ou podem ser reciclados para as membranas das organelas (FERRI, 1979).

3. Fotossíntese

Pode-se definir fotossíntese como a formação de substâncias complexas (carboidratos) a partir de substâncias simples (como CO_2 e H_2O), tendo como fonte de energia a luz solar. A equação básica da fotossíntese é simples:



Nessa equação, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ representa um carboidrato, primariamente sacarose e amido. A energia armazenada nessas moléculas pode ser utilizada mais tarde para impulsionar processos celulares na planta e servir como fonte de energia para todas as formas de vida. O mecanismo da fotossíntese é complexo e requer a interação de muitas proteínas e moléculas pequenas. A fotossíntese nos vegetais verdes ocorre nos cloroplastos, que são organelas com 3-10 μm de comprimento e 0,5-2 μm de diâmetro (Fig. 1). Uma célula vegetal pode conter até 200 cloroplastos (KROGMANN, 1973). O sistema de conversão de energia é a parte integrante do sistema de membranas tilacóides dessas organelas.

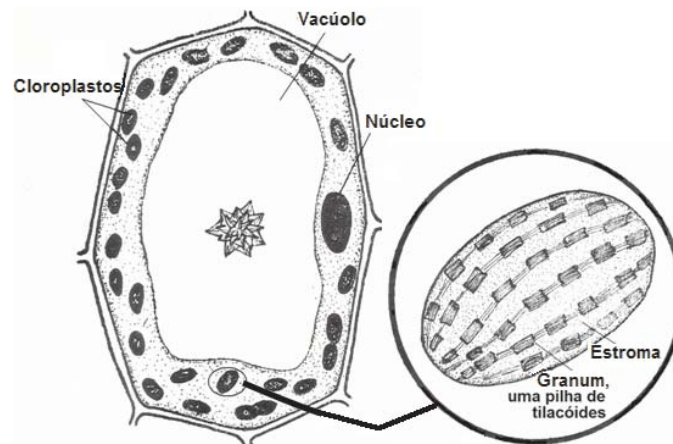


Fig. 1. Representação esquemática de um cloroplasto. Adaptada de Morandini (1974).

A primeira etapa na fotossíntese é a absorção de luz pela clorofila, uma porfirina com íon de magnésio coordenado. A excitação elétrica resultante passa de uma molécula de clorofila para outra, em um complexo receptor de luz, até que a excitação seja captada por uma molécula de clorofila com propriedades especiais. Em tal centro de reação, a energia dos fótons excitados é convertida em uma separação de cargas. Em essência, a luz é usada para criar um potencial redutor.

A iluminação promove (1) a geração de um gradiente de prótons transmembrana para a formação de ATP e (2) a criação de um poder redutor para a produção de NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo forma reduzida). A luz absorvida por moléculas de clorofila no complexo receptor de luz do fotossistema II é encaminhada para um centro de reação P_{680} . Um elétron é transferido do P_{680} para a feofitina e, daí, para plastoquinona reduzida (QH_2). O centro de reação recupera elétrons da água por ação de uma proteína contendo manganês, o que causa o desprendimento de O_2 . Portanto, a reação global catalisada pelo fotossistema II é a transferência de elétrons, induzida pela luz, da água para a plastoquinona. Os elétrons do fotossistema II fluem para o fotossistema I, através do complexo de citocromo b_6f . Esse complexo transmembrana bombeia prótons para dentro do espaço tilacóide quando os elétrons são transferidos de QH_2 para plastocianina, uma proteína hidrossolúvel. O fotossistema I participa na transferência movida a luz de elétrons da plastocianina para P_{700} e, daí, para ferredoxina, um acceptor poderoso. A ferredoxina NADP redutase, uma flavoproteína localizada no lado da estroma da membrana, catalisa, então, a formação de NADPH. Portanto a interação do fotossistema I e II leva à formação de elétrons de H_2O para HADPH e a concomitante geração de prótons para a síntese de ATP (ARNON et al., 1955). Em outra alternativa, os elétrons da ferredoxina podem fluir de volta para fotossistema I pelo complexo do citocromo b_6f ; esse modo de ação do fotossistema, chamado de fotofosforilação cíclica, ocasiona a geração de um gradiente de prótons sem a formação de NADPH (FINAZZI et al., 1999). A ATP sintetase de cloroplastos é também chamada de CF_0 - CF_1 . A síntese de ATP é impelida pelo fluxo de prótons do espaço tilacóide, pelo canal transmembrana de CF_0 para CF_1 no lado do estroma da membrana (LEHNINGER, 2002).

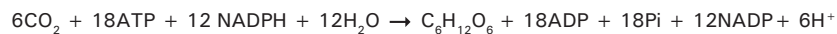
3.1 A via em C_3 das plantas oleaginosas

Os organismos fotossintéticos transformam em carboidratos CO_2 e água por meio da redução do CO_2 , que utiliza a energia fornecida pelo ATP e pelo NADP, gerados por transferência fotossintética de elétrons. Esse

processo representa uma diferença fundamental entre os organismos autotróficos e heterotróficos. Os autotróficos, como os vegetais, podem empregar o CO₂ como única fonte de átomos de carbono necessários para a reação de biossíntese, não apenas de celulose e amido, mas também de lipídios e proteínas e de todos e muitos variados componentes orgânicos das células vegetais.

As plantas verdes contêm em seus cloroplastos uma maquinaria enzimática única, que catalisa a conversão do CO₂ em compostos orgânicos simples, em um processo denominado assimilação de CO₂, ou fixação do CO₂, onde o carbono é incorporado no 3-fosfoglicerato.

A assimilação do CO₂ realiza-se por meio de uma via cíclica na qual os intermediários-chave são constantemente regenerados. O ciclo de Calvin é o ponto de partida para o metabolismo de carbono em plantas. É uma série complexa de 13 reações catalisada por onze enzimas (BASSHAM; KRAUSE, 1969; LEEGOOD, 1990). Começa com a reação de CO₂ com a ribulose 1,5-bifosfato (RuDP) para formar duas moléculas de 3-fosfoglicerato (composto de 3 carbonos - C₃). O ciclo completo está esquematizado na Figura 2. Segundo Pettersson e Ryde-Pettersson (1988) o ciclo de Calvin é a via responsável pela formação de amido nos cloroplastos de plantas C₃. Culturas agrícolas como algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.), mamona (*Ricinus comunis* L.), amendoim (*Arachis hypogea* L.) e gergelim (*Sesamum indicum* L.), são exemplos de plantas que apresentam metabolismo fotossintético C₃. Cada etapa é regulada por uma enzima específica. A cada volta completa do ciclo, uma molécula de CO₂ que entra é reduzida e uma molécula de RuDP (Ribulose Difosfato) regenerada. Seis voltas do ciclo são necessárias, com a introdução de seis átomos de carbonos, para produzir um açúcar de seis carbonos, como a glicose. A equação é:



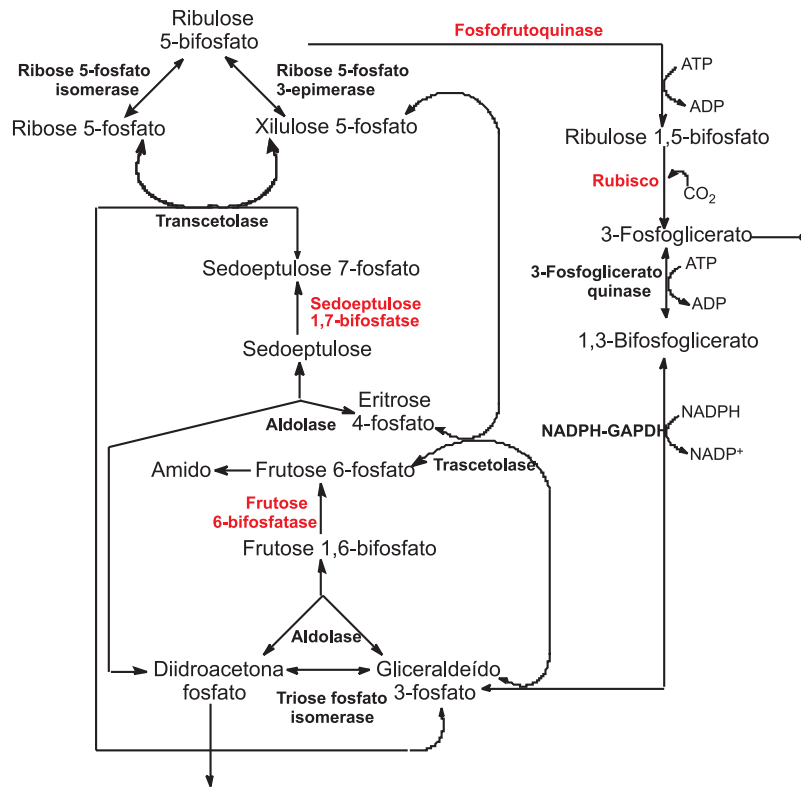


Fig. 2. Ciclo de Calvin. NADPH-GAPDH (Dihidroxicetona 3-fosfato desidrogenase e, gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase), as enzimas destacada em vermelho catalisam reações irreversíveis. Adaptada de Fridlyand e Scheibe (1999).

Desse modo, são consumidas três moléculas de ATP e duas de NADPH na conversão de CO₂ em uma hexose, como a glicose ou a frutose. A eficiência da fotossíntese pode ser avaliada do seguinte modo:

1. A variação de energia livre ($\Delta G'$) para a redução de CO₂ ao nível de hexose é de + 144 kcal/mol.
2. A redução de NADP⁺ é um processo com dois elétrons. Daí, a formação de dois NADPH requer a absorção de quatro fótons pelo fotossistema I. Os elétrons dados pelo fotossistema I são substituídos pelo fotossistema

II, que precisa absorver um número igual de fótons. Portanto, é preciso haver oito fótons para gerar o NADPH necessário. O gradiente de prótons gerado na produção de dois NADPH é mais do que suficiente para alimentar a síntese dos três ATPs.

3. Um mol de fótons de 600 nm tem um conteúdo de energia de 47,6 kcal, e, portanto, a entrada de energia de oito mols de fótons é de 381 kcal. Assim, a eficiência global da fotossíntese em condições padrão é de, pelo menos, $114/381$ ou 30%.

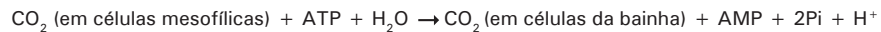
A síntese da sacarose no citosol e a síntese do amido do cloroplasto são duas grande formas pelas quais o excesso de triose é armazenado. Os passos de síntese de sacarose liberam quatro moléculas de Pi de cada uma das quatro tioses fosfato requeridas para a síntese de uma molécula de sacarose. Esse Pi é transportado de volta ao cloroplasto e empregado para a síntese de ATP, substituindo a molécula de Pi que é empregada para gerar uma triose fosfato. Para cada molécula de triose fosfato que sai do cloroplasto, um Pi é transportado para o seu interior. Se essa troca for bloqueada, a síntese de trioses fosfato rapidamente reduzirá o P_i disponível no cloroplasto e impedirá a assimilação de CO_2 no amido (HELDT, 2005).

A diidroxicetona formada no estroma pela assimilação de CO_2 é transportada para o citosol, onde ela é convertida pelas enzimas glicolíticas em 3-fosfoglicerato, gerando ATP e NADP. O 3-fosfoglicerato reentra no cloroplasto, completando o ciclo. O efeito líquido final é o transporte de NADPH/NADH e ATP do cloroplasto para o citosol (HELDT, 2005).

3.2 A via em C_4 das plantas tropicais

Pesquisas recentes concluíram que o ciclo de Calvin não é a única via para fixação de carbono. O primeiro indício da existência de um mecanismo de transporte de CO_2 veio de estudos evidenciando que a radiotividade de um pulso de $^{14}CO_2$ ocorria inicialmente em malato e aspartato, que são

composto de quatro carbonos (C₄) e não no 3-fosfoglicerato. Em algumas plantas, como a cana-de-açúcar (*Saccharum officinale*) e o milho (*Zea mays*), o carbono é incorporado no oxaloacetato, um composto de quatro átomos de carbono, que são um dos intermediários do ciclo de Krebs. A essência dessa via é que os compostos em C₄ transportam o CO₂ das células mesofílicas, que estão em contato com o ar, para as células da bainha, que são os locais principais da fotossíntese (Fig. 3). O CO₂ é concentrado nas células da bainha à custa de ATP. O piruvato formado pela descarboxilação de malato nas células envoltória do feixe vascular é transferido de volta às células mesofílicas, onde ele é convertido em fosfoenolpiruvato por uma reação enzimática incomum, catalisada pela enzima piruvato fosfato diquinase. A reação total dessa via é:



Portanto, duas ligações de fosfato ricas em energia são consumidas no transporte de CO₂ para os cloroplastos das células da bainha. Quando a via em C₄ transformam-se juntos, por meio da reação global é:



Foram consumidos 30 ATP por hexose formada, quando a via em C₄ entrega CO₂ para o ciclo de Calvin, em contraste com 18 ATP por hexoses na ausência da via em C₄. A alta concentração de CO₂ nas células da bainha de plantas C₄, que é devida ao gasto de mais de 12 ATP, é crítica para a sua alta velocidade de fotossíntese, porque o CO₂ também torna mínima a perda de energia causada pela fotorrespiração.

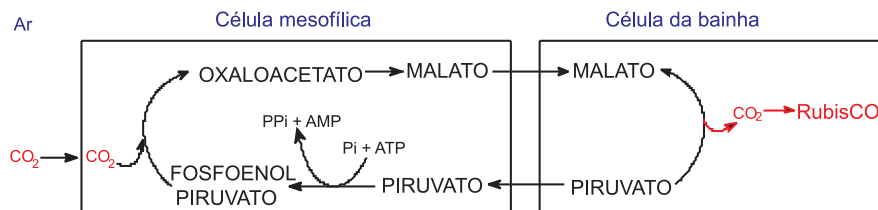


Fig. 3. Princípio do metabolismo C₄. Adaptada de Lehninger (2002).

4. Via Glicolítica

No processo de oxidação biológica, substratos como carboidratos são oxidados para formar água e CO_2 . Oxidação biológica pode ser vista como um processo reverso da fotossíntese. Isto ocorre somente depois que o oxigênio da atmosfera tenha sido acumulado pela fotossíntese. Ambas, oxidação biológica e fotossíntese, servem para gerar energia na forma de ATP. Oxidação biológica envolvendo o transporte de ATP ocorre na mitocôndria pela cadeia transportadora de elétrons, que é, em parte, similar à transferência de elétrons fotossintéticos (PLAXTON, 1996).

As moléculas de hidrato de carbono que fornecem energia ocorrem geralmente nas plantas sob a forma de amido ou sacarose. Uma etapa preliminar, necessária para a seqüência respiratória, consiste de hidrólise de duas moléculas de transporte ou armazenamento em monossacarídeos. A respiração em si geralmente é considerada como tendo início com a glicose, que constitui o bloco de construção da sacarose e do amido. A molécula de glicose é degradada em três etapas distintas: a glicólise, o ciclo do ácido cítrico, também chamado de ciclo dos ácidos tricarboxílico (TCA) ou ciclo de Krebs, e a cadeia transportadora de elétrons.

A glicólise é o conjunto de reações iniciais da degradação da glicose e ocorre na matriz citoplasmática. A glicose tem seis átomos de carbonos e sua divisão em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbonos, ocorre em uma seqüência de dez passos. Tem início com a ativação da glicose, que recebe dois grupos de fosfato, fornecidos pelo ATP, que se transforma em ADP. Por este processo de fosforilação, a glicose transforma-se em frutose 1,6-bifosfato, que será quebrada para liberar duas moléculas de três carbonos, a diidroxicetona fosfato e o gliceraldeído 3-fosfato. Cada molécula de gliceraldeído 3-fosfato é oxidada e fosforilada por fosfato inorgânicos para formar 1,3-bifosfoglicerato. A liberação de energia ocorre quando as duas moléculas de 1,3-bifosfoglicerato são convertidas em duas moléculas de piruvato. A maior parte dessa energia é conservada pela fosforilação acoplada de quatro moléculas de ADP para ATP, o produto de duas moléculas de ATP por

molécula de glicose empregada, uma vez que duas molécula de ATP foram investidas na fase preparatória da glicólise. A energia também é conservada na fase de pagamento na formação de duas moléculas de NADH por molécula de glicose (LEHNINGER, 2002). A via glicolítica de plantas está ilustrada na Figura 4.

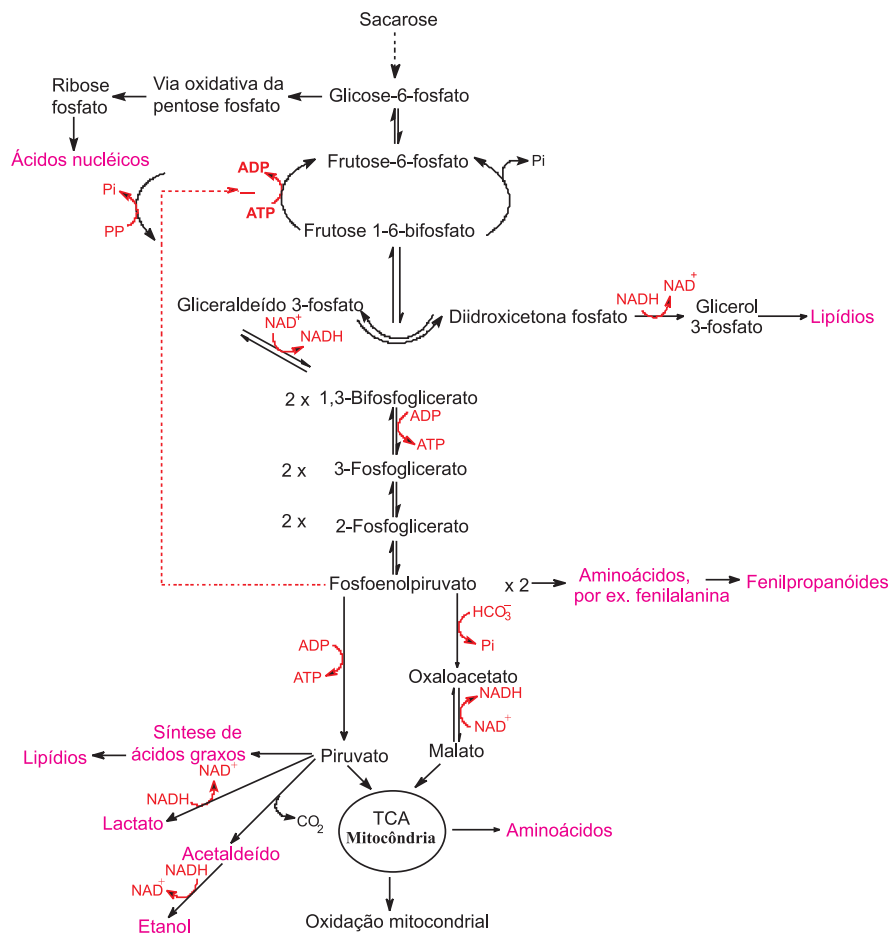


Fig. 4. Esquema da via da glicólise citosólica em plantas. A glicose, a principal matéria-prima da respiração é transformada em duas moléculas piruvato, duas moléculas de NADH, e quatro moléculas de ATP. Sendo assim a célula necessita dar seguimento a respiração e consome dois ATPs para entrar na mitocôndria onde ocorre o 2º processo da respiração o ciclo de Krebs. Adaptada de Heldt (2005).

Sabe-se que a glicólise ocorre em praticamente todos os seres vivos, mesmo que complementada com outras reações, o que parece confirmar que deverá ter sido o primeiro fenômeno eficiente de produção de energia em células. À medida que a molécula de glicose é oxidada, uma certa parte de energia, que foi armazenada nela pelas reações ocorridas nos cloroplastos, é extraída em uma série de pequenas etapas sob a forma de ATP (CARRARI et al. 2003; HELDT, 2005; SCHWENDER; OHLROGGE; SHACHAR-HILL, 2004).

5. Degradação de Substratos da Oxidação Biológica

Como todo organismo vivo, as plantas requerem energia para o seu crescimento, desenvolvimento, reprodução e manutenção. Esta energia é conservada geralmente na forma de ATP que, em plantas, ocorre principalmente por dois mecanismos: fotofosforilação nos cloroplastos e fosforilação oxidativa na mitocôndria. Transdução de energia em plantas é, portanto, um complexo de inter-função entre cloroplasto e metabolismo mitocondrial, que é realizado por compostos como ATP, NADPH e ácidos de carboxílicos (HOEFNAGEL; ATKIN; WISKICH, 1998).

A mitocôndria é vital em organelas eucarióticas, está presente em todas as células. São organelas que assumem, em geral, dimensões variáveis, podendo ser, muitas vezes de 0,5 μ m de comprimento e 3 μ m de diâmetro (Fig. 5). Foram reconhecidas há 50 anos como o sítio do metabolismo de energia oxidativa e síntese da maioria dos ATP para respiração em plantas. As mitocôndrias de plantas superiores são conhecidas por diferenciar substancialmente de outros eucariotos em vários aspectos (MACKENZIE e McINTOSH, 1999), incluindo a existência de uma oxidase alternativa, pelo menos quatro desidrogenase NADH extra (FINNEGAN et al. 2004), dois revestimento interno, duas face externa, além de complexo I (MOLLER; RASMUSSEN, 1998) a mitocôndria da folha tem alta capacidade para oxidação de glicina (DOUCE, 2001).

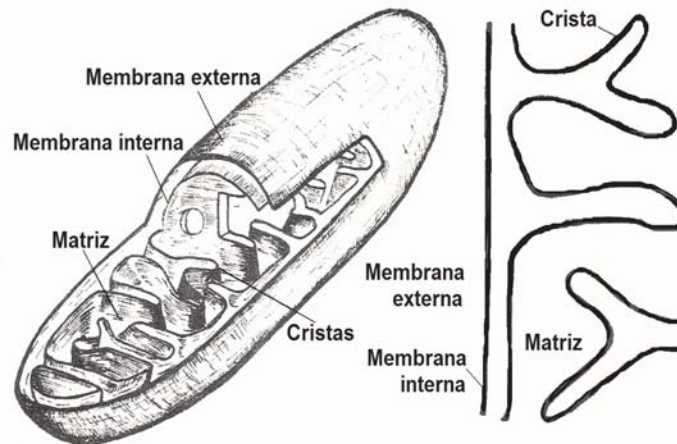
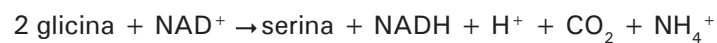


Fig. 5. Representação esquemática de uma mitocôndria. Adaptada de Morandini (1974).

A presença de plastídios, como organelas bioenergética adicional, realça uma diferença fundamental entre mitocôndria de uma planta e as de outros organismos, o envolvimento delas na fotorrespiração. Além dos papéis em duas importantes funções, na respiração e na fotorrespiração, as mitocôndrias estão envolvidas na produção de muitos compostos, como fosfolipídios, nucleotídios e vários aminoácidos (LOGAN, 2006). Kennedy e Lehninger (1949) descobriram que as mitocôndrias contêm os complexos respiratórios, as enzimas do ciclo de Krebs e as enzimas da oxidação dos ácidos graxos. As mitocôndrias das plantas fornecem ATP, durante os períodos de iluminação ou na escuridão, por meio de mecanismos inteiramente análogos àqueles usado pelos organismos não-fotossintéticos (HOEFNAGEL; ATKIN; WISKICH, 1998). Na luz, a principal fonte de NADH mitocondrial é a reação na qual a glicina é convertida pela fotorrespiração em serina:



As plantas devem efetuar esta reação, mesmo quando não têm necessidade de usar NADH para produzir ATP (HELDT, 2005). Para gerar NAD^+ , a partir do NADH desnecessário, a mitocôndria transfere elétrons do NADH diretamente para a ubiquinona e da ubiquinona, diretamente para o O_2 , desviando-os dos complexos III e IV e de suas bombas de prótons (LEHNINGER, 2002).

6. Transporte de Elétrons

Além dos complexos clássicos I (NADH desidrogenase), II (succinato desidrogenase), III (citocromo c redutase) e IV (citocromo c oxidase), a mitocôndria das plantas possui mais um complexo, uma via respiratória alternativa denominada, oxidase alternativa, que participa no transporte de elétron (SIEDOW; UMBACH, 1995). Nessa via, a plastoquinona reduzida (QH_2), que é resistente ao cianeto, transfere os elétrons do reservatório de ubiquinona (Q) diretamente para o oxigênio, desviando-os das duas vias de translocação de prótons dos complexos III e IV (Fig. 6). A energia que poderia ser conservada como ATP é liberada na forma de calor. A mitocôndria das plantas também apresenta uma desidrogenase alternativa que é insensível à retenona, um inibidor do complexo I, que transfere elétrons do NADH na matriz diretamente para ubiquinona, desviando do complexo I e do seu associado bombeamento de prótons. As mitocôndrias das plantas possuem ainda uma outra NADH desidrogenase, na face externa da membrana interna, que fica de frente ao espaço intermembranoso e transfere os elétrons do NADPH ou NADH para ubiquinona, desviando novamente do complexo I. Assim, quando os elétrons entram na via respiratória alternativa por meio de NADH desidrogenase insensível à retenona, a NADH desidrogenase externa ou ao succinato desidrogenase (complexo II) e passam para o O_2 via oxidase alternativa resistente ao cianeto, a energia não é conservada como ATP, mas liberada como calor (LEHNINGER, 2002; MICHALECKA et al. 2004; MOORE et al. 2003).

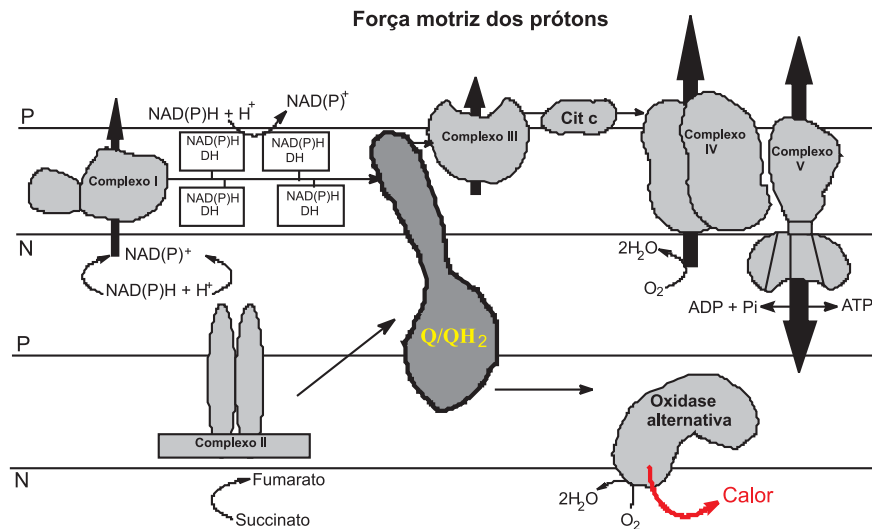


Fig. 6. Representação esquemática da cadeia respiratória mitocondrial de plantas. As setas finas e grossas representam a transferência de elétrons ao longo da membrana mitocondrial interna. QH_2 : plastoquinona reduzida; Q: ubiquinona; DH: desidrogenase; cit c: citocromo c; P e N referem as cargas positiva e negativa, respectivamente da membrana interna da mitocôndria. Adaptada de Affourtit; Krab; Moore (2001).

7. Ciclo de Krebs

Ocorre na matriz mitocondrial nos seres eucariontes e consiste numa série de reações complexas de descarboxilações e desidrogenações. Essa convergência irreversível do produto da glicólise para o ciclo do TCA é catalisada pelo complexo piruvato desidrogenase. O ciclo começa com a condensação do oxaloacetato (C_4) em acetil-CoA (C_2) para formar citrato (C_6), que é isomerizado a isocitrato (C_6). A descarboxilação desse intermediário fornece cetoglutarato (C_5). Citrato e isocitrato pertencem a metabolitos fundamental em células de plantas. É o principal ponto de controle das vias metabólicas envolvendo biossíntese e metabolismo energético. A conversão de citrato e isocitrato são passos iniciais do ciclo de Krebs. A reação catalisada por citrato sintase e isocitrato desidrogenase são os pontos cruciais da taxa de regulação de ciclo de Krebs (POPOVA; CARVALHO, 1998).

A segunda molécula de CO_2 é produzida na reação seguinte, na qual o cetoglutarato é descarboxilado oxidativamente a succinil-CoA (C_4). A ligação tioéster da succinil-CoA é clivada por P_i para produzir succinato e uma ligação fosfato de alta energia na forma de GTP é gerada concomitantemente. O succinato é oxidado a fumarato (C_4) que é então liberado para formar malato. Finalmente, malato é oxidado para regenerar oxaloacetato (C_4). Assim, os dois átomos de carbonos de acetil-CoA entram no ciclo e dois átomos de carbonos deixam o ciclo como CO_2 , por descarboxilações sucessivas catalisadas pela isocitrato desidrogenase e cetoglutarato desidrogenase (Fig. 7a). Cada molécula de glicose decorrem duas etapas do ciclo de Krebs, pois formam-se duas moléculas de piruvato no fim da glicólise. Nas quatro reações de óxido-redução do ciclo, três pares de elétrons são transferidos ao NAD^+ e um par ao FAD. O ciclo de Krebs é uma importante fonte de equivalentes redutores para a fosforilação oxidativa (POPOVA; CARVALHO, 1998).

A produção de energia por uma molécula de glicose está ilustrada na Tabela 2.

8. Síntese de Lipídios

Os ácidos graxos são fontes de energia importantes para os tecidos vegetais. Nas células fotossintéticas dos vegetais, a síntese dos ácidos graxos ocorre no estroma dos cloroplastos. Nos cloroplastos, o NADH provindo da fotossíntese é requerido para a síntese de ácidos graxos. Mas, ainda não está claro como acetil-CoA é formado do produto de fixação do CO_2 . Nos cloroplastos, dependendo do estágio de desenvolvimento da célula, a atividade da piruvato desidrogenase é frequentemente baixa. Por outro lado, acetil-CoA sintetase nos cloroplastos possui alta afinidade pelo acetato e consome ATP para converter a acetil-CoA (Fig. 8) (HELDT, 2005).

A síntese dos ácidos graxos começa com a carboxilação de acetil-CoA, a malonil-CoA. Essa reação irreversível é a etapa de controle da síntese dos

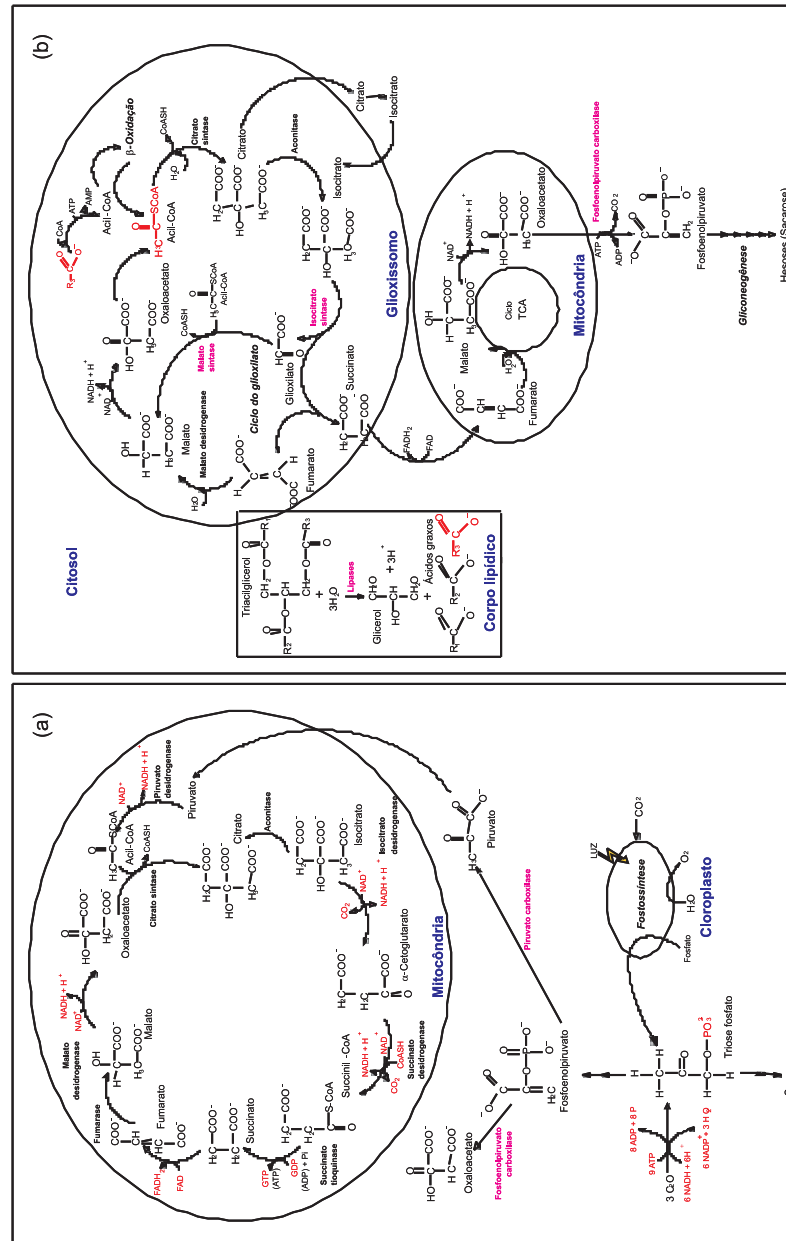
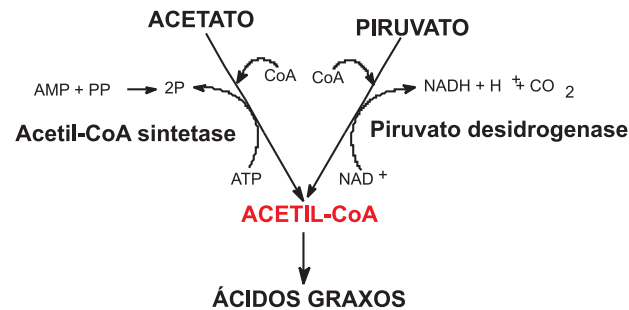


Fig. 7. Transição metabólica de autotrófico (a) para heterotrófica (b) durante o crescimento e germinação de sementes de oleaginosas. Adaptada de Heldt (2005).

Tabela 2. Balanço de ATP para oxidação completa da glicose pela via aeróbica.

Etapa	Produto direto	ATP final
Glicose para piruvato	2 NADH (citossólico)	3 ou 5*
	2 ATP	2
Oxidação do piruvato a acetil-CoA (dois por glicose)	2 NADPH (matriz)	5
Oxidação do acetil-CoA no ciclo de Krebs (dois por glicose)	6 NADH (matriz)	15
	2 FADH	3
	2 ATP ou 2 GTP	2
Total de ATP do processo		30 ou 32

* O número depende do tipo de lançadeira que transfere equivalentes redutores na mitocôndria; ATP: $\Delta G^\circ = -30,5 \text{ kJ/mol}$ (FREY; ARABSHAH, 1995).

**Fig. 8.** Formação do Acetil-CoA. Adaptada de Heldt (2005).

ácidos graxos. A síntese de malonil-CoA é catalisada pelo complexo multienzimático acetil-CoA carboxilase, que contém biotina como grupamento prostético (Fig. 9). A carboxila da biotina é ligada covalentemente ao grupamento ϵ -amina de uma lisina.

A acetil-CoA carboxilase é separada em três grupos funcionais contendo: a) a proteína transportadora de biotina; b) a biotina carboxilase, que ativa o CO₂ pela sua ligação a um átomo de nitrogênio no anel da biotina em uma reação dependente de ATP e c) a transcarboxilase, que transfere o CO₂ ativado da biotina para acetil-CoA, produzindo malonil-CoA. O comprimento e a flexibilidade da ligação entre biotina e sua proteína carreadora permite que a carboxila ativada mova-se de um centro ativo para outro no complexo enzimático.

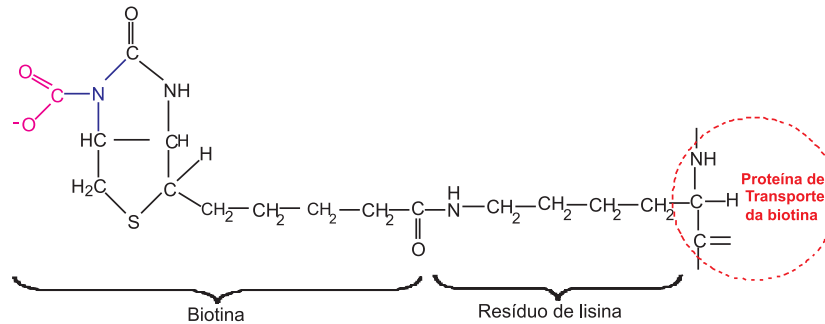


Fig. 9. Biotina é ligada via resíduo de lisina pela proteína transportadora carboxibiotina. Adaptada de Lehninger (2002).

Na reação subsequente, a β -acetoacil-ACP sintetase III catalisa a condensação dos grupos ativados acetil e malonil para formar um grupo acetoacil-ACP, um grupo acetoacil, ligado a uma proteína transportadora do grupo acila (ACP, de *acil carrier protein* (NICHOLS; JAMES, 1968) (Fig. 10). Especificando, ligam-se ao terminal sulfidril de um grupamento fosfopantoteína, simultaneamente é produzida uma molécula de CO_2 . A liberação de CO_2 torna essa reação irreversível. O átomo de carbono presente no CO_2 que se forma nessa reação é o mesmo átomo de carbono que foi originalmente introduzido no malonil-CoA a partir do HCO_3^- pela reação de acetil-CoA carboxilase.

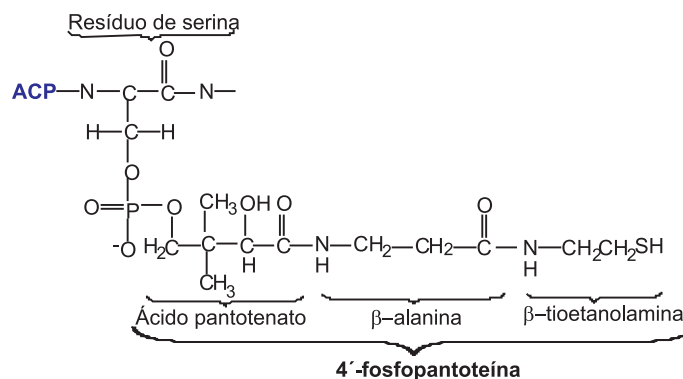


Fig. 10. A fosfopantoteína é a unidade reativa de ACP e de CoA. Adaptada de Lehninger (2002).

O acetoacetato assim formado sofre redução do grupo carbonila em C-3 a grupamento metileno, para formar D- β -hidroxibutiril-ACP, essa reação é catalisada pela β -cetoacil-ACP redutase e o doador de elétrons é o NADH. Os elementos de água são removidos de C-2 e C-3 do D- β -hidroxibutiril-ACP para liberar uma dupla ligação no produto para formar crotoanil-ACP, que é trans- Δ^2 -butenoil-ACP. A enzima que catalisa a desidratação é a β -hidroxiacil-ACP desidratase. A etapa final no ciclo reduz crotoanil-ACP a butiril-ACP, pela ação da enoil-ACP redutase trans- Δ^2 -butenoil-ACP. De novo o redutor é o NADH. A produção de um acil-graxo-ACP saturado de quatro carbonos completa o primeiro ciclo de alongamento. Na segunda rodada da síntese de ácidos graxos, a butiril-ACP condensa-se com malonil-ACP, formando uma C_6 - β -cetoacil-ACP. Essa reação é semelhante à da primeira rodada, quando acetil-ACP se condensa com malonil-ACP formando uma C_4 - β -cetoacil-ACP (a acetoacil-ACP). Redução, desidratação e segunda redução convertem a C_6 - β -cetoacil-ACP em uma C_6 -acil-ACP, que está pronta para uma terceira rodada de alongamento. Os ciclos de alongamento continuam até ser formada a C_{16} -acil-ACP. Esse intermediário não é substrato para a enzima de condensação. Em vez disso, é hidrolisado resultando em palmitato e ACP (Fig. 11) (LEHNINGER, 2002).

Um pool de acil-CoA com vários comprimentos de cadeia e dessaturação estão presentes no citoplasma. A primeira dupla ligação cis- Δ^9 (entre C-9 e C-10) é inserida por uma dessaturase solúvel. A estearoil-ACP dessaturase, localizada no estroma do cloroplasto, catalisa a dessaturação de estearoil-ACP (18:0) para oleil-ACP (18:1) (HITCHCOCK; NICHOLS, 1971). A dessaturação requer NADH e O_2 , e é feita por um complexo constituído de uma flavoproteína, um citocromo e uma ferro-proteína não-hémica (Fig. 12). Esta reação pode ser considerada como monoxigenação, na qual um átomo de oxigênio de uma molécula de O_2 é reduzida para água e outro é incorporado dentro da cadeia hidrocarbonada do ácido graxo como grupo hidroxila. A dupla ligação carbono-carbono é formada pela liberação subsequente de H_2O (análoga à reação β -hidroxiacil-ACP desidratase). A monoxigenação requer dois elétrons que provêm de NADH, via redução da ferredoxina. Uma molécula de O_2 é ativada por ligação de dois átomos de ferro (HELDT, 2005).

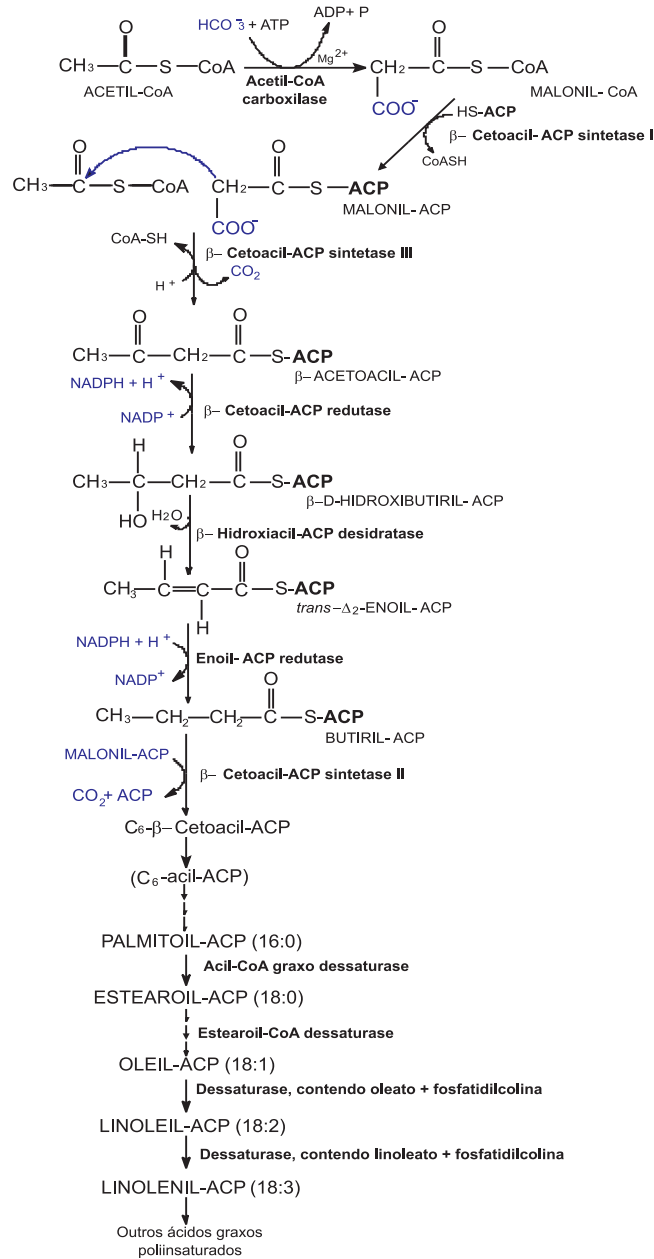


Fig. 11. Seqüência de reação para a síntese de ácidos graxos. Adaptada de Lehninger (2002) e Heldt (2005).

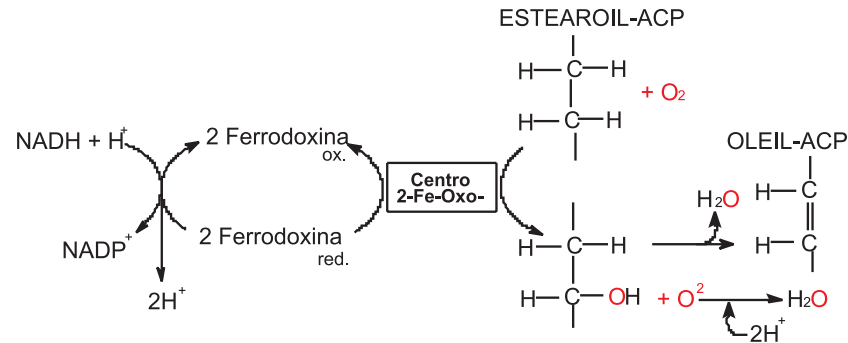


Fig. 12. Reação de dessaturação de estearoil-ACP para oleil-ACP. Adaptada de Heldt (2005).

A dessaturase solúvel é capaz de introduzir somente uma dupla ligação na cadeia carbônica do ácido graxo. A introdução de outras duplas ligações é catalisada por outras dessaturases. As dessaturases que introduzem as ligações nas posições 12 (linoleato, 18:2) e Δ^{15} (α -linoleato, 18:3) são proteínas de membrana integral, localizadas na membrana do retículo endoplasmático e no cloroplasto. Essas enzimas agem não em ácidos graxos livres, mas em um fosfolípido, a fosfatidilcolina contendo pelo menos um oleato ligado ao glicerol (Fig. 11). As plantas precisam sintetizar ácidos graxos poliinsaturados para assegurar a fluidez de suas membranas em baixas temperaturas.

Os lipídios de membrana sintetizados nos plastídios e no retículo endoplasmático têm diferentes composições de ácidos graxos (Tabela 3). Glicerol 3-fosfato é precursor da síntese de glicerofosfolípídios e triacilgliceróis. Glicerol 3-fosfato é formada pela redução de diidroxiacetona fosfato redutase, utilizando NADH como redutor. A diidroxiacetona fosfato redutase está presente no estroma dos plastídios bem como no citosol. Na via biossintética dos glicerolipídios no plastídio, o glicerol 3-fosfato é acilado pela acil-CoA para formar ácido lisofosfatídico e diacilglicerol 3-fosfato, comumente chamado de ácido fosfatídico ou ácido fosfatidato, formado por acilação de grupos hidroxila na posição C-1 e C-2 do glicerol. Essas acilações são catalisadas pela glicerol-fosfato

Tabela 3. Composição média (%) de ácidos graxos de óleo vegetais^{a,b,c}.

Ácido graxo	Óleo de soja	Óleo de palma	Óleo de canola	Óleo de girassol	Óleo de amendoim	Óleo de mamona	Óleo de algodão	Óleo de gergelim	Óleo de pinhão manso
	Composição média (%)								
Ácido palmítico (16:0)	11	41	4,5	6,5	11	0,2	24	9,5	14,3
Ácido esteárico (18:0)	3,5	5	2	5,5	4	1	2,5	4,3	5,1
Ácido oléico (18:1)	22	41,5	61,5	25	54	3	29	42,5	41,1
Ácido linoléico (18:2)	53	11	23	65	29	0,4	46	42,5	38,1
Ácido linolênico (18:3)	7,5	0	9	< 0,5	0	0	1,1	< 1,0	0
Ácido eicosanóico (20:1)	< 0,1	0	2,2	< 0,5	1,3	0	< 1,0	< 1,0	0
Ácido Ricinoléico	0	0	0	0	0	88	0	0	0
Outros	< 1,0	0	< 3,0	< 1,0	2	< 1,0	< 4,0	< 1,0	1,3

a: Valores de referência: RDC n. 482, de 23/09/199, da Agência Nacional de Vigilância Nacional - ANVISA.; b: Valores de referência: Physical and Chemical Characteristics of Oils, fats and waxes - OACS; c: www.pinhãomanso.com.br

aciltransferase. Na biossíntese do digalactosildiglicerídeo, o ácido fosfatídico mais um intermediário ativo reage com a hidroxila (*o*-4-OH terminal) da cadeia lateral de serina. O intermediário ativo, UDP-galactose, é formado a partir de um substrato fosforilado (glicose 1-fosfato ou ácido fosfatídico) e um nucleotídeo trifosfato (CTP ou UTP) via UDP-glicose pirofosforilase e UDP-glicose epimerase. Na síntese dos triacilglicerol o ácido fosfatídico é hidrolisado por uma fosfatase específica para dar um diacilglicerol. Esse intermediário é acilado para um triacilglicerol em uma reação catalisada por diglicerídeo aciltransferase. Essas enzimas estão associadas em um complexo triacilglicerol sintetase que está ligada na membrana do retículo endoplasmático, chamada via biossintética dos eucariotos (HELDT, 2005).

A produção mundial de plantas oleaginosas, exemplos na Figura 13, tem sido utilizada como matéria-prima na indústria de alimentos, têxtil, farmacêutica, de perfumaria, siderúrgica, automobilística, de tintas e vernizes, entre outras.

Recentemente, o interesse pelos ácidos graxos aumentou vertiginosamente, graças à sua utilização como biocombustível em substituição ao petrodiesel. Segundo Beltrão (2004), o óleo de mamona é, no mercado internacional, o segundo óleo vegetal mais bem cotado e o seu elevado valor estratégico é reconhecido pelo fato de não haver bons substitutos em muitas de suas aplicações e devido, também, à sua versatilidade industrial; diferencia-se, desta forma, dos demais óleos vegetais em virtude de ser um dos poucos

óleos vegetais hidroxilados contido especialmente no ácido ricinoléico (Tabela 3), com presença, em média, de 90% de sua composição, com três grupos altamente reativos (carbonila, hidroxila e insaturação no carbono 9) que, juntos, permitem qualidades seletivas à produção de uma infinidade de produtos industriais.

Amendoim (*Arachis hypogea* L.)Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)Gergelim (*Sesamum indicum* L.)Algodão de fibra colorida (*G. Hirsutum* L.)Mamona (*Ricinus comunis* L.)Girassol (*Helianthus annuus* L.)

Fig. 13. Plantas oleaginosas.
Fotos: Napoleão E.de M. Beltrão.

9. Degradação de Lipídios

A relativa estabilidade das ligações C-C em um ácido graxo é sobrepujada pela ativação do grupo carbonila em C-1 por meio da ligação da CoA, que permite a oxidação nos glioxissomos passo a passo do grupo acil-CoA na posição C-3 ou posição β , daí o nome β -oxidação (LEHNINGER, 2002).

Nas plantas, o papel biológico da β -oxidação, que ocorre nos peroxissomos e glioxissomos, é fornecer precursores biossintéticos que se originam de lipídios armazenados. A via da β -oxidação não é uma fonte importante de energia metabólica nos vegetais; de fato, as mitocôndrias das plantas não contêm as enzimas da β -oxidação (LEHNINGER, 2002). Análise de vários mutantes de *Arabidopsis thaliana*, tem revelado funções essenciais para oxidação na degradação dos triacilgliceróis de reserva durante o desenvolvimento, germinação da semente e crescimento pós-germinação antes do estabelecimento de fotossíntese. A β -oxidação também tem considerável importância durante a fase do crescimento vegetativo e crescimento reprodutivo, como aparecimento da radícula da casca da semente, desenvolvimento do embrião e da flor, síntese do ácido jasmônico envolvido em resposta ao estresse e do fitohormônio, ácido indolecético (GOEPFERT; POIRIER, 2007; POIRIER et al., 2006).

Algumas das reações oxidativas na degradação dos lipídios produzem radicais livres e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), espécies químicas muito reativas que podem lesar a estrutura celular. Para proteger a célula desses subprodutos destrutivos, tais reações são segregadas dentro de pequenas vesículas, envoltas por membrana, chamada peroxissomos. O peróxido de hidrogênio é degradado pela catalase, uma enzima presente em altas concentrações nos peroxissomos, que catalisa peróxido de hidrogênio em água e O_2 . Glioxissomos são peroxissomos especializados encontrados em todos os tecidos e em todos os momentos. Eles se desenvolvem em sementes ricas em lipídios durante a germinação, antes que o vegetal, em desenvolvimento, adquira a capacidade de sintetizar glicose por fotossíntese. Em adição, as enzimas do ciclo do glioxalato, os glioxissomos, também contêm todas as enzimas necessárias para a degradação dos

ácidos graxos armazenados nos lipídios de sementes oleaginosas (Fig. 14). Eles contêm altas concentrações de enzimas do ciclo do glioxalato, uma via metabólica exclusiva das plantas, que permite a conversão de ácidos graxos armazenados em carboidratos, durante a germinação das sementes. A conversão de fosfoenolpiruvato em piruvato em acetil-COA são tão exergônicas que são essencialmente irreversíveis. Se uma célula não tem a capacidade de converter acetato em fosfoenolpiruvato, o acetato não pode servir de material de partida para via gliconeogênica que leva fosfoenolpiruvato até a glicose. Como os átomos de carbonos das moléculas de acetato que entram no ciclo de Krebs aparecem no oxaloacetato depois de oito etapas, pode parecer que a operação do ciclo de Krebs é capaz de gerar oxaloacetato a partir do acetato e, assim, gerar fosfoenolpiruvato para a gliconeogênese (GERHARDT, 1986; PISTELLI et al. 1989).



Foto: Napoleão E. M. Beltrão

Fig. 14. Sementes de algodão, gergelim, mamona, gergelim e pinhão manso.

Durante a germinação, os triacilgliceróis armazenados em sementes de oleaginosas, como mamona e algodão, são convertidos em glicose, sacarose e em uma grande variedade de outros metabólitos essenciais. Os ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis são ativados por transformação em seus derivados de coenzima A e oxidados nos glioxissomos, por meio do mesmo processo de quatro passos que ocorre nos peroxissomos, o acetil-

CoA formado a partir dos lipídios é convertido em succinato através do ciclo do glioxalato e succinato é exportado para as mitocôndrias, nestas, as enzimas do ciclo de Krebs o transformam em malato. Uma isoenzima da malato desidrogenase oxida o malato em oxaloacetato, um precursor da gliconeogênese. As sementes em germinação podem, assim, converter em glicose os átomos de carbono armazenados na forma de lipídios. Isto ocorre em tecidos de reserva como endosperma (Fig. 15) e cotilédone e provê açúcares para germinação e crescimento de plântulas antes de a planta se tornar fotossinteticamente ativa (BEEVERS, 1961; EASTMOND; GRAHAM, 2001; TOLBERT et al. 1968; TOLBERT, 1981).



Foto: Napoleão E. M. Beltrão

Fig. 15. Endosperma da semente de mamona (*Ricinus comunis* L.).

O processo consiste em quatro passos que ocorre nos peroxissomos (HILTUNEN; QIN, 2000; KUNAU; DOMMES; SCHULZ, 1995) (Fig. 16).

No primeiro passo, a flavoproteína desidrogenase que induz a dupla ligação passa seus elétrons diretamente para o O_2 produzindo H_2O_2 . A água oxigenada é um oxidante forte e potencialmente perigoso, assim, é imediatamente decomposta em H_2O e O_2 pela enzima catalase. A energia liberada no primeiro passo oxidativo da quebra de ácidos graxos é dissipada como calor (LEHNINGER, 2002).

No segundo passo, da seqüência de oxidação do ácido graxo uma molécula de água é adicionada à dupla ligação do trans- Δ^2 -enoil-CoA para forma os esterioisômero L- do β -hidroxialcil-CoA também designada 3-hidroxialcil-CoA. Essa reação, catalisada pela enoil-CoA hidratase.

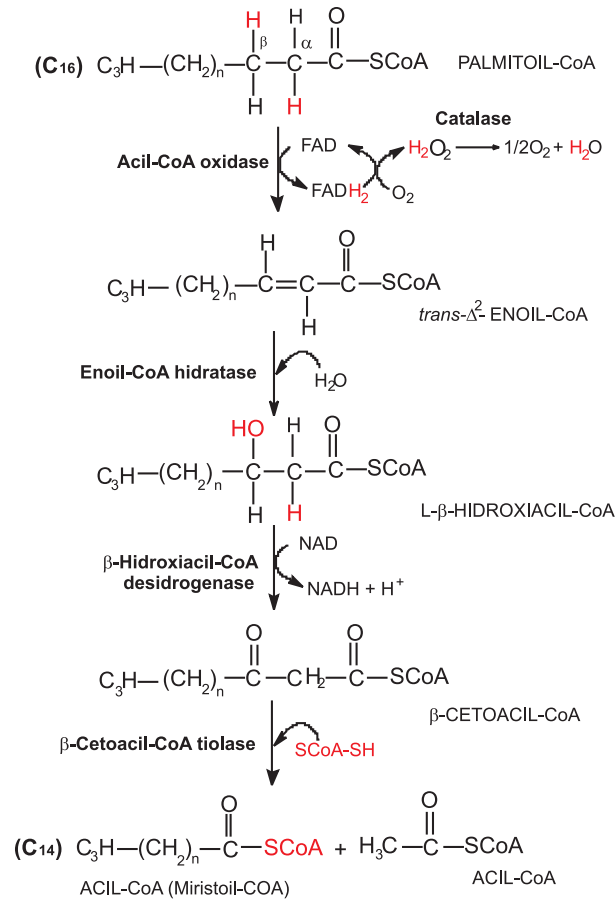
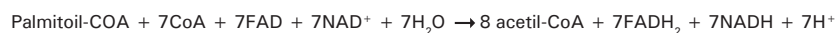


Fig. 16. β -Oxidação dos ácidos graxos ocorre nos glioxissomos. Adaptada de Lehninger (2002).

No terceiro passo, o L- β -hidroxiacil-CoA é desidrogenado para forma β -cetoacil-CoA pela ação do β -hidroxiacil-CoA desidrogenase; o NAD^+ é o receptor de elétrons. Essa enzima é absolutamente específica para o estereoisômero L- do hidroxiacil-CoA. O NADH formado nessa reação transfere seus elétrons para a NADH desidrogenase, um transportador de elétrons da cadeia respiratória; moléculas de ATP são geradas a partir de ADP quando o par de elétrons passa do NADH até O_2 , por meio da cadeia respiratória. A reação é catalisada pela β -hidroxiacil-CoA desidrogenase.

O quarto e último passo da oxidação dos ácidos graxos é catalisado pela acil-CoA aciltransferase (mas comumente chamada tiolase); ela promove a reação do β -hidroxiacil-CoA com uma molécula de coenzima livre para romper o fragmento carboxiterminal de dois átomos de carbono do ácido graxo original na forma de acetil-CoA. Após a retirada de um acetil-CoA do palmitoil-CoA, resta o tioéster da coenzima A, do ácido graxo diminuído de dois átomos de carbono - o miristato, com 14 átomos de carbono. O miristoil pode, agora, passar por outro conjunto de quatro reações da β -oxidação, de forma análoga ao primeiro, para liberar uma molécula de acetil-CoA e o lauroil-CoA - o tioéster da CoA com o ácido láurico, com 12 átomos de carbono. No final, são necessárias sete passagens pela seqüência de reações da β -oxidação para oxidar uma molécula de palmitoil-CoA em oito moléculas de acetil-CoA. A equação global é:



Cada molécula de FADH_2 formada durante a oxidação dos ácidos graxos cede um par de elétrons para ETF (flavoproteína transferidora de elétrons) da cadeia respiratória e ao redor de 1,5 molécula de ATP é gerada durante a transferência desse par de elétrons para O_2 . Da mesma forma, cada molécula de NADH formado cede um par de elétrons para o NADH desidrogenase mitocondrial e a transferência subsequente de cada par de elétrons para O resulta na formação de cerca de 2,5 moléculas de ATP. Assim, quatro moléculas de ATP são formadas para cada unidade removida de dois carbonos em uma passagem pela β -oxidação. Neste processo, também são produzidas moléculas de água. Transferência de elétrons do NADH ou do FADH_2 para o O_2 libera uma molécula de água por par de elétrons. A redução de O_2 também consome um H^+ por molécula de NADH: $\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ (LEHNINGER, 2002).

A equação global final para a oxidação do palmitoil-CoA em oito moléculas de acetil-CoA, incluindo as transferências de elétrons e a fosforilação oxidativa, é:



O acetil-CoA produzido na oxidação dos ácidos graxos pode ser oxidado a CO_2 e H_2O pelo ciclo de Krebs. A equação a seguir representa o balanço final do segundo estágio da oxidação do palmitoil-CoA, junto com a fosforilação oxidativa do terceiro estágio:



Combinando as Equações 1 e 2, obtém-se a equação global final para a oxidação completa do palmitoil-CoA até dióxido de carbono e água:



A Tabela 4 sumariza a produção de NADH, FADH_2 e ATP nos passos sucessivo da oxidação dos ácidos graxos. Como a ativação do palmito em palmitoil-CoA quebra as duas ligações fosfoanidro do ATP, o custo energético de ativar um ácido graxo é equivalente a duas moléculas de ATP e o ganho líquido por molécula de palmitato é igual a 106 moléculas de ATP. A variação de energia livre padrão para a oxidação do palmitato até $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ está próxima de 9.800 kJ/mol. Sob condições-padrão, $30,5 \times 106 = 3.230$ kJ/mol (perto de 40% do máximo teórico) são recuperados na forma de ligações-fosfato ricas em energia de ATP. Entretanto, quando as variações de energia livre são calculadas, considerando-se as concentrações reais de reagentes e produtos sob as condições intracelulares, a recuperação de energia livre está acima de 80%. A conservação de energia é muito eficiente.

Tabela 4. Oxidação completa do palmitoil-CoA.

Enzima que catalisa o passo de oxidação	Número de NADH ou FADH_2 formados	Número de ATP formado ao final*
Acil-CoA desidrogenase	8 FADH_2	10,5
β -Hidroxiacil-CoA	8 NADH	17,5
α -Cetoglutarato	8 NADH	20
Succinil-CoA sintetase		20 [#]
Succinato desidrogenase	8 FADH_2	8
Malato desidrogenase	8 NADH	12
		20
TOTAL		108

* Nestes cálculos, considera-se que a fosforilação oxidativa mitocondrial produz 1,5 ATP por FADH_2 oxidado e 2,5 ATP por NADH oxidado; # O GTP produzido diretamente neste passo libera ATP na reação catalisada pelo nucleosídeo difosfato quinase (Lehninger, 2002).

O acetil-CoA, produto da β -oxidação, é convertido no ciclo do glioxalato em precursores de quatro átomos de carbono da gliconeogênese. O ciclo de glioxalato, descrito por Kornberg e Madsen (1958) como um ciclo modificado do ciclo de Krebs, compartilha atividades das enzimas malato desidrogenase, citrato sintase e aconitase. Em vez de dois passos de descarboxilação do ciclo Krebs, as enzimas-chave do ciclo do glioxalato são isocitrato liase e malato. Pela ação da isocitrato liase, o isocitrato é clivado em succinato e glioxilato; o glioxilato condensa com uma segunda molécula da acil-CoA sob ação da malato sintase para formar malato. Este vai passar para o citosol, onde origina oxaloacetato, que pode ser transformado em glicose e sacarose pela neoglicogênese e esta é transportada para as raízes em crescimento e para a folhagem.

O ciclo de glioxilato, desta forma, permite a conversão de acetil-CoA e, portanto, de ácidos graxos, a glicose, sem perder carbono como CO_2 (KORNBERG; BEEVERS, 1957). Vários estudos mostraram que, quando o ciclo de glioxalato é operativo dentro de sementes oleaginosas em germinação, a atividade de descarboxilases nos passos do ciclo do Krebs é suprimida, favorecendo a síntese de carboidratos (glicose) (FALK et al. 1998) e a produção de intermediários do ciclo de Krebs a partir de acetil-CoA. Por isso mesmo, essa via conta com a presença de enzimas do ciclo de Krebs, além de duas enzimas ausentes nessa via (isocitrato liase e a malato sintase). Quatro vias distintas participam dessas conversões: a quebra dos ácidos graxos em acetil-CoA (glioxissomos), o ciclo do glicolato (nos glioxissomos), o ciclo de Krebs (na mitocôndria) e a gliconeogênese (no citosol) (Fig. 7b).

O compartilhamento de intermediários comuns requer que essas vias sejam reguladas de maneira coordenada. É a regulação da isocitrato desidrogenase que determina a partilha do isocitrato entre o ciclo de Krebs e o glioxalato. Quando a isocitrato desidrogenase é inibida por fosforilação (por meio de uma proteína quinase específica) o isocitrato é direcionado para reações biossintéticas por meio do ciclo de glioxalato. Quando a enzima é ativada por desfosforilação (por meio de uma fosfatase específica), o isocitrato entra no ciclo de Krebs e ocorre a produção de ATP (Fig. 7b).

A seqüência de oxidação dos ácidos graxos insaturados tem apenas ligação dupla na sua cadeia carbônica. A maioria dos ácidos graxos nos triacilglicerídeos e nos fosfolipídios de vegetais são insaturados, possuindo uma ou mais duplas ligações. Essas ligações estão na configuração *cis* e não podem sofrer a ação da enoil-CoA hidratase, a enzima que catalisa a adição de H₂O na dupla ligação *trans* do *trans*- Δ^2 - enoil-CoA gerado durante a β -oxidação. Entretanto, por meio da ação de duas enzimas auxiliares, a oxidação dos ácidos graxos pela seqüência descrita anteriormente pode também quebrar o ácidos graxos insaturados comuns. A atuação dessas duas enzimas sendo a primeira uma isomerase e a outra uma redutase, será ilustrada por dois exemplos.

Oxidação do oleato, ácido graxo com 18 átomos de carbono na cadeia monoinsaturada com dupla ligação *cis* C-9 e C-10 denotada Δ^9 (o oleato convertido em oleoil-CoA (Fig. 17), transportado através da membrana mitocondrial como oleoil carnitina e convertido novamente em oleoil-CoA na matriz da mitocôndria. O oleoil-CoA passa então por três passos do ciclo de oxidação dos ácidos graxos e libera três moléculas de acetil-CoA, além do éster de coenzima A de um ácido de um ácido graxo saturado de 12 átomos de carbono Δ^3 , o *cis* - Δ^3 -dodecenoil-CoA, esse produto não pode sofrer a ação da próxima enzima na via de β -oxidação, a enoil-CoA hidratase, pois esta atua apenas em duplas ligações do tipo *trans*. Entretanto pela ação da enzima auxiliar, enoil-CoA isomerase, *cis*-3-enoil-CoA é isomerizado para liberar o *trans* Δ^2 - enoil-CoA, que é convertido pela enoil-CoA hidratase no correspondente L- β -hidroxiacil-CoA (*trans* Δ^2 -dodecenoil-CoA). Esse intermediário sofre agora a ação das enzimas remanescentes da β -oxidação para liberar acetil-CoA e um ácido graxo saturado de dez átomos de carbonos como o seu éster de coenzima A (decanoil-CoA). O último sofre quatro outros passos por meio da via para liberar um total de nove moléculas de acetil-CoA, resultante de uma molécula de oleato com 18 átomos de carbono.

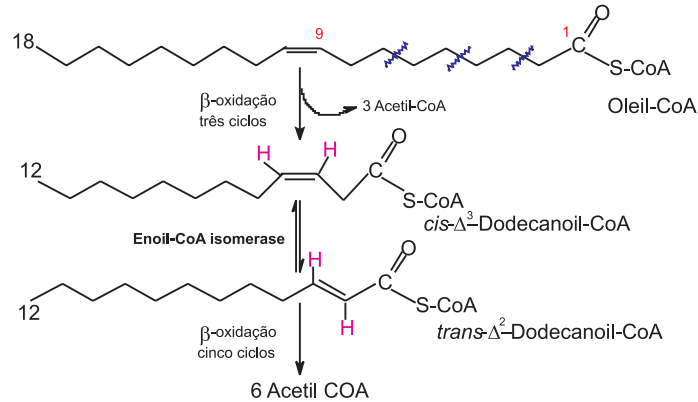


Fig. 17. Oxidação de um acil-graxo monoinsaturado. Adaptada de Lehninger (2002).

A outra enzima auxiliar (uma redutase) é requerida pela oxidação de ácidos graxos polinsaturados. Como exemplo, será considerado o linoleato com 18 carbonos, que possui uma configuração *cis* Δ⁹, *cis* Δ¹² (Fig. 18). O linoleoil-CoA sofre três passos por meio da seqüência padrão de β-oxidação para liberar três moléculas de acetil-CoA e um éster de Coenzima A de um ácido graxo insaturado com 12 átomos de carbono e uma configuração *cis*-Δ³, *cis*-Δ⁶. Esse intermediário não pode ser empregado pelas enzimas da via de β-oxidação; suas duplas ligações estão em posições erradas e possuem uma configuração errada (*cis* e não *trans*) entretanto, a ação combinada de enoil-coA isomerase e da 2,4-dienoil, 4-dienol-CoA redutase, permite a entrada desse intermediário na via normal de β-oxidação e a sua degradação em seis moléculas de acetil-CoA. O resultado global é a conversão do linoleato em nove moléculas de acetil-CoA.

Embora o maior número de lipídios de ocorrência natural contenha ácido graxos com par de átomos de carbonos são encontrados em quantidades significativas nos lipídios de vegetais. Ácidos graxos de cadeia longa e número ímpar de átomos de carbono são oxidados pela mesma via dos ácidos com número par de átomos de carbono, começando sempre na extremidade da cadeia que contém a carboxila. Entretanto, o substrato para o último que tem cinco átomos de carbono. Quando esse ácido é clivado mais uma vez, os produtos são acetil-CoA e propionil-CoA. O acetil-CoA é oxidado pela via do ácido cítrico, mas o propionil-CoA toma uma via enzimática incomum, envolvendo três enzimas.

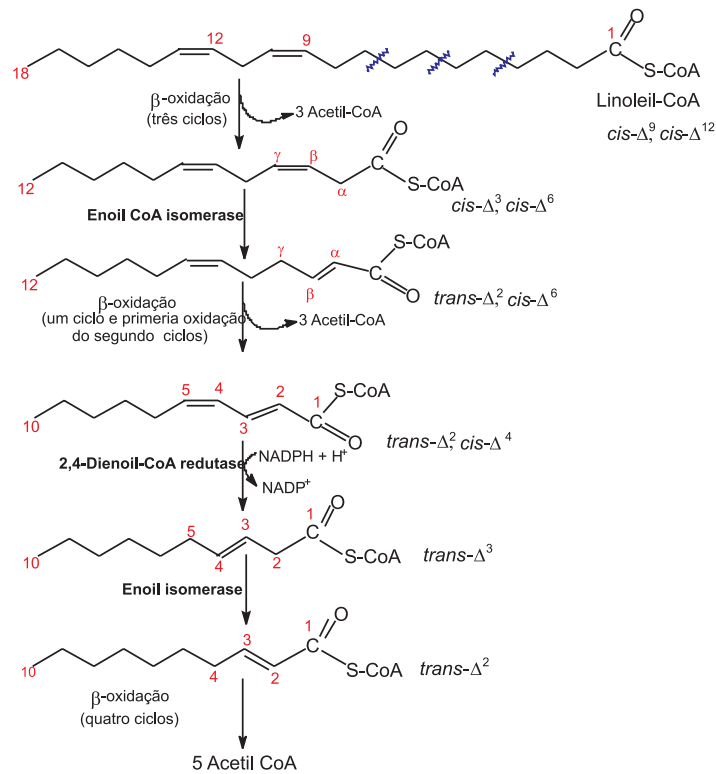


Fig. 18. Oxidação de um ácido graxo poliinsaturado. Adaptada de Lehninger (2002).

O propionil-CoA é primeiro carboxilado para formar estereoisômero D do metilmalonil-CoA pela propionil-CoA carboxilase, que contém o cofator biotina. Nessa reação enzimática, o CO₂ (ou sua forma hidratada, o íon HCO₃⁻) é ativado pela ligação à biotina, antes de sua transferência para o propionato. A formação do intermediário carboxi-biotina requer energia e essa é fornecida pela clivagem do ATP até AMP e PP_i. O D-metilmalonil-CoA assim formado é enzimaticamente epimerizado, formando seu estereoisômero L pela ação de metilmalonil-CoA epimerase. O L-metilmalonil-CoA sofre então um rearranjo intramolecular e forma o Succinil-CoA que pode entrar no ciclo do ácido cítrico. Esse rearranjo é catalisado pela metilmalonil-CoA mutase, que requer como coenzima a desoadenosilcobalamina, ou coenzima B₁₂, derivada da vitamina B₁₂ - cobalamina, (LEHNINGER, 2002), conforme ilustrado na Figura 19.

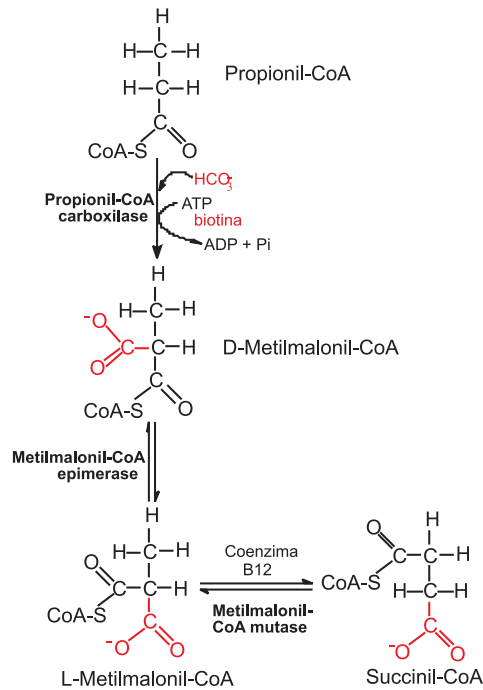


Fig. 19. Oxidação do propionil-CoA produzido pela β -oxidação dos ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbonos. Adaptada de Lehninger (2002).

10. Síntese de Proteína

Em uma célula de planta, a biossíntese de proteína ocorre em três locais diferentes, no citosol, no estroma do cloroplasto e na matriz mitocondrial. A síntese de proteínas, um processo chamado de tradução, necessita de um intercâmbio coordenado com mais de uma centena de macromoléculas. São necessárias moléculas de RNA transportador (tRNA), RNA mensageiro (mRNA), enzimas ativadoras, nove fatores de iniciação, além dos ribossomos. Uma proteína é sintetizada no sentido amino-carboxila pela adição seqüencial de aminoácidos à ponta carboxila da cadeia polipeptídica em crescimento (3'-5') (HELDT, 2005). A síntese de proteínas ocorre em cinco etapas:

Etapa 1: Ativação do aminoácidos. É realizado em dois passos, o primeiro é a formação de um aminoacil-adenilato a partir de um aminoácido e ATP.

O segundo, é transferência da aminoacila do aminoacil-AMP e uma molécula de tRNA para formar aminoacil-tRNA, o intermediário ativado na síntese de proteína.

Essa reação de ativação, que é análoga à ativação de ácidos graxos, é impelida por ATP. A diferença entre essas duas reações é que o receptor de acila é o CoA na primeira e o tRNA nesta última.

As aminoacil-tRNAs sintetases são altamente seletivas em seu reconhecimento do aminoácido a ser ativado e do tRNA receptor.

Etapa 2: Iniciação. O mRNA que contém o código para o polipeptídeo a ser sintetizado liga-se à menor das duas subunidades ribossômicas e ao aminoacil-tRNA de iniciação. A subunidade ribossômica maior liga-se para formar um complexo de iniciação. O aminoacil-tRNA de iniciação faz par com o códon AGU, de forma específica para o resíduo de metionina do mRNA, que sinaliza o início da cadeia polipeptídica. Os polipeptídeos sintetizados pelos ribossomos nas mitocôndrias e nos cloroplastos, entretanto, começam com N-formilmetionina.

Na extremidade 3', o mRNA é ligado por uma proteína de ligação poli (A) (PAB - "*poly (A) binding protein*"). Um complexo chamado de eIF4F, que inclui as proteínas eIF4E, eIF4G e eIF4A, liga-se ao capicete 5', por meio do eIF4E. A proteína eIF4G liga-se tanto ao eIF4E quanto ao PAB, mantendo-os efetivamente juntos. A proteína eIF4A possui uma atividade RNA helicase, o complexo eIF4F que se associa com um outro fator, eIF3, e com a subunidade ribossômica 40 S. A eficiência da tradução é afetada por muitas propriedades de mRNA e proteínas deste complexo, incluindo a extensão da cauda 3' poli (A).

Etapa 3: Alongamento. O alongamento requer (1) o complexo de iniciação descrito anteriormente, (2) aminoacil-tRNAs, (3) um conjunto de três proteínas citosólicas solúveis de alongamento (eEF1, eEF1 e eEF2) e (4)

GTP. As três etapas são necessárias para adicionar cada resíduo de aminoácido e são repetidas tantas vezes quantos forem os resíduos a serem adicionados. O alongamento continua até que o ribossomo adicione o último aminoácido codificado pelo mRNA.

Etapa 4: Terminação da síntese polipeptídica. A terminação é sinalizada pela presença de um dos três códons de terminação do mRNA (UAA, UAG, UGA), que se segue imediatamente ao último aminoácido codificado.

Etapa 5: As recém-sintetizadas cadeias polipeptídicas sofrem enovelamento e processamento. A cadeia polipeptídica nascente é enrolada e processada na sua forma biologicamente ativa, com a formação apropriada de pontes de hidrogênio e das interações de van der Waals, iônicas e hidrofóbicas. Dessa forma, a mensagem genética linear e unidimensional do mRNA é convertida na estrutura tridimensional da proteína.

As proteínas sintetizadas destinadas ao citosol simplesmente permanecem onde foram sintetizadas. Proteínas precursoras, destinadas às mitocôndrias ou aos cloroplastos, possuem seqüências sinalizadoras (pequenas seqüências de aminoácidos) que estão presentes no amino-terminal de um polipeptídeo recém-sintetizado, que são ligados por proteínas chaperonas citosólicas. Os precursores são entregues aos receptores na superfície externa da organela alvo e depois a um canal protéico, que usualmente atravessa as membranas interna e externa da organela. A translocação através do canal é facilitada pela hidrólise de ATP ou GTP e, em alguns casos, por um potencial eletroquímico transmembrana. Dentro da organela, a seqüência sinalizadora do precursor é removida, e a proteína madura é enrolada (LEHNINGER, 2002).

11. Degradação de Proteínas

Em plantas, a degradação de proteína está ligada por diferentes fases do desenvolvimento, como germinação, morfogenia e biogêneses de célula, senescência, e morte programada da célula (DALLING, 1986; VIERSTRA, 1996). A proteólise também está associada ao estresse oxidativo promovida por espécies reativas de oxigênio (SOLOMON et al., 1999).

Degradação de proteína em plantas é um processo complexo, envolvendo várias vias proteolítica, podendo ocorrer em diferentes compartimentos da célula. A presença de atividade proteolítica tem sido reportada em vários locais da célula, como vacúolos, cloroplastos, parede celular, microssomos, mitocôndria, citosol, complexo de golgi e peroxissomos (DISTEFANO et al., 1997; PALMA et al. 2002). A maioria das proteases age no interior de cadeias de peptídicas (endopeptidases) ou no final (exopeptidases). Exopeptidases foram diferenciadas de acordo com a especificidade do substrato como aminopeptidases, que são capazes clivar peptídeos no N-terminal, e carboxipeptidases, que degradam peptídeo no C-terminal (HUFFAKER, 1990). Gietl et al. (1997) encontraram cisteína endopeptidase em semente de mamona localizado em glioxissomos. Não obstante, mais adiante, estudos mostraram que esta enzima fica situada no ricinossomos, um tipo novo de organela cujo nome é devido à sua presença no endosperma de semente de mamona (*Ricinus communis* L.) (SCHMID; SIMPSON; GIETL, 1999). Os ricinossomos foram caracterizados através de estudos citoquímico e ultraestrutural. Esta organela é ligeiramente menor que glioxissomos, e parece desenvolvida do retículo endoplasmático (SCHMID; SIMPSON; GIETL, 1999).

A degradação de proteínas permite a reciclagem de aminoácidos e impede a construção de proteínas anormais ou indesejadas. Estes erros podem levar a ocorrência de mutações no polipeptídeo Vierstra (1996). A vida média das proteínas eucarióticas varia de 30 segundos a muitos dias. As enzimas que agem em pontos-chave da regulação nas vias metabólicas com freqüência degradam rapidamente.

A via dependente de ATP nas células eucarióticas envolve uma proteína denominada ubiquitina e ocorre em todo reino eucariótico. A ubiquitina, uma das proteínas mais conservadas, contém 76 resíduos de aminoácidos em todas as plantas, é covalentemente ligada a proteínas destinadas à destruição, por meio de uma via dependente de ATP, que envolve três enzimas separadas E1 (enzima ubiquitina-ativada), E2 (enzima ubiquitina-conjugada) e E3 (ubiquitina-proteína ligase) (HERSHKO; CIECHANOVER, 1998). A forma com a ubiquitinação endereça as proteínas para hidrólise ainda não é conhecida. O sistema proteolítico dependente de ATP nos eucariotos é um grande complexo, chamado de proteossomo 20 S

(PICKART; FUSHMAN, 2004). O sistema ubiquitina-proteossomo é o maior, é a maior via proteolítica encontrada no citoplasma e núcleo de células eucarióticas (VIERSTRA, 2003; PENA et al. 2007). O modo de ação do componente proteásico do sistema e o papel do ATP estão sendo, agora, elucidados (Fig. 20) (HELDT, 2005). A proteína alvo destinada à degradação é covalentemente ligada à ubiquitina (Ubi). Ubiquitina é ativada pela reação com ATP e pela enzima ubiquitina-ativada (E1) para formar um tioéster via acil-AMP ligada com um resíduo de cisteína da enzima. O segundo passo na via envolve a transferência de ubiquitina de E1 para um resíduo de cisteína da enzima ubiquitina-conjugada (E2). Finalmente, ubiquitina é covalentemente ligada à proteína alvo por um isopeptídeo ligado entre o C-terminal de ubiquitina e o grupo ϵ -amino do resíduo de lisina com o alvo. Essa reação é catalisada por ubiquitina-proteína ligase (E3).

Embora nem todos os sinais que desencadeiam a ubiquitinação sejam entendidos, um simples foi encontrado. Para muitas proteínas, a identidade do primeiro resíduo que permanece depois da remoção do resíduo aminoterminal Met, e qualquer outro processamento proteolítico pós-traducional da extremidade aminoterminal, tem uma profunda influência na vida média. A proteólise dependente de ubiquitinação é crítica para a regulação de muitos processos celulares (LEHNINGER, 2002).

12. Aminoácidos em Plantas

Outra função importante da mitocôndria é a conversão de oxaloacetato e piruvato para citrato, precursor da síntese de α -cetoglutarato. Esta importante via provê esqueleto carbônico para a síntese de aminoácidos durante a assimilação de nitrato (ALOYSIUS et al. 1998; DUDKINA et al. 2006).

Os vegetais raramente oxidam os aminoácidos para obter energia. Em vez disso, por meio da fotossíntese, eles convertem CO_2 e H_2O em carboidratos, que são usados quase exclusivamente como fonte de energia.

As quantidades de aminoácidos nos vegetais são cuidadosamente reguladas para ser apenas suficientes para fazer as necessidades de biossíntese de proteínas de ácidos nucleicos e de umas poucas outras moléculas necessárias para o crescimento. O catabolismo dos aminoácidos ocorre nas plantas, mas ele é, em geral, destinado à produção de metabólitos para outras vias biossintéticas.

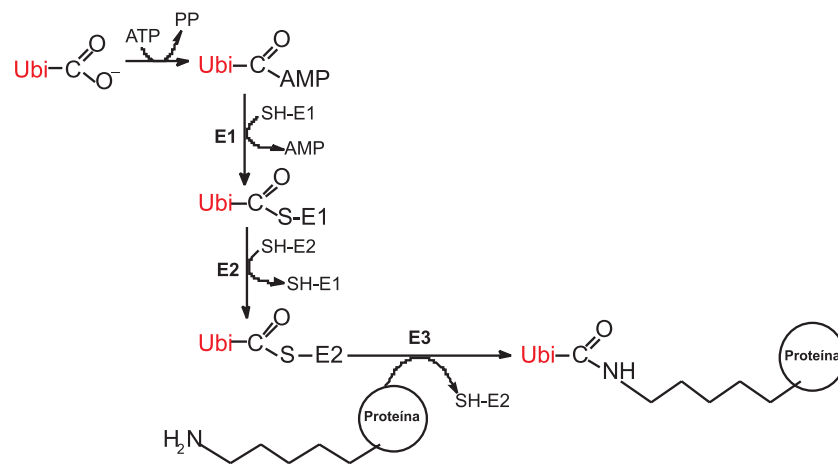


Fig. 20. Degradação de proteína pela via proteossômica. Adaptada de Heldt (2005).

13. Considerações Finais

No tocante às oleaginosas, em especial àquelas pesquisadas no momento com o objetivo de produzir matéria-prima para energia (biodiesel) - cujas sementes contêm pelo menos 15% de lipídios e teor superior de proteínas - todas têm metabolismo C_3 . Por vários fatores, estas plantas para produzir lipídio e proteína têm que investir muita energia na forma de ATP. Já as plantas produtoras de açúcar, tais quais amido e glicose (milho) e sacarose (cana-de-açúcar) de metabolismo C_4 , na produção de energia consome apenas 1/3 dessa energia.

As plantas C_3 , que possuem altos valores de fotorrespiração, produzem inibição da fotossíntese líquida por efeito das baixas concentrações de CO_2

e elevada concentração de O_2 , os quais competem por uma enzima - a Rubisco - produzida pela reação com o oxigênio, que produz glicolato, substrato da fotorrespiração; o CO_2 que se perde pelas folhas iluminadas das plantas C_3 é um fator importante a que se atribui a baixa assimilação líquida destas plantas.

Um aumento da concentração do CO_2 normal, reduz a quantidade de glicolato sintetizado. Como as plantas C_3 possuem somente o ciclo de Calvin, a fotossíntese só assimila CO_2 por este processo, não sendo assim para a plantas C_4 que tem uma via adicional de CO_2 , o fosfoenolpiruvato, que se transforma em malato e aspartato. Estes são responsáveis pelo envio de CO_2 aos cloroplastos das células envoltórias do feixe vascular, tendo sempre altas concentrações do mesmo ainda com seus estômatos fechados; também as células mesofílicas apresentam um número reduzido de peroxissomos, encontrando-se em grande quantidades em células envoltórias do feixe. É por isto, que em plantas C_4 a fotorrespiração é inapreciável; não é assim nas C_3 , as quais apresentam grande número de peroxissomos nas células do mesófilo (local onde ocorre a síntese de glicolato) se as concentrações de CO_2 são baixas e predomina O_2 . Ao elevarem-se estas concentrações, esta síntese seria afetada, o que afetaria a fotorrespiração, beneficiando, assim, a fotossíntese e, em conseqüência, resultando em incremento na produtividade de muitas plantas.

Ao aumentar, a fotossíntese favorece a respiração e a formação de biomassa, levando a um aumento da produtividade biológica e agrícola e, assim, da quantidade e da qualidade das colheitas.

As plantas C_4 evoluíram primariamente nos trópicos e estão especialmente adaptas a elevadas intensidades luminosas e a altas temperaturas. São mais sensíveis ao frio que as C_3 . Plantas C_4 agricultáveis, como o milho e a cana-de-açúcar são muito sensíveis ao frio e isto restringe as áreas de cultivo.

A via de assimilação do CO_2 nas plantas C_4 tem um custo energético maior que nas plantas C_3 . Para cada molécula de CO_2 fixada na via C_4 , uma

molécula de fosfoenolpiruvato precisa ser regenerada ao custo de dois grupos fosfatos de alta energia do ATP. Assim, as plantas C_4 precisam de um total de cinco moléculas de ATP para fixar uma molécula de CO_2 , enquanto as plantas C_3 consomem apenas três. Portanto, as plantas C_3 só consomem 18 ATP por hexose formada na ausência da fotorrespiração, em comparação com os 30 ATP para as plantas C_4 . À medida que a temperatura aumenta, a afinidade da Rubisco pelo CO_2 diminui, um ponto de alcance entre 28 e 30 °C, em que o ganho em eficiência pela eliminação da fotorrespiração nas plantas C_4 mais do que compensa seu custo energético.

Glioxissomos são peroxissomos especializados encontrados em todos os tecidos e em todos os momentos. Eles se desenvolvem em sementes de oleaginosas durante a germinação, antes que o vegetal em desenvolvimento adquira a capacidade de sintetizar sacarose por fotossíntese.

Em adição, as enzimas do ciclo do glioxalato, os glioxissomos, também contêm todas as enzimas necessárias para a degradação dos ácidos graxos armazenados nos lipídios de sementes oleaginosas. O ciclo do glioxalato é uma via metabólica exclusiva das plantas oleaginosas que permite a conversão de ácidos graxos armazenados em carboidratos, durante a germinação das sementes.

14. Conclusões

1. A comparação entre as plantas oleaginosas não pode ser feita de maneira direta com as plantas produtoras de açúcar. As plantas oleaginosas consomem 18 ATP para a formação de hexoses na ausência de fotorrespiração, enquanto as plantas produtoras de açúcar consomem 30 ATP.
2. Para a produção de lipídios as plantas consomem cerca de 2,5 mais energia do que a que gasta para a produção de uma mesma quantidade de açúcar.

3. A maioria das plantas oleaginosas, que são as que apresentam pelo menos 14% de lipídios nas suas sementes, são de metabolismo fotossintético C_3 e, assim, com elevada taxa de fotorrespiração e baixa produtividade primária.
4. As plantas produtoras de açúcares, tais como amido, pelo milho, e sacarose, pela cana-de-açúcar, são em geral de metabolismo fotossintético eficiente, do tipo C_4 .
5. As plantas produtoras de lipídios produzem mais energia ao liberarem a mesma, pois na β -oxidação, por exemplo, para cada acetil-CoA que sai e que possuem 2 carbonos - libera 17 ATP de energia, contra 38 ATP da glicose, sendo que em média um ácido graxo tem 16 átomos de carbono .

15. Referências Bibliográficas

- AFFOURTIT, C.; KRAB, K.; MOORE, A. L. Control of plant mitochondrial respiration. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1504, p. 58-69, 2001.
- ALOYSIUS, G .M.; TIELENS, J. J.; HELLEMOND, V. The electron transport chain in anaerobically functioning eukaryotes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1365, p. 71-78, 1998.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE AGROENERGIA 2007. Liana Rigon ... [et. al]. - Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2007. 127 p.
- ARNON, D. I.; WHATLEY, F. R.; ALLEN, M. B. Vitamin K as a cofactor of photosynthetic phosphorylation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 16, p. 607-608, 1955.
- BASSHAM, J. A.; KRAUSE, G. H. Free energy changes and metabolic regulation in steady-state photosynthetic carbon reduction. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 189, p. 207-221. 1969.
- BEEVERS, H. The metabolic production of sucrose from fat. **Nature**, v. 191, p. 433-436, 1961.

- BELTRÃO, N. E. de M. **Informações sobre o biodiesel, em especial feito com o óleo de mamona**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 2004. p. (Comunicado Técnico, 177).
- CARRARI, F.; URBANCZYK-WOCHNIAK, E.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Engineering central metabolism in crop species: learning the system. **Metabolic Engineering**. v. 5, p. 191-200, 2003.
- DALLING, M. J. **Plant proteolytic enzymes**. CRC Press: Boca Raton, 1986.
- DISTEFANO, S.; PALMA, J. M.; GÓMEZ, M.; DEL RÍO, L. A. Characterization of endoproteases from plant peroxisomes. **Biochemical Journal**. v. 327, p. 399-405, 1997.
- DOUCE, R.; BOURGUIGNON, J.; NEUBURGER, M.; REBEILLE, F. The glycine decarboxylase system: a fascinating complex. **Trends Plant Science**. v. 6, p. 167-176, 2001.
- DUDKINA, N. V. HEINEMEYER, J.; SUNDERHAUS, S.; BOEKEMA, E. J.; BRAUN, H. P. Respiratory chain supercomplexes in the plant mitochondrial membrane. **Trends in Plant Science**. v. 11, n. 5, 2006.
- EASTMOND, P. J.; GRAHAM, I. A. Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. **Trends Plant Science**. v. 6, p. 72, 2001.
- FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal** 2. ed. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1979.
- FINAZZI, G.; FURIA, A.; BARBAGALLO, R. P.; FORTI, G. State transitions, cyclic and linear electron transport and photophosphorylation in *Chlamydomonas reinhardtii*, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1413, p.117-129, 1999.
- FINNEGAN, P. M.; SOOLE, K. L.; UMBACH, A. L. In: DAY, A. H.; MILLAR, J.; WHELAN, D. A. (Ed.). **Plant Mitochondria: from genome to function**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2004.

FREY, P. A.; ARABSHAHI, A. Standard free-energy change for the hydrolysis of the phosphoanhydride bridge in ATP. **Biochemistry**, v. 34, p. 11307-11310, 1995.

FRIDLAND, L. E.; SCHIBE, R. Regulation of the Calvin cycle for CO₂ fixation as an example for general control mechanisms in metabolic cycles. **BioSystems**, v. 51, p. 79-93, 1999.

GERHARDT, B. Basic metabolic function of the higher plant peroxisome. **Physiology Vegetal**. v. 24, p.397-410, 1986.

GIETL, C.; WIMMER, B.; ADAMEC, J.; KALOUSEK, F. A cysteine endopeptidase isolated from castor bean endosperm microbodies processes the glyoxysomal malate dehydrogenase precursor protein, **Plant Physiology**. v. 113, p. 863-871, 1997.

GOEPFERT, S.; POIRIER, Y. β -Oxidation in fatty acid degradation and beyond, **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, p. 245-251, 2007.

HELDT, H. W. **Plant biochemistry**. 3th. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 629 p.

HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A. The ubiquitin system, **Annual Review of Biochemistry**. v. 67, p. 425-479, 1998.

HILTUNEN, J. K.; QIN, Y. Beta-oxidation-strategies for the metabolism of a wide variety of acyl-CoA esters, **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1484, p. 117-128, 2000.

HITCHCOCK, C.; NICHOLS, B. U. **Plant lipid biochemistry**. New York: Academic Press, 1971.

HOEFNAGEL, M. H. N.; ATKIN, O. K.; Wiskich. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1366, p. 235-255, 1998.

HUFFAKER, R. C. Proteolytic activity during senescence of plants, **New Phytologist**. v. 116, p. 199-231, 1990.

KENNEDY, E. P.; LEHNINGER, A. L. Oxidation of fatty acids and tricarboxylic acid cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria, **The Journal of Biological Chemistry**. v. 179, p. 957-972, 1949.

KORNBERG, H. L.; BEEVERS, H. A mechanism of conversion of fat to carbohydrate in castor beans. **Nature** v. 180, p.35, 1958.

KORNBERG, H. L.; KREBS, H. A. Synthesis of cell constituents from C2-units by a modified tricarboxylic acid cycle. **Nature**, v. 179, p. 988-991, 1957.

KORNBERG, H. L.; MADSEN, N. B. The metabolism of C2 compounds in microorganisms. 3. Synthesis of malate from acetate via the glyoxylate cycle, **The Biochemical Journal**. v. 68, p. 549-557, 1958.

KROGMANN, D. W. **The biochemistry of Green Plants**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1973.

KUNAU, W. H.; DOMMES, V.; SCHULZ, H. Beta-oxidation of fatty acids in mitochondria, peroxisomes, and bacteria: a century of continued progress, **Progress in Lipids Research**. v. 34, p. 267-342, 1995.

LEEGOOD, R. C. Enzymes of the Calvin cycle. In: LEA, P.A. (Ed.), **Methods in plant biochemistry**. London: Academic Press, 1990. p. 15-37.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LOGAN, D. C. Plant mitochondrial dynamics **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1763, p. 430-441, 2006.

MACKENZIE, S.; McINTOSH, L. Higher plant mitochondria, **Plant Cell**, v. 11, v. 571-586, 1999.

MICHALECKA, A. M.; AGIUS, S. C., MOLLER, I. M. RASMUSSEN, A. G. Identification of a mitochondrial external NADPH dehydrogenase by overexpression in transgenic *Nicotiana sylvestris*, **Plant Journal**. v. 37, p. 415-425, 2004.

MOLLER, I. M.; RASMUSSEN, A. G. The role of NADP in the mitochondrial matrix, **Trends in Plant Science**, v. 3, p. 21-27, 1998.

MOORE, C. S.; COOK-JOHNSON, R. J. RUDHE, C.; WHELAN, J.; DAY, D. A.; WISKICH, J. T.; SOOLE, K. L. Identification of AtNDI1, an internal nonphosphorylating NAD(P)H dehydrogenase in *Arabidopsis* mitochondria, **Plant Physiologist**. v. 133, p. 1968-1978, 2003.

MORANDINI, C. **Atlas de botânica**. 7. ed.. São Paulo: Nobel, 1974.

NICHOLS, B. W.; JAMES, A. T. Acil lipids and fatty acids in photosynthetic tissue. **Progress in Phytochemistry**, v. 1, p. 1, 1968.

PALMA, J. M.; SANDALIO, L. M.; CORPAS, F. J.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; McCARTHY, I.; DEL RÍO, L. A. Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: role of peroxisomes. **Plant, Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 521-530, 2002.

PENA, L. B.; PASQUINI, L. A.; TOMARO, M. L. GALLEGO, S. M. 20S proteasome and accumulation of oxidized and ubiquitinated proteins in maize leaves subjected to cadmium stress. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1139-1146, 2007.

PETTERSSON, G.; RYDE-PETTERSSON, U. **European Journal of Biochemistry**. v. 175, p.661-672, 1988.

PICKART, C. M.; FUSHMAN, D. Polyubiquitin chains: polymeric protein signals, **Current Opinion in Chemistry Biology**. v. 8, p. 610-616, 2004.

PISTELLI, L.; RASCIO, N.; DE BELLIS L.; ALPI, A. Localization of e oxidation enzymes in peroxisomes of rice coleoptiles. **Physiology Plant**, v. 76, p.144-148, 1989.

PLAXTON, W. The organization and regulation of plant glycolysis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 47, p.185-214, 1996.

POIRIER, Y.; VASILY ANTONENKOV, D.; TUOMO GLUMOFF, J.
KALERVO HILTUNEN Peroxisomal α -oxidation - A metabolic pathway with multiple functions, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1763, p. 1413-1426, 2006.

POPOVA, T. A.; CARVALHO, M. A. A. P. de. Citrate and isocitrate in plant metabolism, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1364, p. 307-325, 1998.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 723 p.

SCHMID, M.; SIMPSON, D.; GIETL, C. Programmed cell death in castor bean endosperm is associated with the accumulation and release of a cysteine endopeptidase from ricinosomes, **Proceedings of National Academy of Science**. v. 96, p. 14159-14164, 1999.

SCHWENDER, J.; OHLROGGE, J.; SHACHAR-HILL, Y. Understanding flux in plant metabolic networks. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 309-317, 2004.

SIEDOW, J. N.; UMBACH, A. L. Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology. **Plant Cell**, v. 7, p. 821-831, 1995.

SILVEIRA, J. C. Contribution a l'étude du pulgêre aux îles du Cap Vert. In: INSTITUTO SUPERIOR DE AGRONOMIA (Campinas,SP). **Anais...** Campinas, 1934. v. 6, p. 116-126.

SOLOMON, M.; BELENGHI, B.; DELLEDONNE, M.; MENACHEM, E.; LEVINE, A. The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants. **Plant Cell**, v. 11, p. 431-443, 1999.

STREET, H. E.; ÖPIK, H. **Fisiologia das angiosperma**: crescimento e desenvolvimento. São Paulo: Polígno, 1970.

TOLBERT, A. N. E.; OESER, T.; KISAKI, R. H.; HAGEMAN, R. K.; YAMAZAKI, Peroxisomes from spinach leaves containing enzymes related to glycolate metabolism, *J. Biological Chemistry*. v. 243, p. 5179-5184, 1968.

TOLBERT, N.E. Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes, **Annual Review of Biochemistry**, v. 50, p.133-157, 1981.

VIERSTRA, R. D. Proteolysis in plants: mechanisms and functions, **Plant Molecular Biology**. v. 32 p. 275-302, 1996.

VIERSTRA, R. D. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. **Trends in Plant Science**, v. 8, p.135-142, 2003.

WEISS, E. A. Castor. In: WEISS, E. A. **Oilseed crops**. London: Longman, 1983, p. 31-99.

Embrapa

Algodão

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

