

Respiração

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

- Uma Visão Geral da Oxidação da Glicose
- Glicólise
- A Via Aeróbica
- Outros Substratos para a Respiração
- Vias Anaeróbicas
- A Estratégia do Metabolismo Energético

ATP é a molécula que contém energia de troca, disponível, e universal* nos organismos vivos. Essa molécula faz parte de uma grande variedade de eventos celulares, tais como a biossíntese de moléculas orgânicas, o batimento dos flagelos, o fluxo da corrente citoplasmática e o transporte ativo de moléculas através da membrana plasmática. Nas próximas páginas, será descrito como a célula oxida carboidratos e captura uma parte da energia liberada nas ligações fosfoanídricas do ATP. Esse processo, que ocorre

PONTOS PARA REVISÃO

Após a leitura deste capítulo, você deverá ser capaz de responder às seguintes questões:

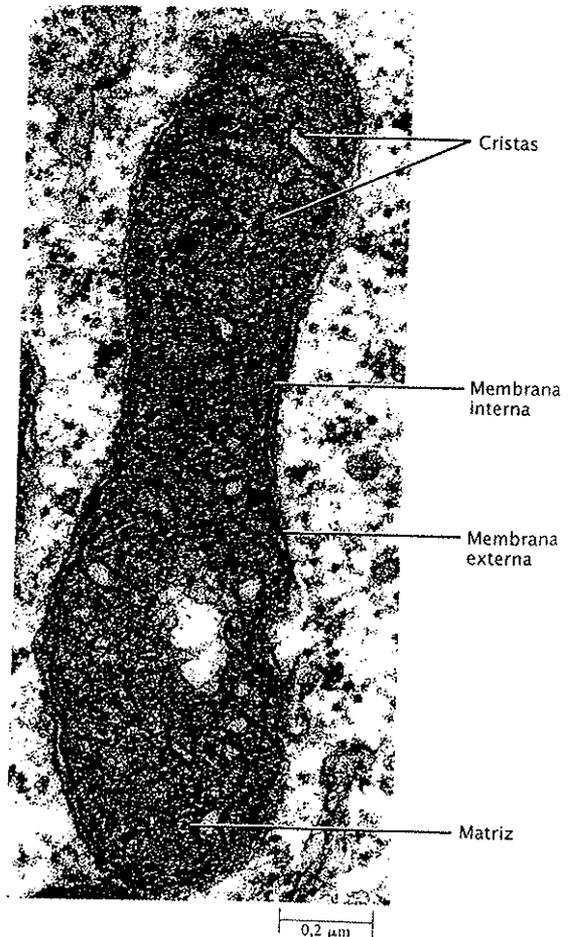
1. Qual é a reação geral ou a equação para a respiração e qual a principal função deste processo?
2. Quais são os eventos principais que ocorrem durante a glicólise?
3. Onde ocorre o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) na célula, e quais são os produtos formados?
4. Como o fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons resulta na formação de ATP?
5. Como e por que o rendimento líquido de energia produzido sob condições aeróbicas difere daquele obtido sob condições anaeróbicas?
6. Qual o papel básico desempenhado pelo ciclo do ácido cítrico no metabolismo das células?

*N.R.: No texto original foi usado o termo *currency*, que tem sido traduzido como *moeda corrente*, pois um dos seus significados é esse. Entretanto, *currency* pode também significar *unidade de troca* e o *estado de ser comumente conhecido ou aceito* ou de estar sendo usado em muitos lugares.

principalmente nas mitocôndrias (Figura 6.1), fornece uma excelente ilustração dos princípios químicos descritos no capítulo anterior e das vias por meio das quais as células conduzem os processos bioquímicos.

Uma Visão Geral da Oxidação da Glicose

Como mencionado no Capítulo 2, as moléculas fornecedoras de energia, como os carboidratos, são geralmente armazenadas nas plantas na forma de sacarose ou amido. A respiração — a completa oxidação de açúcares ou outras



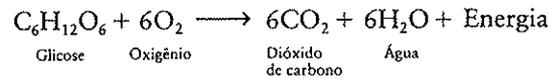
6.1 Mitocôndria em uma célula de folha As mitocôndrias são os sítios da respiração, o processo pelo qual a energia química é transferida de compostos de carbono para ATP. A maior parte do ATP é produzida nas superfícies das cristas, por enzimas inseridas nessas membranas. Essa elétron-micrografia de transmissão é de uma mitocôndria na célula foliar da samambaia *Regnellidium diphyllum*.

moléculas orgânicas a dióxido de carbono e água — necessita de uma etapa preliminar, que é a hidrólise dessas moléculas armazenadas a monossacarídeos como glicose e frutose. A respiração propriamente dita inicia-se com a glicose, que é um produto final da hidrólise tanto da sacarose como do amido.

A oxidação de glicose (e outros carboidratos) é complicada nos seus detalhes, mas simples em seu esquema geral. Como foi visto no último capítulo, a oxidação é a perda de elétrons e a redução é o ganho de elétrons. Na oxidação da glicose, esta molécula é cindida e os átomos de hidrogênio (isto é, os elétrons e seus correspondentes prótons) são removidos dos átomos de carbono e combinados com oxigênio, que então se torna reduzido. Quando isto acontece, os elétrons são transferidos de níveis de energia mais elevados para níveis mais baixos, e a energia livre é liberada.

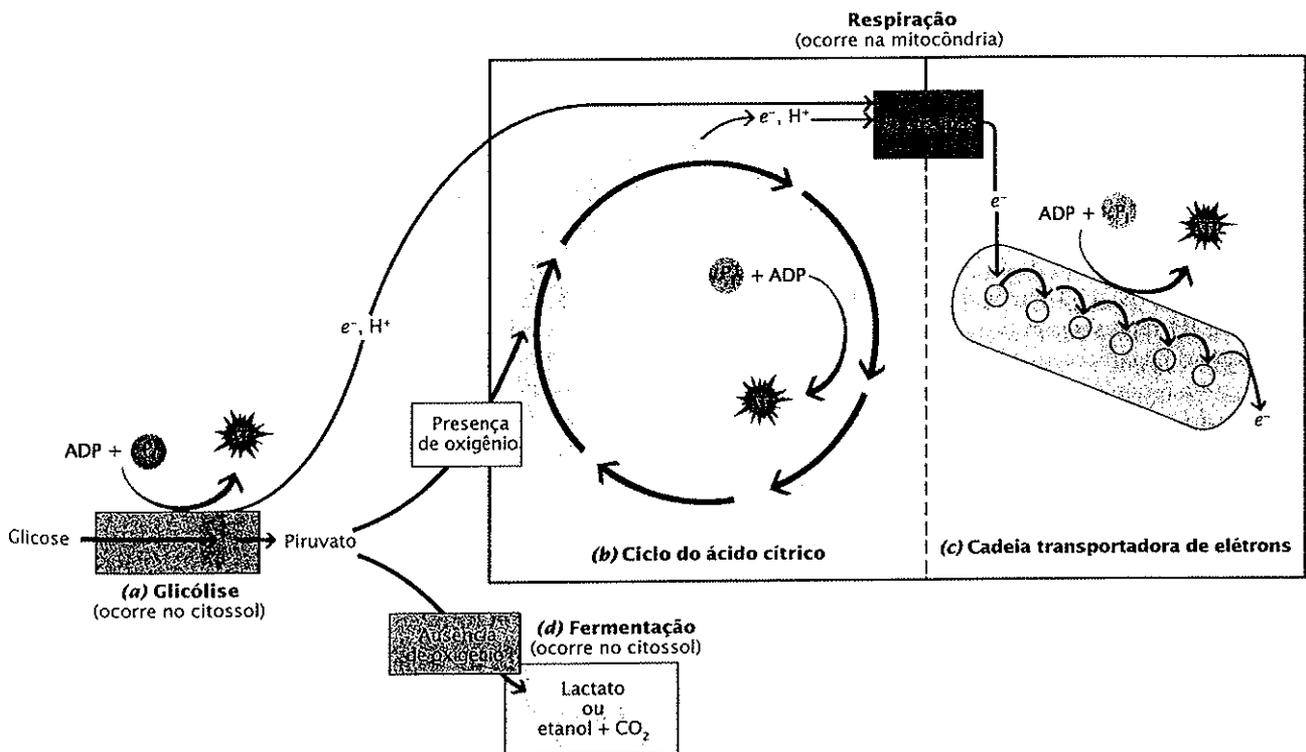
A glicose pode ser usada como fonte de energia tanto sob condições aeróbicas (isto é, na presença de oxigênio) quanto anaeróbicas (na ausência de oxigênio). Todavia, o rendimento de energia máximo de compostos orgânicos oxidáveis

é atingido apenas sob condições aeróbicas. Considere, por exemplo, a reação geral da oxidação da glicose:



Tendo o oxigênio como o último receptor de elétrons, essa reação é altamente exergônica (rica em energia), com a liberação de 686 kcal/mol sob condições normais. Essa reação representa o processo da respiração completo. Quando a energia é obtida de compostos orgânicos sem o envolvimento do oxigênio, no processo chamado fermentação, bem menos energia é obtida, como será visto no final do capítulo.

A respiração envolve a glicólise, a formação de acetil CoA a partir de piruvato, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia transportadora de elétrons, a qual produz um gradiente que direciona a fosforilação oxidativa (Figura 6.2). Na glicólise, a molécula de seis carbonos da glicose é quebrada em um par de moléculas com três átomos de carbono, o piruvato. As moléculas de piruvato são então oxidadas a duas moléculas de acetil CoA. No ciclo do ácido cítrico, as moléculas de



6.2 Visão geral da oxidação da glicose A quebra oxidativa completa da glicose, denominada respiração, consiste na glicólise, no ciclo do ácido cítrico e na cadeia de transporte de elétrons. (a) Na glicólise, a glicose é convertida a piruvato. Uma pequena quantidade de ATP é sintetizada a partir de ADP e fosfato, e uns poucos elétrons (e⁻) e seus prótons (H⁺) acompanhantes são transferidos para as coenzimas, que funcionam como transportadores de elétrons. (b) Na presença de oxigênio (via aeróbica), o piruvato é convertido a acetil CoA, que é incorporada ao ciclo do ácido cítrico. Ao longo desse ciclo, ATP adicional é sintetizado e mais elétrons e prótons são transferidos para as coenzimas. (c) As coenzimas então transferem os elétrons para a cadeia de transporte de elétrons, na qual os elétrons caem, etapa a etapa, para níveis de energia mais baixos, gerando um gradiente de prótons. O gradiente de prótons é utilizado para a formação de muito mais ATP, processo que é chamado fosforilação oxidativa. Ao final da cadeia transportadora de elétrons, os elétrons são reunidos aos prótons e combinados com o oxigênio para formar água. (d) Na ausência de oxigênio (vias anaeróbicas), o piruvato é convertido a lactato ou a etanol. Esse processo, conhecido como fermentação, não produz ATP adicional, mas pode regenerar as coenzimas necessárias para a continuidade da glicólise.

acetil CoA são completamente oxidadas a dióxido de carbono, e os elétrons resultantes são transferidos para a cadeia transportadora de elétrons. Na fosforilação oxidativa, a energia livre que é liberada pelo movimento dos elétrons através da cadeia transportadora de elétrons (terminando por reduzir o oxigênio à água) é usada para formar ATP a partir de ADP mais fosfato inorgânico.

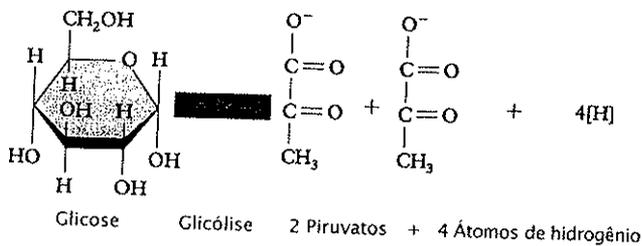
A medida que a molécula de glicose é oxidada, parte da energia contida nela é removida numa série de etapas, separadas e pequenas, e armazenada nas ligações de fosfato. De acordo com a segunda lei da termodinâmica, todavia, grande parte dessa energia é dissipada como energia térmica.

Glicólise

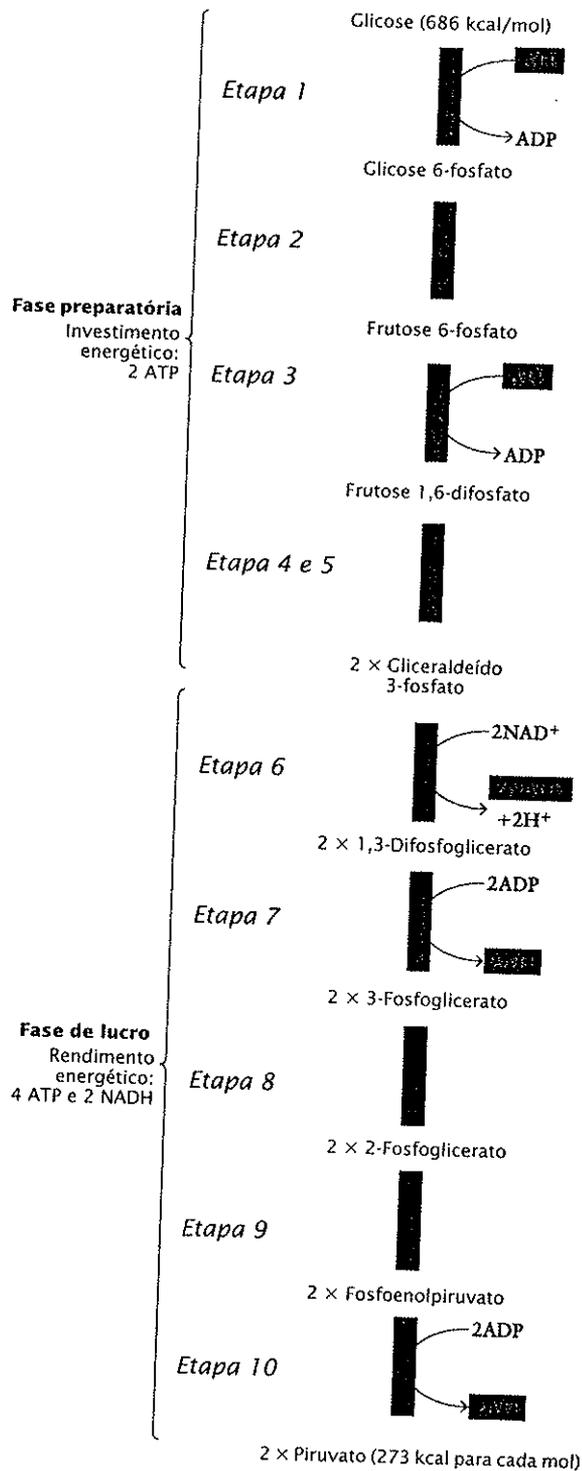
Como mencionado anteriormente, na glicólise (de *glyco*, significando "açúcar", e *lysis*, significando "quebra", "separação", "divisão") a molécula de seis carbonos da glicose é quebrada em duas moléculas de piruvato (Figura 6.3). A glicólise ocorre numa série de 10 etapas, cada uma catalisada por uma enzima específica. Essa série de reações é realizada, literalmente, por todas as células vivas, de bactérias a células eucarióticas de plantas e animais. A glicólise é um processo anaeróbico que ocorre no citossol. Biologicamente, a glicólise pode ser considerada um processo primitivo, o qual parece ter surgido antes do aparecimento do oxigênio atmosférico e das organelas celulares.

A via glicolítica é mostrada na Figura 6.4. Ela ilustra como os principais processos bioquímicos de uma célula viva ocorrem em etapas seqüenciais pequenas, e cada etapa é catalisada por uma enzima específica. Pode-se observar a formação de ATP a partir de ADP mais fosfato inorgânico e a formação de NADH a partir de NAD⁺ (ver Figura 5.8). ATP e NADH representam o ganho líquido de energia da célula, oriundo da glicólise. No Capítulo 7 será visto que as reações de 4 a 6 também ocorrem durante o ciclo de Calvin, uma parte do processo fotossintético. Essa repetição ilustra o princípio da evolução bioquímica: vias bioquímicas não surgem inteiramente novas, mas umas poucas reações novas são adicionadas a um grupo de reações já existentes para produzir uma via "nova".

A seqüência completa da glicólise começa com uma molécula de glicose (Figura 6.4). A fase preparatória na glicólise



6.3 Visão geral da glicólise Na glicólise, a molécula de seis carbonos da glicose é quebrada, por meio de uma série de 10 reações, em duas moléculas de um composto de três carbonos conhecido como piruvato. Durante a glicólise, quatro átomos de hidrogênio são removidos da molécula original da glicose.



6.4 Resumo das duas fases da glicólise A fase preparatória requer um investimento de 2 ATP. Esse estágio finaliza com a quebra do açúcar de seis carbonos em duas moléculas de três carbonos. A fase de lucro produz um rendimento energético de 4 ATP e 2 NADH — um substancial retorno ao investimento inicial. O rendimento líquido em ATP é, portanto, de 2 moléculas de ATP por molécula de glicose. Carboidratos outros que não a glicose, incluindo o glicogênio, o amido, vários dissacarídeos e uma grande variedade de monossacarídeos, podem ser usados na glicólise se forem convertidos em glicose 6-fosfato ou frutose 6-fosfato.

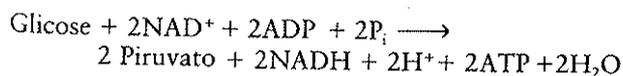
requer a entrada de energia, que é suprida por ATP (etapas de 1 a 3). Na **etapa 1** — a primeira reação preparatória — o grupo fosfato terminal de uma molécula de ATP é transferido para a molécula de glicose, formando glicose 6-fosfato e ADP. Na **etapa 2**, a glicose 6-fosfato (uma molécula em anel de seis lados) é rearranjada em frutose 6-fosfato (uma molécula em anel de cinco lados). Na **etapa 3** — a segunda reação preparatória — a frutose 6-fosfato recebe um segundo fosfato pelo investimento de outro ATP. Essa reação resulta em frutose 1,6-difosfato e ADP. Notar que duas moléculas de ATP foram convertidas em duas moléculas de ADP, e nenhuma energia foi recuperada. Em outras palavras, o rendimento de energia foi, assim, de -2 ATP.

A **etapa 4** é a da clivagem ou quebra, e desta etapa deriva o nome glicólise. A molécula de açúcar de seis carbonos é partida pela metade, produzindo duas moléculas de três carbonos (gliceraldeído 3-fosfato e diidroxiacetona fosfato). Esta última molécula é convertida em gliceraldeído 3-fosfato, e assim, ao final da **etapa 5** existem duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato. Dessa forma, os produtos das etapas seguintes devem ser contados em dobro por haver duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato. Com a finalização da etapa 5, a fase preparatória está concluída.

A **etapa 6** é o primeiro ponto da via que produz energia; é a etapa inicial da fase de lucro, ou seja, da fase energeticamente rentável da via. Nessa etapa, duas moléculas de NAD^+ são reduzidas a dois NADH, acumulando alguma energia proveniente da oxidação de gliceraldeído 3-fosfato como elétrons de alta energia. Nas **etapas 7 e 10**, duas moléculas de ADP retiram energia do sistema, formando ligações fosfoanídricas adicionais para produzir duas moléculas de ATP por molécula de gliceraldeído 3-fosfato — ou quatro moléculas de ATP por molécula de glicose. Dois dos quatro ATP são, na verdade, substitutos dos dois ATP usados nas etapas 1 e 3. O produto efetivo de ATP consiste em apenas duas moléculas de ATP por molécula de glicose. A formação de ATP por meio da transferência enzimática de um grupo fosfato oriundo de um intermediário metabólico para ADP, como nas etapas 7 e 10, é conhecida como **fosforilação em nível de substrato**.

A Glicólise Termina com a Maior Parte da Energia da Molécula Original da Glicose Ainda Presente nas Duas Moléculas de Piruvato

A glicólise (de glicose a piruvato) pode ser resumida na equação geral:



Assim, uma molécula de glicose é convertida a duas moléculas de piruvato. (Água é um subproduto quando ADP é combinado com fosfato para formar ATP.) O rendimento líquido — o ganho em energia — é de duas moléculas de ATP e NADH por molécula de glicose. Dois moles de piruvato têm um total energético de 546 quilocalorias, comparado com as 686 quilocalorias armazenadas na molécula de gli-

cose. Uma grande porção (próximo de 80%) da energia armazenada na molécula de glicose original ainda está presente nas duas moléculas de piruvato.

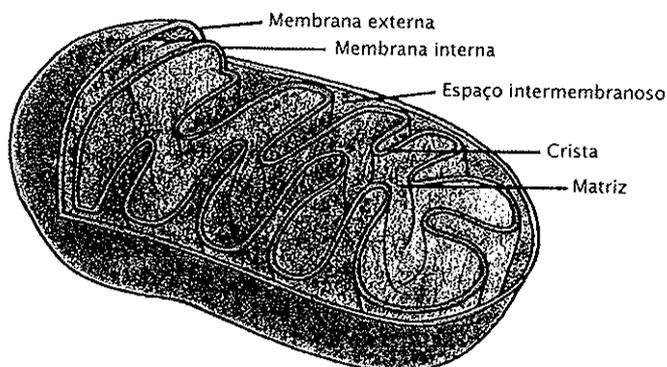
Notar também que, sob condições aeróbicas, as duas moléculas de NADH são, por sua vez, compostos altamente energéticos, que podem render moléculas adicionais de ATP nas mitocôndrias, quando usadas como doadoras de elétrons na cadeia transportadora de elétrons da via aeróbica (ver adiante).

A Via Aeróbica

O piruvato é o intermediário chave no metabolismo energético celular porque pode ser utilizado em uma das várias vias metabólicas. Qual via será seguida depende, em parte, das condições sob as quais o metabolismo está submetido e, em parte, do organismo especificamente envolvido — e, em alguns casos, de um tecido em particular no organismo. O principal fator ambiental que determina qual a via a ser seguida é a disponibilidade de oxigênio.

Na presença de oxigênio, o piruvato é oxidado completamente a dióxido de carbono e a glicólise é somente a fase inicial da respiração. A via aeróbica resulta na completa oxidação da glicose e num rendimento muito superior em ATP do que pode ser obtido apenas com a glicólise. Essas reações acontecem em dois lugares — no ciclo do ácido cítrico e na cadeia transportadora de elétrons — ambos ocorrendo dentro das mitocôndrias de células eucarióticas.

Relembrando, a mitocôndria é uma organela com um sistema de duas membranas, e a interna forma dobras denominadas **cristas** (Figura 6.5). Dentro do compartimento interno, em contato com as cristas, está a **matriz**, uma solução densa contendo enzimas, coenzimas, água, fosfato e outras moléculas envolvidas na respiração. Assim, a mitocôndria assemelha-se a uma fábrica química. A membrana externa permite que moléculas pequenas se movam livremente para dentro e para fora, mas a interna permite apenas a passagem de algumas moléculas, como piruvato e ATP, e impede a entrada de outras. A maioria das enzimas do ciclo



6.5 Estrutura da mitocôndria A mitocôndria tem duas membranas, como mostrado no diagrama tridimensional. A membrana interna dobra-se para dentro, formando as cristas. Muitas das enzimas e os transportadores de elétrons envolvidos na respiração estão presentes no interior da membrana interna.

do ácido cítrico está em solução na matriz, e os componentes da cadeia transportadora de elétrons estão inseridos na membrana interna, que apresenta as cristas.

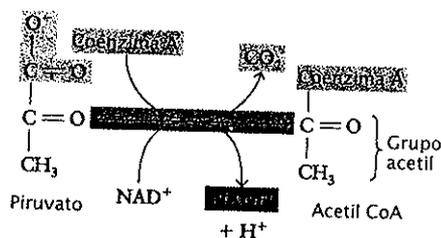
Uma Etapa Preliminar: o Piruvato Entra na Mitocôndria e É Oxidado e Descarboxilado

O piruvato passa do citossol, onde é produzido pela glicólise, para a matriz da mitocôndria atravessando as membranas externa e interna no processo. Todavia, ele não é utilizado diretamente no ciclo do ácido cítrico. Dentro da mitocôndria, o piruvato é oxidado e descarboxilado — isto é, os elétrons são removidos e o CO_2 é retirado da molécula. No correr dessa reação exergônica, uma molécula de NADH é produzida a partir de NAD^+ para cada molécula de piruvato oxidada (Figura 6.6). As duas moléculas de piruvato derivadas da molécula original de glicose são oxidadas a dois grupos acetil ($-\text{CH}_3\text{CO}$). Além disso, duas moléculas de CO_2 são liberadas e duas moléculas de NADH são formadas a partir de NAD^+ .

Cada grupo acetil é temporariamente ligado à coenzima A (CoA) — uma grande molécula formada por um nucleotídeo unido a um ácido pantotênico, uma das vitaminas do complexo B. A combinação do grupo acetil com a coenzima A é conhecida como acetil CoA, e é nesta forma que os carbonos da glicose entram no ciclo do ácido cítrico.

O Ciclo do Ácido Cítrico Oxida os Grupos Acetil das Moléculas de Acetil CoA

O ciclo do ácido cítrico foi inicialmente conhecido como ciclo de Krebs, em homenagem a Sir Hans Krebs, chefe do grupo de pesquisa que foi, em grande parte, responsável pela elucidação deste ciclo. Krebs postulou sua via metabólica em 1937 e posteriormente recebeu o prêmio Nobel em reconhecimento ao seu brilhante trabalho. O ciclo de Krebs é mais comumente conhecido como ciclo do ácido cítrico ou, hoje, como ciclo do CAT (ciclo dos ácidos tricarbóxicos; em inglês, TCA de *tricarboxylic acid*) porque se inicia com a formação do ácido cítrico ou citrato, o qual tem três grupos carboxilas ácidos ($-\text{COO}^-$).

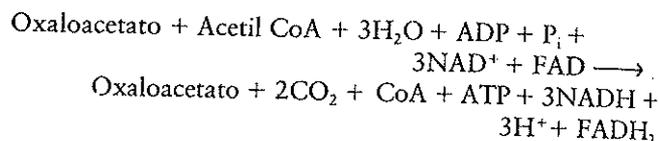


6.6 Formação de acetil CoA a partir de piruvato A molécula de três carbonos do piruvato é oxidada e descarboxilada para formar o grupo acetil CoA com dois carbonos, o qual é ligado à coenzima A dando origem a acetil CoA. A oxidação da molécula de piruvato é acoplada à redução de uma molécula de NAD^+ a NADH. A acetil CoA é a forma pela qual os átomos de carbono derivados da glicose entram para o ciclo do ácido cítrico.

O ciclo do ácido cítrico sempre se inicia com a acetil CoA como substrato. Para entrar no ciclo do ácido cítrico (Figura 6.7), os dois carbonos da acetil CoA são combinados com um composto de quatro carbonos (oxaloacetato) para produzir um composto de seis carbonos (citrato). A coenzima A é liberada para se combinar com um novo grupo acetil quando uma nova molécula de piruvato for oxidada. Durante o ciclo, dois dos seis carbonos são removidos e oxidados a CO_2 , e o oxaloacetato é regenerado — então formando literalmente um ciclo com estas reações. Cada volta dada no ciclo consome um grupo acetil e regenera uma molécula de oxaloacetato, ficando então pronto para reiniciar o ciclo.

Ao longo dessas etapas, parte da energia liberada pela oxidação dos átomos de carbono é usada para converter ADP em ATP (uma molécula por ciclo; outro caso de fosforilação em nível de substrato), mas a maior parte é usada para reduzir NAD^+ a NADH (três moléculas por ciclo). Além disso, parte da energia é usada para reduzir um segundo carregador de elétrons — a coenzima conhecida como flavina adenina dinucleotídeo (FAD). Uma molécula de FADH_2 é formada por cada volta do ciclo. O oxigênio não está diretamente envolvido no ciclo do ácido cítrico; os elétrons e os prótons removidos na oxidação do carbono são todos incorporados pelo NAD^+ e FAD.

A equação geral do ciclo do ácido cítrico é a seguinte:

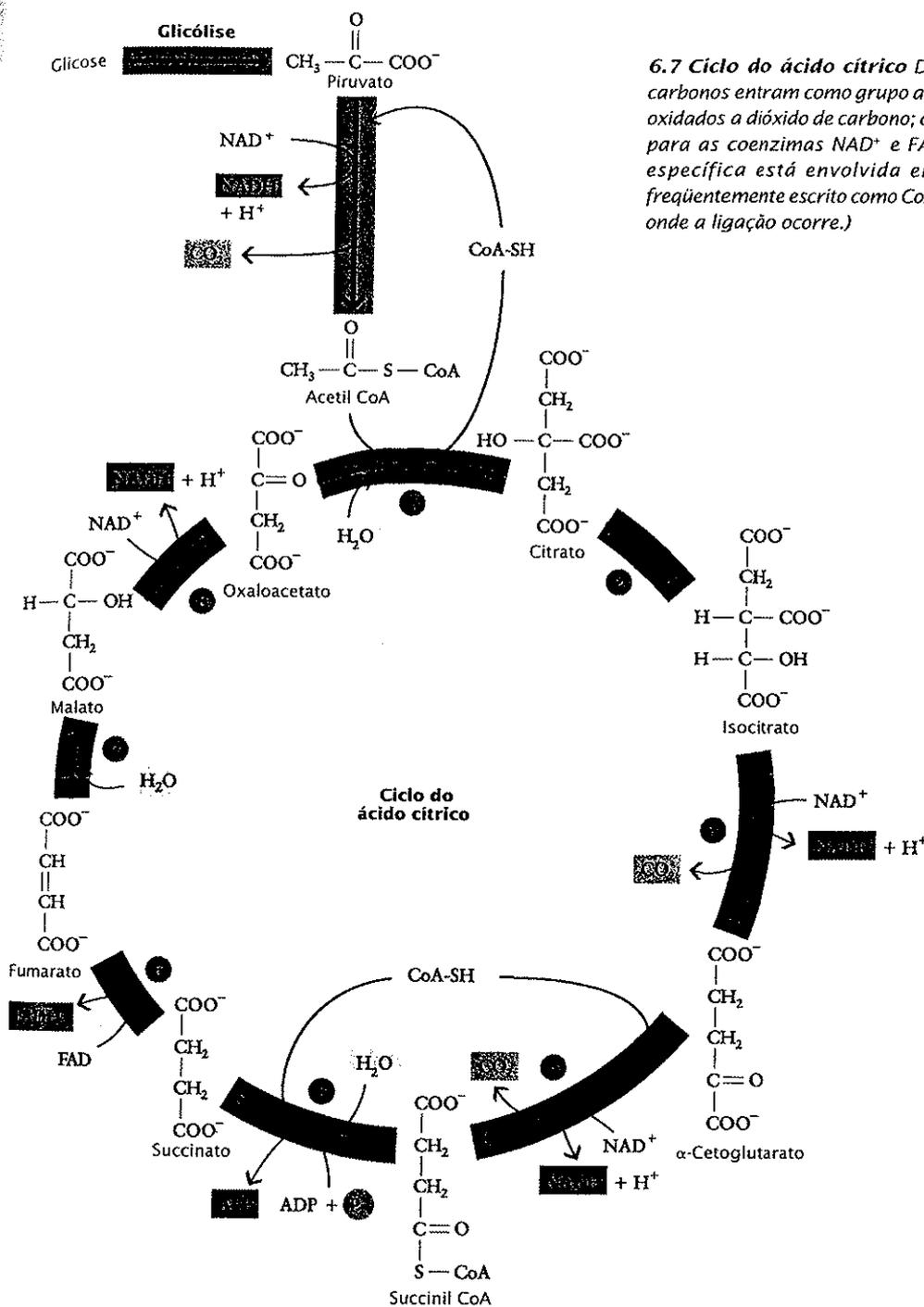


Na Cadeia Transportadora de Elétrons, os Elétrons Removidos da Molécula de Glicose São Transferidos para o Oxigênio

A molécula de glicose agora está completamente oxidada a CO_2 . Uma parte da energia que estava agregada nela foi convertida em ATP a partir de ADP mais P_i^* pela fosforilação em nível de substrato, tanto na glicólise quanto durante o ciclo do ácido cítrico. A maior parte da energia permanece, contudo, nos elétrons removidos dos átomos de carbono quando estes foram oxidados. Esses elétrons foram transferidos para os carregadores de elétrons NAD^+ e FAD e ainda estão em um alto nível energético nas moléculas de NADH e FADH_2 .

Na próxima etapa da respiração, esses elétrons altamente energéticos dos carregadores NADH e FADH_2 são transferidos etapa a etapa para o nível energético baixo do oxigênio. Essa passagem gradual é possível devido à cadeia transportadora de elétrons (Figura 6.8), um conjunto de transportadores de elétrons, cada qual levando os elétrons a níveis mais baixos de energia que o transportador anterior. Cada transportador é capaz de aceitar ou doar um ou dois elétrons por vez. Cada componente da cadeia aceita

*N.T.: A designação P_i indica fosfato inorgânico, que está disponível como íon fosfato em solução no citossol.



6.7 Ciclo do ácido cítrico Durante o ciclo do ácido cítrico, dois carbonos entram como grupo acetil da acetil CoA e dois carbonos são oxidados a dióxido de carbono; os átomos de hidrogênio são passados para as coenzimas NAD^+ e FAD . Como na glicólise, uma enzima específica está envolvida em cada etapa.* (Note que CoA é freqüentemente escrito como CoA-SH para indicar seu grupo sulfidrila, onde a ligação ocorre.)

*Enzimas que catalisam essas reações:

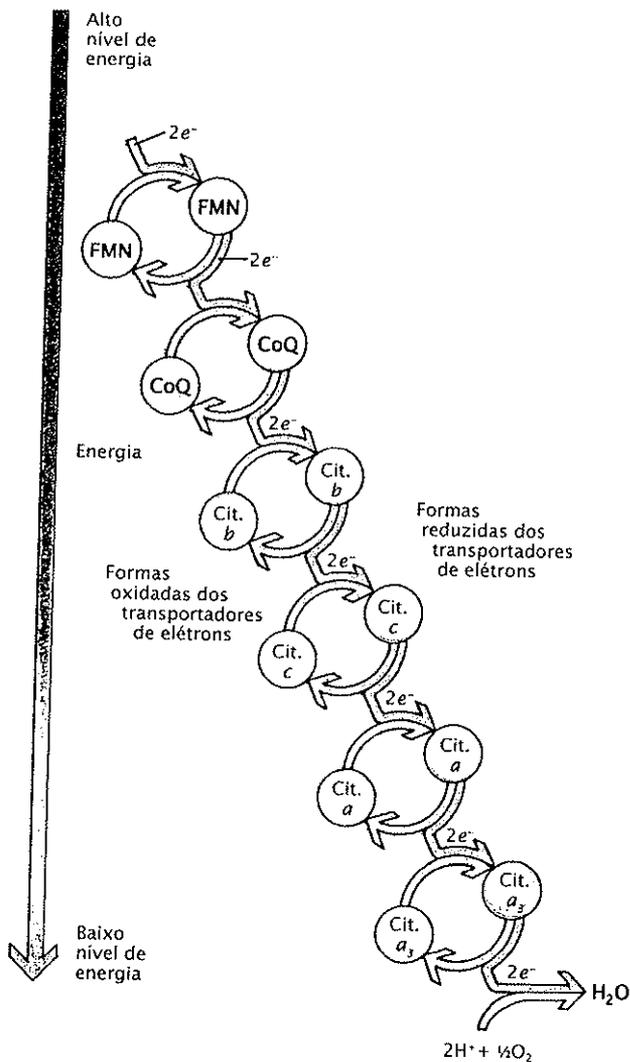
- Citrato sintase
- Aconitase
- Isocitrato desidrogenase
- α -Cetoglutarato desidrogenase
- Succinil CoA sintetase
- Succinato desidrogenase
- Fumarase
- Malato desidrogenase

os elétrons de seu anterior e passa para o transportador seguinte em uma seqüência específica. Com apenas uma exceção, todos os transportadores estão inseridos na membrana interna da mitocôndria.

Os carregadores de elétrons da cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria diferem de NAD^+ e FAD por sua composição química. Alguns deles são conhecidos como citocromos — moléculas protéicas com um anel porfirínico, contendo um átomo de ferro (grupo heme) ligado. Os citocromos retiram os elétrons de seus átomos

de ferro, os quais podem ser reversivelmente reduzidos da forma férrica (Fe^{3+}) para a forma ferrosa (Fe^{2+}). Cada citocromo difere em sua estrutura protéica e no nível de energia no qual ele retém os elétrons. Em sua forma reduzida, os citocromos podem carregar um único elétron sem um próton.

Proteínas que não carregam o grupo heme — proteínas ferro-enxofre (ferro-sulfurosas) — são os outros componentes da cadeia transportadora de elétrons. O ferro dessas proteínas não está ligado a um anel porfirínico, mas



6.8 Representação esquemática da cadeia transportadora de elétrons As moléculas mostradas aqui — flavina mononucleotídeo (FMN), coenzima Q (CoQ) e citocromos b, c, a e a_3 , são os principais transportadores da cadeia. Pelo menos nove outras moléculas estão envolvidas como intermediários entre esses transportadores de elétrons.

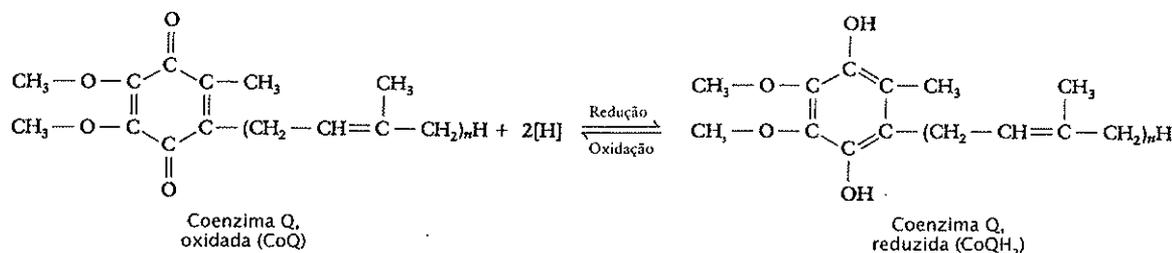
Os elétrons transportados por NADH entram na cadeia quando são transferidos para FMN, a qual é então reduzida (em azul). Quase instantaneamente, FMN transfere os elétrons para a CoQ. No processo, a FMN retorna para o estado oxidado (em cinza), pronta para receber outro par de elétrons, e a CoQ é então reduzida. A CoQ passa, então, os elétrons para o próximo transportador e retorna à sua forma oxidada original e, assim, sucessivamente em direção descendente na cadeia. À medida que os elétrons se movem ao longo da cadeia, eles descem sucessivamente a níveis de energia mais baixos. Os elétrons são recebidos por fim pelo oxigênio, o qual se combina com prótons (íons de hidrogênio) para formar água.

Os elétrons transportados pelo $FADH_2$ estão num nível energético ligeiramente mais baixo do que aqueles carregados pelo NADH. Eles entram na cadeia transportadora de elétrons bem mais abaixo que a CoQ e geram apenas 2 ATP por molécula de coenzima, enquanto comparativamente o rendimento do NADH é de 3 ATP por molécula deste.

a sulfetos e a átomos de enxofre dos aminoácidos sulfurados encontrados na cadeia protéica. Como os citocromos, as proteínas ferro-enxofre retiram os elétrons dos átomos de ferro e assim podem transportar elétrons, mas não prótons.

Os componentes mais abundantes da cadeia transportadora de elétrons são as moléculas de quinonas. Nas mitocôndrias, a quinona é a *ubiquinona*, também chamada de coenzima Q (CoQ) (Figura 6.9). Diferentemente dos citocromos e das proteínas ferro-enxofre, a quinona pode aceitar ou doar tanto um como dois elétrons. Isto permite que a CoQ funcione como intermediário entre carregadores de dois elétrons e de um elétron. Além disso, a CoQ capta um próton juntamente com cada elétron que carrega — o equivalente a um átomo de hidrogênio. Ao alternar a transferência de elétrons entre os transportadores que carregam apenas elétrons e aqueles que carregam átomos de hidrogênio, a CoQ pode transferir prótons através da membrana interna da mitocôndria. Por exemplo, cada vez que uma molécula de quinona recebe um elétron, ela também captura um próton (H^+) da matriz mitocondrial. Quando a quinona cede seu elétron para o próximo transportador, também libera o próton para o espaço intermembranoso (no caso, o espaço entre as membranas interna e externa da mitocôndria). Devido ao fato de os transportadores de elétrons estarem orientados na membrana mitocondrial interna, os prótons são sempre capturados no lado da membrana junto à matriz e liberados no espaço intermembranoso. Desse modo, um gradiente de prótons é formado através da membrana mitocondrial interna. A importância desse gradiente para a produção de ATP na via aeróbica será discutida posteriormente. Diferentemente dos citocromos e centros não-sulfurosos, a CoQ não está intimamente associada com qualquer tipo de complexo protéico, mas pode mover-se livremente entre os complexos protéicos da cadeia transportadora de elétrons, recebendo e doando elétrons. Por ser pequena e hidrofóbica, a CoQ pode mover-se livremente entre a camada dupla lipídica da membrana e assim carregar elétrons entre os outros transportadores menos móveis.

No “topo” ou “início” (ou seja, na extremidade mais energética) da cadeia transportadora de elétrons estão os elétrons contidos nas moléculas de NADH e $FADH_2$. Deve ser lembrado que para cada molécula de glicose oxidada, o rendimento no ciclo do ácido cítrico foi de seis moléculas de NADH e de duas moléculas de $FADH_2$ (Figura 6.7) e que a oxidação do piruvato a acetil CoA rendeu duas moléculas de NADH (Figura 6.6). Além disso, duas moléculas adicionais de NADH foram produzidas durante a glicólise (Figura 6.4), e na presença de oxigênio os elétrons dessas moléculas de NADH são transportados para a mitocôndria. Os elétrons de todas essas moléculas de NADH são transferidos ao receptor de elétrons flavina mononucleotídeo (abreviado FMN), o primeiro componente da cadeia respiratória. Os elétrons das moléculas de $FADH_2$ são transferidos para a CoQ, a qual está um pouco mais abaixo na cadeia transportadora de elétrons do que o FMN.



6.9 Formas oxidadas e reduzidas da coenzima Q A forma oxidada da CoQ é reduzida pelo recebimento de dois elétrons de um doador na cadeia transportadora de elétrons. Os prótons retirados pela CoQ vêm da face matricial (interna) da membrana interna da mitocôndria. A coenzima Q é também conhecida como "ubiquinona", nome que reflete a ubiquidade deste composto — o qual ocorre praticamente em todas as células eucarióticas.

Como os elétrons fluem ao longo da cadeia transportadora de elétrons de um nível energético maior para um nível menor, a energia liberada é carregada e utilizada para criar um gradiente de prótons através da membrana interna, transferindo prótons da matriz para o espaço intermembranoso. O gradiente de prótons, por sua vez, direciona a produção de ATP a partir de ADP e P_i pela fosforilação oxidativa. Ao final da cadeia, os elétrons são recebidos por oxigênio e combinados com prótons (íons de hidrogênio) para produzir água. Cada vez que um par de elétrons é passado do NADH para o oxigênio, prótons em quantidade suficiente são "bombeados" através da membrana para gerar três moléculas de ATP. Também, cada vez que um par de elétrons é passado do FADH₂, molécula que mantém estes elétrons em um nível ligeiramente mais baixo de energia que os provenientes do NADH, prótons são "bombeados", porém em quantidade suficiente para formar apenas duas moléculas de ATP.

A Fosforilação Oxidativa É Conseguída pelo Mecanismo de Acoplamento Quimiosmótico

Até o começo dos anos 1960, o mecanismo da fosforilação oxidativa foi um dos mais confusos quebra-cabeças da biologia celular. Como resultado de uma idéia e da criatividade experimental do bioquímico inglês Peter Mitchell (1920-1992) e do trabalho subsequente de vários outros pesquisadores, muito desse quebra-cabeça foi solucionado. A fosforilação oxidativa depende de um gradiente de prótons (íons H⁺) através da membrana e do subsequente uso da energia estocada para formar ATP a partir de ADP e fosfato.

Muitos dos componentes da cadeia transportadora de elétrons, como mostrado na Figura 6.10, estão inseridos na membrana interna da mitocôndria. A maioria dos transportadores de elétrons, na realidade, está intimamente ligada com proteínas inseridas na membrana, formando quatro complexos multiprotéicos distintos (I-IV). O complexo II não foi incluído na figura porque não está envolvido na oxidação do NADH.

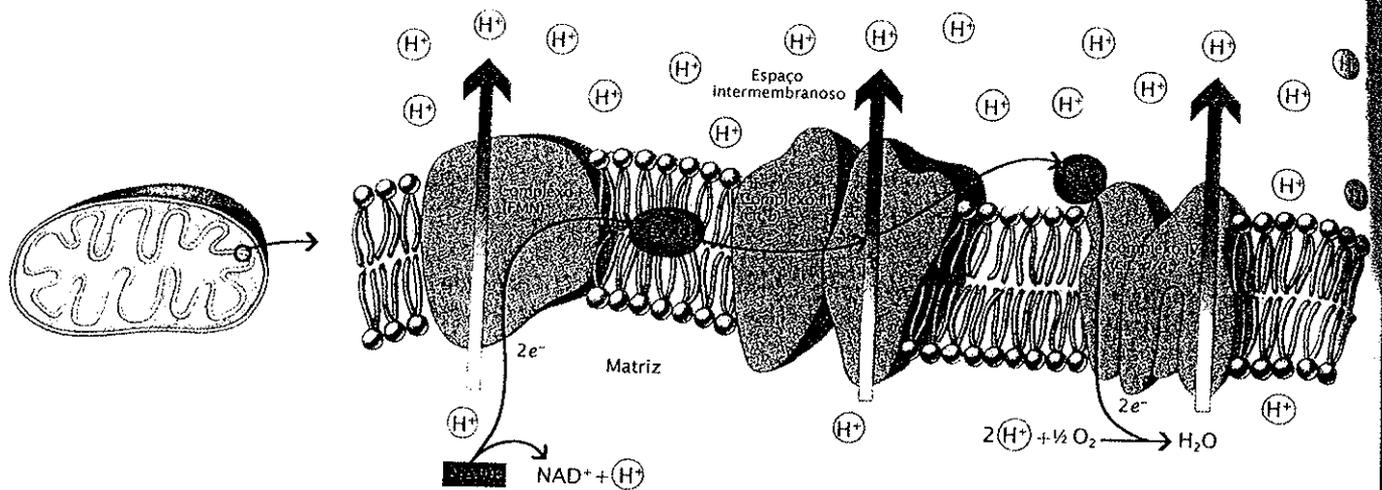
Como visto acima, os complexos protéicos são também bombas de prótons. Quando os elétrons descem para níveis de energia mais baixos durante seu deslocamento pela

cadeia transportadora de elétrons, a energia liberada é utilizada pelos complexos protéicos para bombear prótons através da membrana interna. Dentro de cada complexo, os transportadores de elétrons estão posicionados em relação a um outro, nos três sítios (complexos I, III e IV). Assim, quando os elétrons são passados de um complexo a outro, prótons são transferidos da face matricial da membrana interna da mitocôndria para o espaço intermembranoso. É aceito que para cada par de elétrons movendo-se para baixo na cadeia transportadora de elétrons, do NADH para o oxigênio, cerca de 10 prótons são bombeados para fora da matriz.

Como visto anteriormente, a membrana interna da mitocôndria é impermeável a prótons. Assim, os prótons que são bombeados para o espaço intermembranoso não podem voltar facilmente pela membrana em direção à matriz. O resultado é um gradiente de concentração de prótons na membrana interna da mitocôndria, com uma concentração muito maior de prótons no espaço intermembranoso do que na matriz.

Como uma pedra no topo de uma colina ou a água no topo de cachoeiras, a diferença na concentração de prótons entre o espaço intermembranoso e a matriz representa energia potencial. Essa energia potencial resulta não apenas da diferença na concentração real (mais íons de hidrogênio na face externa do que na face interna ou matricial da membrana interna da mitocôndria), mas também da diferença de cargas (mais cargas positivas no lado externo do que dentro). A energia potencial está, então, na forma de um gradiente eletroquímico. Ele fica então disponível para energizar qualquer processo que forneça um canal permitindo o fluxo de prótons a favor do gradiente, de volta para a matriz.

Tal canal é provido de um grande complexo enzimático conhecido como ATP sintase (Figura 6.11). Esse complexo enzimático que está inserido na membrana interna da mitocôndria tem sítios de ligação para ADP e fosfato. Também possui um canal interno, ou poro, pelo qual os prótons podem passar. Quando os prótons fluem pelo canal de volta para a matriz, diminuindo o gradiente eletroquímico do espaço intermembranoso, a energia que é liberada energiza a síntese de ATP a partir de ADP e fosfato.



6.10 Cadeia transportadora de elétrons O arranjo dos componentes da cadeia transportadora de elétrons na membrana interna da mitocôndria. Três estruturas protéicas complexas (aqui denominadas I, III e IV) estão inseridas na membrana. Elas contêm os transportadores de elétrons e as enzimas requeridas para catalisar a transferência de elétrons de um transportador para outro. O complexo I contém o transportador de elétrons FMN, o qual recebe dois elétrons do NADH e os passa para a CoQ. A CoQ, localizada no interior da membrana, carrega elétrons do complexo I para o complexo III, o qual contém os citocromos b. Do complexo III, os elétrons, então, se movem através dos citocromos a e a₃, localizados no complexo IV, de volta para a matriz, onde eles se combinam com prótons (íons H⁺) e oxigênio, formando água.

O complexo II é outra estrutura protéica complexa (não mostrada aqui), inserida na membrana interna da mitocôndria e que contém FAD. Os elétrons são passados do succinato (no ciclo do ácido cítrico) para o FAD, gerando FADH₂, e então para a CoQ. Assim, os elétrons do FADH₂ entram na cadeia de transporte eletrônico na CoQ. O complexo II não faz parte da transferência de elétrons do NADH para o O₂.

Quando os elétrons fazem seu caminho ao longo da cadeia transportadora de elétrons, prótons são bombeados, através dos três complexos protéicos, da matriz para o espaço intermembranoso. Essa transferência de prótons do lado matricial da membrana interna da mitocôndria para o outro lado dela (espaço intermembranoso) estabelece um gradiente de prótons que favorece a síntese de ATP.

Observar que a ATP sintase funciona de maneira oposta àquela da bomba de prótons da H⁺-ATPase, descrita no Capítulo 4. Lá, o ATP era utilizado como fonte de energia para bombear prótons contra um gradiente eletroquímico. A ATP sintase, por sua vez, usa a energia do movimento dos prótons para *produzir* ATP.

Esse mecanismo de síntese de ATP é conhecido como **acoplamento quimiosmótico** (Figura 6.12). O termo "quimiosmótico", cunhado por Peter Mitchell, reflete o fato de que a produção de ATP na fosforilação oxidativa envolve dois processos, o químico (a parte "químico", do termo) e o processo de transporte através de uma membrana de permeabilidade seletiva (a parte "osmótico", do termo). Como visto, dois eventos distintos tomam parte do acoplamento quimiosmótico: (1) Um gradiente de prótons é estabelecido através da membrana interna da mitocôndria, e (2) um potencial de energia armazenado no gradiente é usado para gerar ATP a partir de ADP e fosfato.

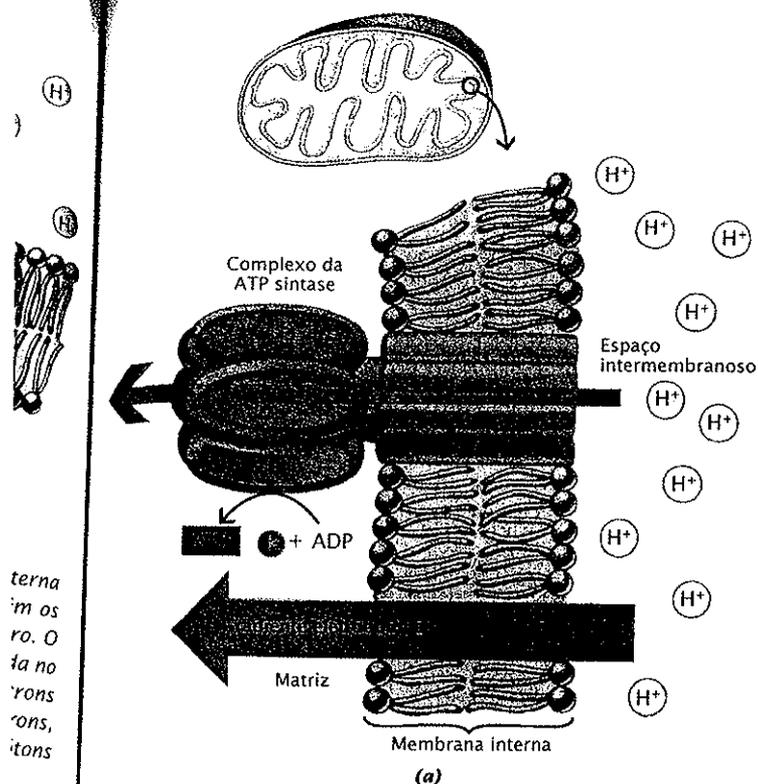
O potencial quimiosmótico também tem outros usos nos organismos vivos. Por exemplo, é ele que gera o movimento de rotação dos flagelos bacterianos. Em células fotossintetizantes, como será visto no próximo capítulo, o potencial quimiosmótico está envolvido na forma-

ção de ATP utilizando a energia fornecida pelo Sol. Ele pode também ser usado para fornecer energia para outros processos. Nas mitocôndrias, por exemplo, a energia armazenada no gradiente de prótons pode ser utilizada para transportar outras substâncias através da membrana interna. Tanto o fosfato como o piruvato são carregados para a matriz mitocondrial por proteínas da membrana que simultaneamente transportam prótons a favor do gradiente.

A Produção Total de Energia Envolve NADH e FADH₂ Assim como ATP

Agora se pode ver quanto da energia presente originalmente na molécula de glicose foi recuperado na forma de ATP. A "ficha de balanço" para o rendimento de ATP, mostrada na Figura 6.13, pode ajudar a conduzir a discussão que se segue.

A glicólise ocorre no citossol e na presença de oxigênio, rendendo diretamente 2 moléculas de ATP mais 2 moléculas extras de NADH por molécula de glicose. Os elétrons mantidos por essas 2 moléculas de NADH são transportados através da membrana mitocondrial ao "custo" de uma molécula de ATP por molécula de NADH. Assim, o rendimento líquido da reoxidação das 2 molé-



(b)

6.11 Complexo da ATP sintase (a) Esse complexo enzimático consiste em duas partes principais, F_0 , que está contida dentro da membrana interna da mitocôndria, e F_1 , que fica na matriz. Os sítios de ligação, tanto para o ATP quanto para o ADP, estão localizados em F_1 , que é constituída por nove subunidades separadas de proteína. Um canal ou poro, conectando o espaço intermembranoso e a matriz, passa através do complexo inteiro. Quando prótons passam pelo poro, movendo-se a favor do gradiente eletroquímico, ATP é sintetizado a partir de ADP e fosfato. **(b)** As protuberâncias, observadas nas vesículas nessa elétron-micrografia de transmissão, são as partes F_1 dos complexos da ATP sintase. As partes F_0 às quais elas estão ligadas estão inseridas na membrana e não estão visíveis. As vesículas observadas foram obtidas por quebra das membranas internas das mitocôndrias ao serem submetidas a ondas de ultrassom. Quando a membrana é rompida dessa forma, cada fragmento formado imediatamente se une pelas extremidades, formando uma vesícula fechada. Entretanto, nessas vesículas a superfície externa (visível) é o lado interno da membrana interna da mitocôndria, ou seja, o lado que se situa junto à matriz da mitocôndria intacta.

culas de NADH é de apenas 4 ATP, ao contrário dos 6 que seriam esperados.

A conversão de piruvato a acetil CoA ocorre na matriz das mitocôndrias, rendendo 2 moléculas de NADH para cada molécula de glicose. Quando os elétrons mantidos nessas 2 moléculas de NADH movem-se para baixo na cadeia transportadora de elétrons, prótons em quantidade suficiente são bombeados através da membrana mitocondrial para sintetizar 6 ATP.

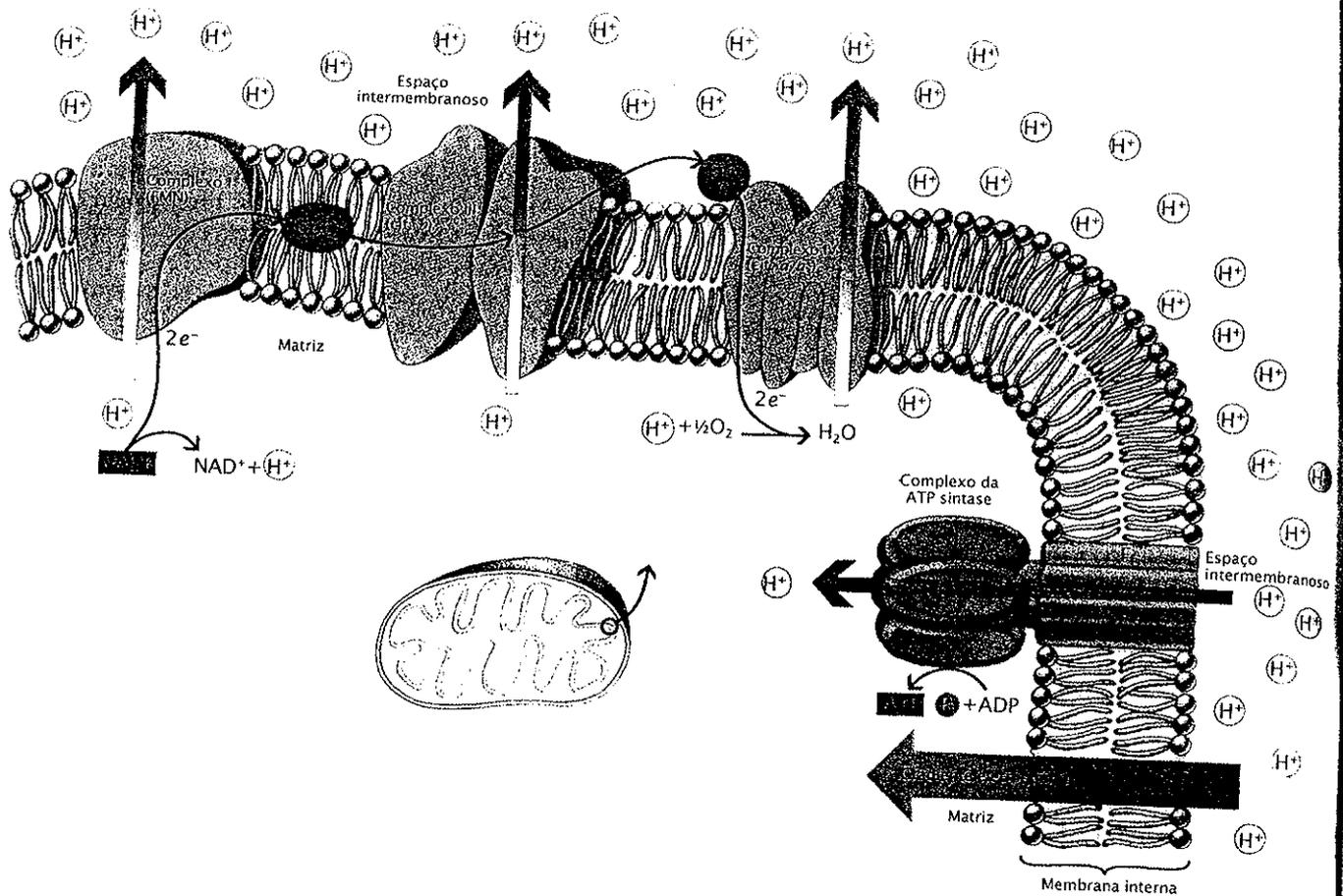
O ciclo do ácido cítrico também ocorre na matriz da mitocôndria, produzindo 2 moléculas de ATP, 6 moléculas de NADH e 2 de $FADH_2$. A passagem dos elétrons contidos nas moléculas de NADH e $FADH_2$ para níveis inferiores na cadeia transportadora de elétrons leva ao bombeamento de prótons através da membrana, rendendo 22 ATP — 18 derivados das 6 moléculas de NADH e 4 derivados das 2 moléculas de $FADH_2$. Assim, para cada molécula de glicose, o rendimento total no ciclo do ácido cítrico é de 24 ATP.

Como mostrado na ficha de balanço (Figura 6.13), o rendimento líquido de uma única molécula de glicose é de 36 moléculas de ATP — 6 geradas pela glicólise, 6 da conversão de piruvato em acetil CoA e 24 do ciclo do ácido cítrico. À exceção de 2 das 36 moléculas de ATP, todas as outras foram geradas dentro da mitocôndria e apenas 4 foram produzidas sem o envolvimento da oxidação de NADH e $FADH_2$ através da cadeia transportadora de elétrons acoplada à oxidação fosforilativa.

A diferença total em energia livre (ΔG) entre os reagentes (glicose e oxigênio) e os produtos (dióxido de carbono e água) é de -686 quilocalorias por mol em condições normais. As ligações fosfoanídricas terminais das 36 moléculas de ATP são responsáveis por 263 quilocalorias ($7,3 \times 36$) por mol de glicose (de novo sob condições normais). Em outras palavras, cerca de 38% da energia é conservada como ATP. O restante é perdido como calor.

Outros Substratos para a Respiração

Até agora se considerou que a glicose é o principal substrato para a respiração. É importante notar, contudo, que gorduras e proteínas podem ser convertidas a acetil CoA e passar ao ciclo do ácido cítrico (ver Figura 6.15). No caso da gordura, uma molécula de triglicerídio (triacil glicerol) é inicialmente hidrolisada a três ácidos graxos e uma molécula de glicerol. Então, começando pela terminação carboxílica dos ácidos graxos, os grupos acetil de dois carbonos são sucessivamente removidos até acetil CoA por um processo denominado *beta-oxidação*. Uma molécula como o ácido oléico (ver Figura 2.7), a qual contém 18 átomos de carbono, rende 9 acetil CoA, que podem ser oxidadas pelo ciclo do ácido cítrico. As proteínas são decompostas, de forma análoga, em seus componentes menores, os aminoácidos, e os grupos amino são removidos. Alguns dos esqueletos carbônicos residuais são convertidos a intermediários do ciclo do ácido cítrico, como o α -cetoglutarato, oxaloacetato e fumarato, e podem, então, entrar no ciclo.



6.12 Resumo da síntese quimiosmótica de ATP na mitocôndria À medida que os elétrons descem na cadeia transportadora de elétrons, a qual faz parte da membrana interna da mitocôndria, prótons são bombeados para fora da matriz em direção ao espaço intermembranoso da mitocôndria. Isto cria um gradiente eletroquímico. O movimento subsequente dos prótons a favor do gradiente, quando estes passam através do complexo da ATP sintase, fornece energia pela qual o ATP é sintetizado a partir de ADP e fosfato. Evidências recentes sugerem que três prótons fluem pelo complexo da ATP sintase para cada molécula de ATP formada.

Moléculas produzidas:

	Citossol	Matriz da mitocôndria	Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa	
Glicólise	2 ATP 2 NADH			Rendimento líquido → 4 ATP
Ciclo do ácido cítrico		2 × (1 ATP)	2 × (3 NADH) → 2 × (9 ATP)	→ 2 ATP → 18 ATP
			2 × (1 FADH ₂) → 2 × (2 ATP)	→ 4 ATP
				Total: 36 ATP

6.13 Rendimento energético da oxidação da glicose Um resumo do rendimento líquido de energia de 36 ATP, originados pela completa oxidação de uma molécula de glicose.

Vias Anaeróbicas

Na maioria das células eucarióticas (assim como na maioria das bactérias), o piruvato normalmente segue a rota ou via aeróbica e é completamente oxidado a dióxido de carbono e água. Contudo, na ausência ou na falta momentânea de oxigênio, o piruvato não é o produto final da glicólise. Nessas condições, o NADH produzido durante a oxidação do gliceraldeído 3-fosfato não pode doar seus elétrons para O₂ via cadeia transportadora de elétrons, mas precisa ser reoxidado a NAD⁺. Sem essa reação, a glicólise seria logo interrompida, pois a célula ficaria desprovida de NAD⁺ como receptor de elétrons.

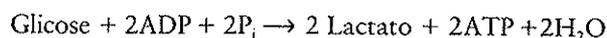
Em muitas bactérias, fungos, protistas e células animais esse processo sem oxigênio ou anaeróbico resulta na formação de lactato, um composto de três carbonos similar em estrutura ao piruvato. Esse processo é, assim, denominado fermentação láctica. Em leveduras e na maioria das células vegetais, o piruvato é reduzido a etanol (álcool etílico) e dióxido de carbono, e esse processo anaeróbico é chamado fermentação alcoólica. Em ambos os casos, os dois elétrons (e um próton) do NADH são transferidos ao carbono central do piruvato. Todavia, no caso

da fermentação alcoólica, a reoxidação do NADH é precedida pela liberação de dióxido de carbono (descarboxilação) (Figura 6.14).

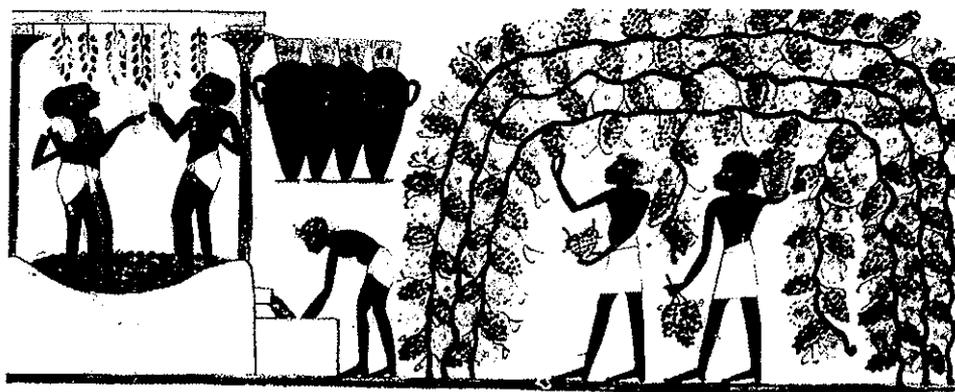
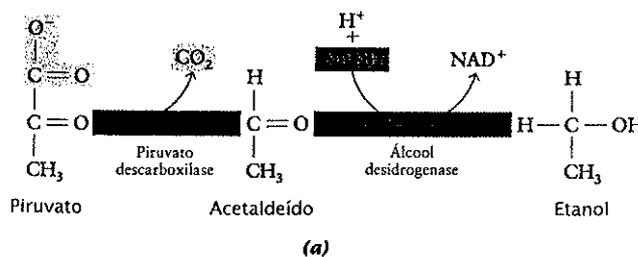
Termodinamicamente, a fermentação láctica e a fermentação alcoólica são similares. Em ambas, o NADH é reoxidado e a energia da quebra da glicose é limitada a um rendimento líquido de 2 moléculas de ATP, produzidas durante a glicólise. A equação, completa e balanceada para a fermentação da glicose, pode ser escrita como se segue:



ou



Durante a fermentação alcoólica, aproximadamente 7% da energia total disponível na molécula da glicose — cerca de 52 quilocalorias por mol — é liberada, com cerca de 93% permanecendo nas duas moléculas de etanol. Considerando-se, contudo, a eficiência com a qual a célula anaeróbica conserva boa parte daquelas 52



6.14 Fermentação alcoólica (a) As duas etapas do processo pelo qual o piruvato é convertido anaerobicamente em etanol. Na primeira etapa, o dióxido de carbono é liberado. Na segunda, o NADH é oxidado e o acetaldeído é reduzido. Grande parte da energia contida na glicose permanece no álcool, que é o principal produto final da seqüência. Todavia, por regenerar NAD⁺, essas etapas permitem que a glicólise continue com um pequeno mas vital rendimento de ATP. (b) Um exemplo de glicólise anaeróbica. As antigas pinturas egípcias em paredes, como a exibida aqui, são das primeiras documentações históricas de produção de vinho, estando datadas de 5.000 anos atrás. Todavia, os fragmentos de cerâmica corados com vinho, recentemente descobertos, sugerem que os sumérios foram mestres na arte de produção de vinho 500 anos antes dos egípcios. As frutas eram colhidas e esmagadas com os pés e o suco coletado em jarros e deixado fermentar, produzindo vinho. Nas viniculturas modernas, culturas de leveduras puras são misturadas ao suco de uva quase estéril para fermentação, ao invés de se permitir que esta ocorra meramente pela ação das leveduras contidas nas uvas.

adora
ção ao
vor do
tir de
nada.

pela

quilocalorias como ATP (7,3 quilocalorias por mol de ATP ou 14,6 quilocalorias por mol de glicose), a eficiência da energia conservada é algo como 26%. A eficiência de máquinas feitas pelo homem raramente excede 25%, e a respiração, como visto neste capítulo, é de cerca de 38%.

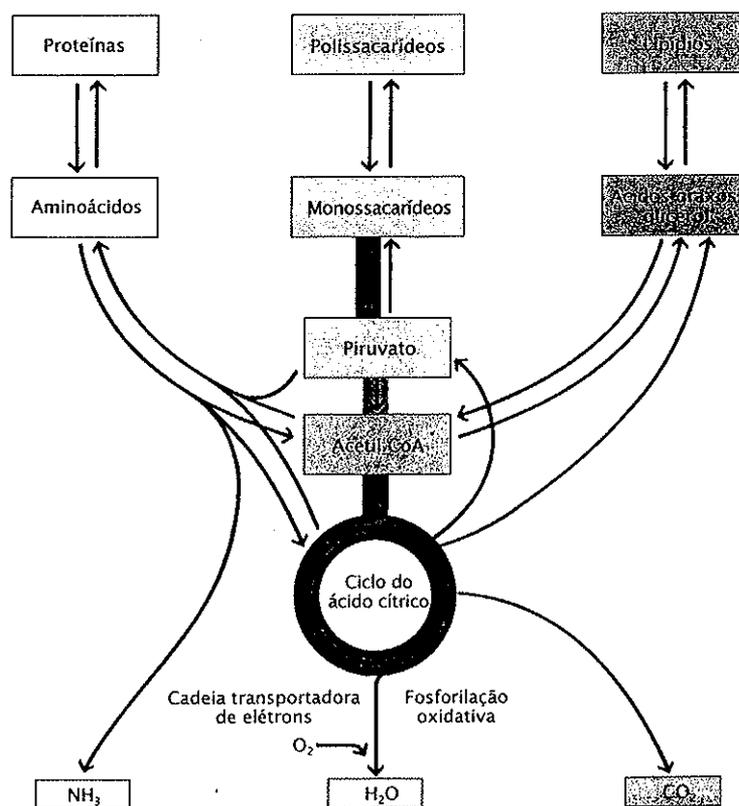
O fato de a glicólise não requerer oxigênio sugere que a seqüência glicolítica surgiu muito cedo, antes de haver oxigênio livre na atmosfera. Provavelmente, os organismos unicelulares primitivos usavam a glicólise (ou algo muito semelhante a isto) para extrair energia das moléculas orgânicas que eles absorviam de seu ambiente aquático. Apesar de as rotas anaeróbicas gerarem apenas duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose processada, este baixo rendimento era e é adequado para as necessidades de muitos organismos ou partes de organismos. Por exemplo, o sistema radicular de plantas de arroz de locais alagados freqüentemente realiza extensiva fermentação para prover energia para o crescimento e o metabolismo das próprias raízes.

A Estratégia do Metabolismo Energético

As várias vias pelas quais diferentes moléculas orgânicas são quebradas para produzir energia são conhecidas coletivamente como catabolismo. Elas também são cen-

trais nos processos biossintéticos da vida. Esses processos, conhecidos coletivamente como **anabolismo**, são os processos pelos quais as células sintetizam a grande diversidade de moléculas que constituem um organismo vivo. Uma vez que várias dessas moléculas, tais como proteínas e lipídios, podem ser quebradas e introduzidas na via principal do metabolismo da glicose, pode-se pensar que o processo inverso também ocorre — isto é, que vários intermediários da glicólise e do ciclo do ácido cítrico serviriam como precursores para a biossíntese. Esse é de fato o caso, como esquematizado na Figura 6.15. Conseqüentemente, o ciclo do ácido cítrico tem um papel fundamental tanto nos processos anabólicos como catabólicos e representa o maior “centro” de atividades metabólicas da célula.

Para que as reações das rotas catabólicas e anabólicas ocorram, tem que haver um suprimento estável de moléculas orgânicas que possam ser decompostas não apenas para o suprimento de energia, mas também para a formação das moléculas constitutivas. Sem o suprimento dessas moléculas, as vias metabólicas param de funcionar e o organismo morre. As células heterotróficas (incluindo as células heterotróficas das plantas, como as células de raízes) são dependentes de fontes externas — especificamente, das células autotróficas — para as moléculas orgânicas que são essenciais para a vida. As células autotróficas, contudo, são



6.15 As principais vias do catabolismo e anabolismo da célula viva As vias catabólicas (setas apontando para baixo) são exergônicas. Uma parte significativa da energia liberada nessas rotas é capturada na síntese de ATP. As vias anabólicas (setas apontando para cima) são endergônicas. A energia que potencializa as reações dessas vias é suprida principalmente pelo ATP e NADH.

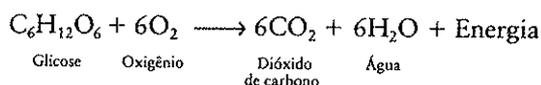
capazes de sintetizar suas próprias moléculas ricas em energia a partir de moléculas inorgânicas simples e de uma fonte de energia externa. Essas moléculas, então, suprem tanto a energia quanto as moléculas para serem utilizadas na síntese de outras moléculas constitutivas.

De longe, as mais importantes células autotróficas são as células fotossintetizantes das algas e plantas. No próximo capítulo, será visto como essas células capturam a energia do Sol e a usam para sintetizar as moléculas de monossacarídeos, das quais depende a vida no planeta.

RESUMO

A Respiração ou a Completa Oxidação da Glicose É a Fonte Principal de Fornecimento de Energia na Maioria das Células

A reação geral da respiração, a qual resulta na completa oxidação da glicose, é:



Quando a glicose é oxidada em uma série de reações seqüenciais catalisadas por enzimas, uma parte da energia é armazenada na forma de ligações fosfoanídricas terminais no ATP e o restante é perdido como calor.

Na Glicólise, a Glicose É Quebrada em Piruvato

A primeira fase da oxidação da glicose é a glicólise, na qual a molécula de seis carbonos da glicose é quebrada em duas moléculas de três carbonos de piruvato. Essa reação ocorre no citossol das células eucarióticas e resulta na formação de duas moléculas de ATP e duas de NADH.

O Ciclo do Ácido Cítrico Completa a Quebra Metabólica da Glicose a Dióxido de Carbono

No curso da respiração, a molécula de três carbonos do piruvato é oxidada dentro da matriz mitocondrial a dois grupos acetil de dois carbonos, os quais entram no ciclo do ácido cítrico como acetil CoA. No ciclo do ácido cítrico, também conhecido por ciclo de Krebs, cada grupo acetil é oxidado em uma série de reações, produzindo duas moléculas adicionais de dióxido de carbono, uma molécula de ATP e quatro moléculas de transportadores de elétrons reduzidos (três NADH e um FADH₂). Com duas voltas do ciclo, os átomos de carbono derivados da glicose são completamente oxidados e liberados como moléculas de CO₂.

Na Cadeia Transportadora de Elétrons, o Fluxo de Elétrons É Acoplado ao Bombeamento de Prótons Através da Membrana Interna da Mitocôndria e à Síntese de ATP pela Oxidação Fosforilativa

O próximo estágio da respiração é a cadeia transportadora de elétrons, a qual envolve uma série de transpor-

tadores de elétrons e de enzimas inseridas na membrana interna da mitocôndria. Ao longo dessa série de transportadores de elétrons, os elétrons de alta energia contidos no NADH e FADH₂ movem-se “morro abaixo” no nível de energia, reduzindo finalmente o oxigênio à água. A grande quantidade de energia livre liberada durante a passagem descendente de elétrons através da cadeia de transporte de elétrons potencializa o bombeamento de prótons (íons de H⁺) para fora da matriz mitocondrial. Isto cria um gradiente eletroquímico de energia potencial através da membrana interna da mitocôndria. Quando os prótons passam pelo complexo da ATP sintase num fluxo a favor do gradiente e de volta para a matriz, a energia liberada é utilizada para formar ATP a partir de ADP e fosfato. Este processo, conhecido como acoplamento quimiosmótico, é o mecanismo pelo qual a fosforilação oxidativa é realizada.

Durante a quebra aeróbica da molécula da glicose a CO₂ e H₂O, 36 moléculas de ATP são geradas, a maioria delas na mitocôndria no estágio final da respiração, por fosforilação oxidativa.

As Reações de Fermentação Ocorrem sob Condições Anaeróbicas

Na ausência ou na falta momentânea de oxigênio, o piruvato produzido pela glicólise pode ser convertido a lactato (em várias bactérias, fungos e células animais) ou a etanol e dióxido de carbono (em leveduras e na maioria das células vegetais). Esses processos anaeróbicos — denominados fermentações — rendem 2 ATP para cada molécula de glicose.

O Ciclo do Ácido Cítrico É o “Centro Metabólico” da Quebra e Síntese de uma Grande Variedade de Moléculas

Apesar de a glicose ser considerada como o substrato principal para a respiração na maioria das células, proteínas e gorduras também podem ser convertidas em moléculas que entram na seqüência respiratória em várias etapas. As diferentes vias pelas quais as moléculas orgânicas são quebradas para fornecer energia são conhecidas coletivamente como catabolismo. Os processos biossintéticos da vida são conhecidos coletivamente como anabolismo.

QUESTÕES

1. Faça a distinção entre fosforilação em nível de substrato e fosforilação oxidativa. No que se refere à respiração, em que lugar da célula esses processos ocorrem?
2. Esquematize a estrutura de uma mitocôndria. Em relação à estrutura da mitocôndria, descreva onde ocorrem as diversas etapas da quebra completa da glicose. Quais moléculas e íons atravessam as membranas das mitocôndrias durante esses processos?
3. Pode-se dizer que dois eventos distintos ocorrem no acoplamento quimiosmótico. Quais são esses eventos? Quais são alguns dos

usos da energia derivada do processo quimiosmótico em organismos vivos?

4. Alguns compostos químicos funcionam como agentes "desacopladores" quando adicionados a mitocôndrias que estão respirando. A passagem de elétrons através da cadeia transportadora de elétrons até oxigênio é mantida, mas ATP não é formado. Um desses compostos é o antibiótico valinomicina, conhecido por transportar íons K^+ através da

membrana interna da mitocôndria para a matriz. Outro composto, 2,4-dinitrofenol, transporta íons H^+ através da membrana. Como essas duas substâncias impedem a formação de ATP?

5. Com algumas linhagens de leveduras, a fermentação pára antes que se esgote completamente o açúcar, geralmente quando a concentração de álcool excede 12%. Você pode dar uma explicação plausível?

Fotossíntese, Luz e Vida

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

Fotossíntese: Uma Perspectiva Histórica

A Natureza da Luz

A Função dos Pigmentos

As Reações da Fotossíntese

As Reações de Fixação do Carbono

No capítulo anterior, foi descrita a quebra dos carboidratos para produzir energia requerida para os diversos tipos de atividades realizadas pelos organismos vivos. Nas páginas que se seguem, será completado o ciclo, descrevendo o modo pelo qual a energia da luz solar é capturada e convertida em energia química.

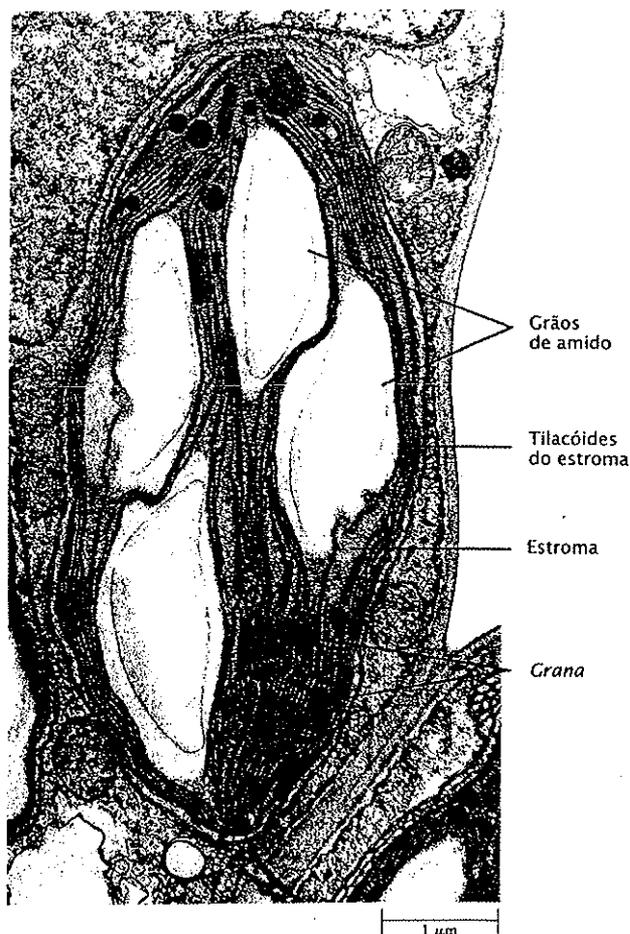
Esse processo — fotossíntese — é a via pela qual praticamente toda a energia entra em nossa biosfera. A cada ano, mais de 250 bilhões de toneladas de açúcar são produzidas na natureza pelos organismos fotossintetizantes. Entretanto, a importância da fotossíntese vai além do peso absoluto desse produto. Sem este fluxo de energia a partir do Sol e canalizado em grande parte pelos cloroplas-

PONTOS PARA REVISÃO

Ao término da leitura deste capítulo, você deverá ser capaz de responder às seguintes questões:

1. Qual é o papel da luz na fotossíntese e quais são as propriedades da luz que sugerem que ela comporta-se como uma onda e como uma partícula?
2. Quais são os principais pigmentos envolvidos na fotossíntese e por que as folhas são verdes?
3. Quais são os principais produtos das reações de transdução de energia luminosa da fotossíntese?
4. Quais são os principais produtos das reações de fixação do carbono da fotossíntese?
5. Quais são os principais eventos associados com cada um dos dois fotossistemas nas reações luminosas e qual é a diferença entre os pigmentos da antena e os pigmentos dos centros de reação?
6. Quais são as principais diferenças entre as vias C_3 , C_4 e CAM de fixação do carbono e quais as características que elas têm em comum?

tos das células eucarióticas (Figura 7.1), o ritmo da vida neste planeta seria rapidamente diminuído e, então, praticamente cessaria por inteiro, como é determinado pela inextricável segunda lei da termodinâmica.



7.1 Cloroplasto O cloroplasto de uma célula do mesófilo de caruru (*Amaranthus retroflexus*) é mostrado aqui. As reações fotossintéticas para a captura da luz ocorrem nas membranas internas ou tilacóides, onde as clorofilas e os outros pigmentos estão inseridos. Muitos dos tilacóides estão empilhados em estruturas chamadas grana (grânulos). Os tilacóides dos grana estão interconectados via tilacóides do estroma. A série de reações nas quais a energia luminosa capturada é usada para sintetizar os compostos contendo carbono ocorre no estroma, a matriz na qual os tilacóides estão incluídos. Durante os períodos de intensa fotossíntese, parte dos carboidratos é estocada temporariamente nos cloroplastos como grãos de amido. À noite, a sacarose é produzida a partir do amido e exportada das folhas para as outras partes da planta, onde é, por fim, usada para a síntese de outras moléculas necessárias para a planta.

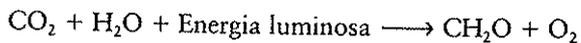
Fotossíntese: Uma Perspectiva Histórica

A importância da fotossíntese não era reconhecida até relativamente pouco tempo. Aristóteles e outros filósofos gregos, observando que os processos vitais dos animais eram dependentes dos alimentos que eles ingeriam, pensavam que as plantas retiravam todo o seu alimento do solo.

Há mais de 350 anos, em um dos primeiros experimentos biológicos cuidadosamente planejados e reportados, o médico belga Jan Baptista van Helmont (1577-1644) ofereceu a primeira evidência experimental de que o solo sozinho não nutria a planta. Ele cultivou uma pequena árvore de salgueiro em um pote de cerâmica, adicionando apenas água ao recipiente. Ao final de cinco anos, o salgueiro tinha aumentado em peso 74,4 quilogramas, enquanto o solo tinha diminuído em peso cerca de 57 gramas. Com base nesses resultados, van Helmont concluiu que todas as substâncias da planta foram produzidas a partir da água e nenhuma a partir do solo! Entretanto, as conclusões de van Helmont foram amplas demais.

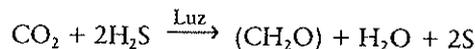
No final do século 18, o clérigo e cientista Joseph Priestley (1733-1804) relatou que tinha “acidentalmente descoberto um método para renovar o ar que tinha sido prejudicado pela queima de velas”. Em 17 de agosto de 1771, Priestley “colocou um ramo de hortelã (vivo) no ar em que uma vela de cera tinha sido queimada e verificou que, no dia 27 do mesmo mês, outra vela poderia ser queimada no mesmo ar”. “O agente restaurador que a natureza empregou para este fim”, ele afirmou, foi “a planta”. Priestley ampliou suas observações e logo mostrou que o ar “restaurado” pela planta não era, “de forma alguma, inconveniente para um rato”. Os experimentos de Priestley ofereceram a primeira explicação lógica de como o ar permanecia “puro” e capaz de manter a vida apesar da queima de incontáveis velas e da respiração de muitos animais. Quando ele foi presenteado com uma medalha por sua descoberta, em parte de seu discurso ele disse: “Por estas descobertas asseguramos que nenhum vegetal cresce em vão... mas limpa e purifica nossa atmosfera.” Hoje explicaríamos os experimentos de Priestley simplesmente dizendo que as plantas absorvem o CO₂ produzido pela combustão ou exalado por animais e que os animais inalam o O₂ liberado pelas plantas.

Logo após, o médico holandês Jan Ingenhousz (1730-1799) confirmou o trabalho de Priestley e mostrou que o ar era “restaurado” somente na presença da luz solar e apenas pelas partes verdes das plantas. Em 1796, Ingenhousz sugeriu que o dióxido de carbono seria quebrado na fotossíntese produzindo carbono e oxigênio, e o oxigênio seria liberado como gás. Posteriormente, foi descoberto que a proporção de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio nos açúcares e no amido era de cerca de um átomo de carbono por molécula de água (CH₂O), como a palavra “carboidrato” indica. Assim, na reação geral para a fotossíntese,

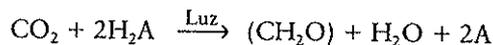


foi assumido que o carboidrato é proveniente de uma combinação de moléculas de água e átomos de carbono do dióxido de carbono, e que o oxigênio era liberado do dióxido de carbono. Essa hipótese, bastante razoável, era amplamente aceita; mas foi derrubada posteriormente por estar bastante errada.

O pesquisador que colocou em dúvida essa teoria aceita por muito tempo foi C. B. van Niel, da Universidade de Stanford. Na época ele era um estudante de graduação e estava investigando as atividades de diferentes tipos de bactérias fotossintetizantes (Figura 7.2). Um grupo em particular dessas bactérias — as bactérias purpúreas sulfurosas — reduz carbono a carboidratos durante a fotossíntese, mas não libera oxigênio. As bactérias purpúreas sulfurosas requerem sulfeto de hidrogênio para a sua atividade fotossintética. Ao longo do processo fotossintético, glóbulos de enxofre se acumulam dentro das células bacterianas (Figura 7.2). Van Niel verificou que a seguinte reação ocorre durante a fotossíntese dessas bactérias:

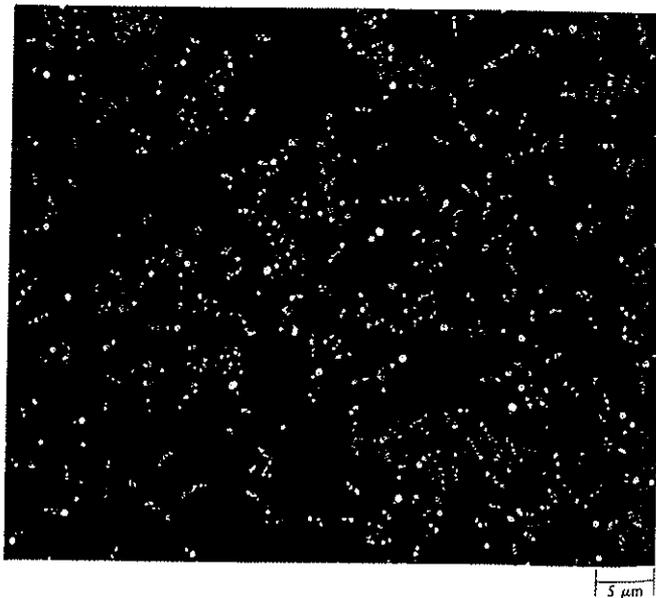


Essa descoberta foi simples e não atraiu muita atenção até que van Niel fez uma audaciosa extrapolação. Ele propôs a seguinte equação generalizada para a fotossíntese:



Nessa equação, H₂A representa uma substância oxidável, como o sulfeto de hidrogênio ou o hidrogênio livre. Em algas e plantas verdes, entretanto, H₂A é água (Figura 7.3). Em resumo, van Niel propôs que água, e não o dióxido de carbono, era a fonte do oxigênio na fotossíntese.

Em 1937, Robin Hill mostrou que cloroplastos isolados eram capazes de produzir O₂ na ausência de CO₂, quando expostos à luz. Essa liberação de O₂ promovida pela luz na ausência de CO₂ — chamada de reação de Hill — ocorreu



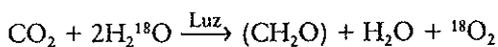
7.2 Bactérias purpúreas sulfurosas Essas bactérias reduzem o carbono a carboidratos durante a fotossíntese, mas não liberam oxigênio. Nessas células, o sulfeto de hidrogênio (H₂S) tem a mesma função da água nos processos fotossintéticos das plantas. O sulfeto de hidrogênio é quebrado e o enxofre liberado é acumulado em glóbulos que são visualizados dentro dessas células.



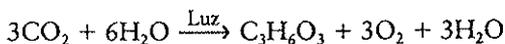
7.3 Produção de oxigênio durante a fotossíntese Sobre as folhas *Elodea* são vistas bolhas de oxigênio, um dos produtos da fotossíntese. Van Niel foi o primeiro a propor que o oxigênio produzido na fotossíntese vem da quebra da molécula de água em vez da quebra do dióxido de carbono.

apenas quando os cloroplastos foram iluminados e supridos com um receptor artificial de elétrons. Essa descoberta deu suporte à proposta de van Niel feita seis anos antes.

Mais evidências convincentes de que o O_2 liberado na fotossíntese é derivado da H_2O veio em 1941, quando Samuel Ruben e Martin Kamen usaram um isótopo pesado de oxigênio ($^{18}O_2$) para rastrear a liberação do oxigênio da água como oxigênio gasoso:



Portanto, no caso das algas e das plantas verdes, em que a água serve como um doador de elétrons, a equação completa e balanceada para a fotossíntese pode ser escrita da seguinte forma:



Embora a glicose seja normalmente representada como o carboidrato produzido na fotossíntese em equações mais simplificadas, na realidade pouca glicose é formada nas células fotossintetizantes. Os primeiros carboidratos produzidos são trioses (açúcares de três carbonos), com a fórmula $C_3H_6O_3$.

Como apontado acima, Ingenhousz foi o primeiro a deduzir que a luz era necessária para o processo que agora é chamado de fotossíntese. Atualmente se sabe que a fotossíntese ocorre em duas etapas e que apenas uma delas de fato requer luz. As evidências para esse processo em duas etapas foram apresentadas em 1905 pelo fisiologista vegetal inglês F. F. Blackman, como resultado de experimentos em que ele mediu os efeitos individuais e combinados das mudanças na

intensidade luminosa e da temperatura sobre a taxa fotossintética. Esses experimentos mostraram que a fotossíntese possui uma etapa dependente de luz e uma etapa independente de luz.

Nos experimentos de Blackman, as taxas das reações independentes da luz aumentavam em relação ao aumento da temperatura, mas apenas até cerca de $30^\circ C$; após isso as taxas começavam a declinar. A partir dessa evidência foi concluído que essas reações eram controladas por enzimas, uma vez que esse tipo de resposta à temperatura é típico de reações catalisadas por enzimas (ver Figura 5.10). Essa conclusão tem se mostrado correta.

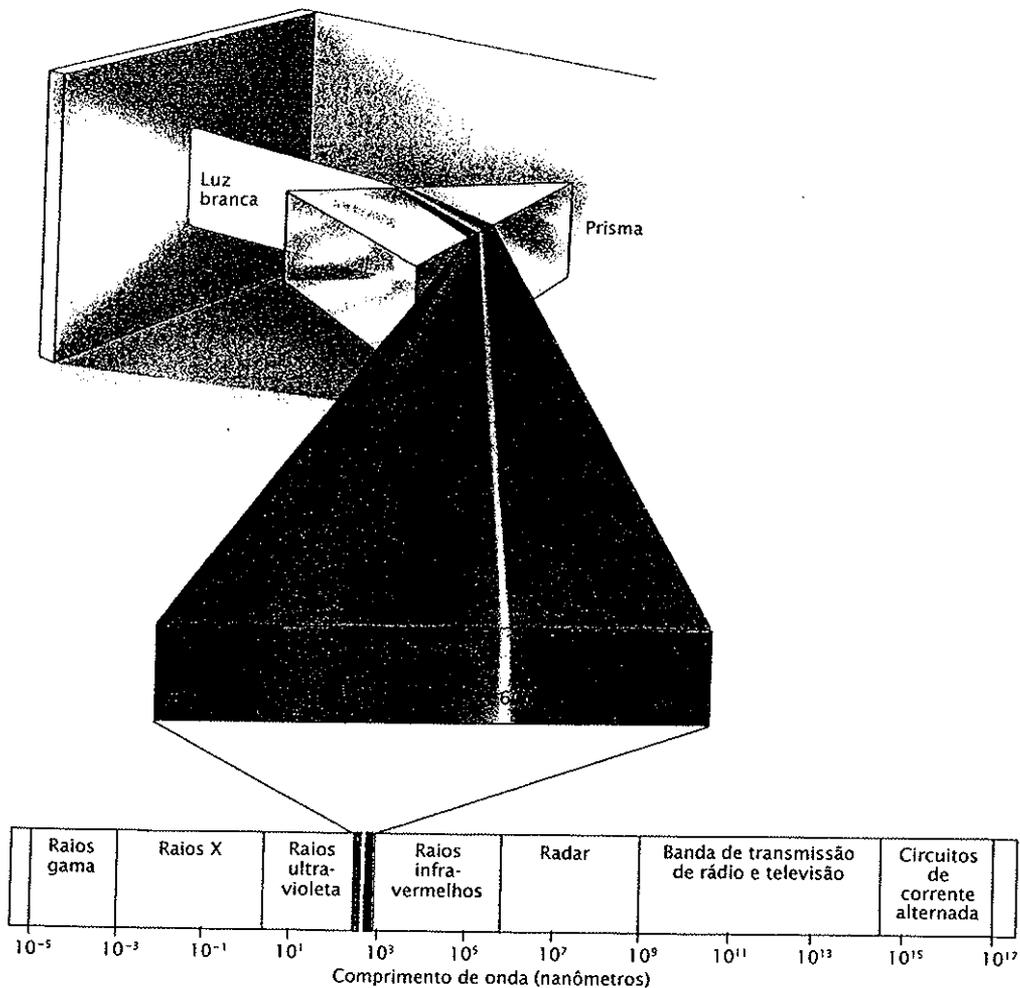
A Natureza da Luz

Há cerca de 300 anos, o físico inglês *Sir Isaac Newton* (1642-1727) separou a luz em um espectro de cores visíveis ao passá-la através de um prisma. Assim, Newton mostrou que a luz branca de fato consistia em um conjunto de cores diferentes, variando do violeta em uma extremidade do espectro até o vermelho na outra. A separação de cores é possível porque a luz de diferentes cores é desviada (refratada) em diferentes ângulos quando passa através de um prisma.

No século 19, o físico britânico James Clerk Maxwell (1831-1879) demonstrou que a luz é uma pequena parte de um espectro de radiação, amplo e contínuo, o espectro eletromagnético (Figura 7.4). Todas as radiações nesse espectro movem-se por ondas. O comprimento de onda — isto é, a distância entre a crista de uma onda e a próxima — varia desde os raios gama, que são medidos em frações de nanômetro (1 nanômetro = 10^{-9} metro), até as ondas de rádio de baixa frequência, que são medidas em quilômetros (1 quilômetro = 10^3 metros). A radiação de cada comprimento de onda específico tem uma quantidade característica de energia associada a ele. Quanto menor o comprimento de onda, maior a energia associada; contrariamente, quanto maior o comprimento de onda, menor a energia. Dentro do espectro de luz visível, o violeta tem o comprimento de onda mais curto e o vermelho, o mais longo. Os comprimentos de onda da luz violeta, que são os mais curtos, têm quase o dobro de energia que os comprimentos de onda da luz vermelha, os mais longos.

A Luz Tem Propriedades de Onda e de Partícula

Por volta de 1900, tornou-se claro que o modelo de onda da luz não era adequado. A observação chave, por sinal muito simples, foi feita em 1888: quando uma placa de zinco é exposta à luz ultravioleta, ela adquire uma carga positiva. O metal torna-se positivamente carregado porque a energia luminosa desloca os elétrons dos átomos do metal. Posteriormente, foi descoberto que esse efeito fotoelétrico, como é conhecido, pode ser produzido em todos os metais. Cada metal tem um comprimento de onda máximo e crítico para o efeito, ou seja, a luz ou outra radiação deve ter este comprimento específico ou mais curto (isto é, mais energético), para o efeito fotoelétrico ocorrer.



7.4 O espectro eletromagnético A luz branca é de fato uma mistura de luzes de diferentes cores. Quando é passada através de um prisma, ela é separada em seus componentes — “o celebrado fenômeno de cores”, como Newton se referia a ele. A luz visível é apenas uma pequena porção de um amplo espectro eletromagnético, que varia de 10^{-5} a 10^{17} nanômetros. Para o olho humano, as radiações visíveis variam da luz violeta, na qual o comprimento de onda mais curto mede cerca de 380 nanômetros, até a luz vermelha, na qual o comprimento de onda mais longo mede cerca de 750 nanômetros.

Em alguns metais, como o sódio, o potássio e o selênio, o comprimento de onda crítico está dentro do espectro de luz visível e, como consequência, a luz visível incidindo sobre o metal pode gerar uma corrente de elétrons em movimento (uma corrente elétrica). Os fotômetros, as câmeras de televisão e as células fotoelétricas que abrem as portas em supermercados e aeroportos operam baseados nesse princípio de transformação de energia luminosa em energia elétrica.

Então, qual é o problema com o modelo de onda da luz? Simplesmente, o seguinte: o modelo de onda prediz que quanto mais brilhante a luz — isto é, quanto mais forte ou mais intenso o feixe de luz — maior será a força com a qual os elétrons irão ser arrancados do metal. Entretanto, se a luz pode ou não retirar elétrons de um metal em particular depende apenas do comprimento de onda da luz e não de sua intensidade. Um feixe de luz muito fraco de um comprimento de onda crítico é efetivo, en-

quanto um feixe mais forte (mais intenso) de um comprimento mais longo não o é. Além disso, aumentando-se a intensidade da luz aumenta-se o número de elétrons arrancados, mas não a velocidade com que eles são retirados do metal. Para aumentar a velocidade, deve-se usar uma luz com um comprimento de onda mais curto. Isto nem é necessário para que a energia se acumule no metal, pois mesmo com um tênue feixe do comprimento de onda crítico, um elétron pode ser emitido, assim que o feixe atinge o metal.

Para explicar este fenômeno, o modelo de partícula da luz foi proposto por Albert Einstein, em 1905. De acordo com esse modelo, a luz é composta de partículas de energia chamadas de fótons ou *quanta* de luz. A energia de um fóton (um *quantum* de luz) é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda — quanto mais longo o comprimento de onda, menor a energia. Por exemplo, fótons de luz violeta têm quase o

da energia dos fótons da luz vermelha, a qual apresenta o comprimento de onda mais longo da luz visível. O modelo de onda da luz permite aos físicos descrever matematicamente certos aspectos do comportamento da luz, enquanto o modelo de fótons permite outro conjunto de cálculos e previsões matemáticas. Esses dois modelos não são mais vistos como antagônicos, mas sim como complementares, no sentido em que ambos são necessários para uma completa descrição do fenômeno conhecido como luz.

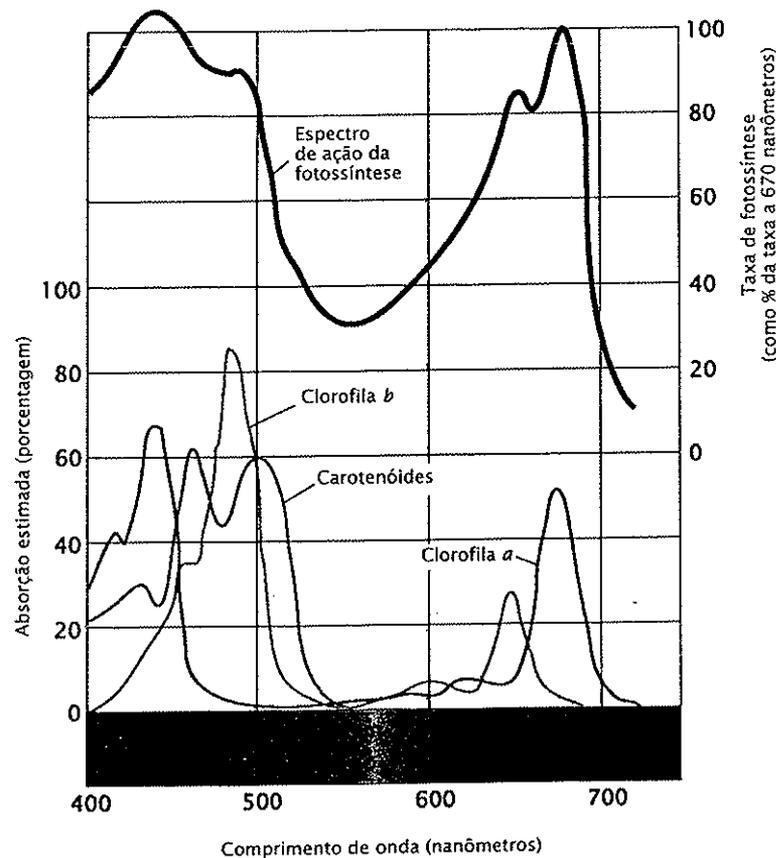
A Função dos Pigmentos

Para a energia luminosa ser utilizada por seres vivos ela deve ser primeiramente absorvida. Uma substância que absorve luz é conhecida como pigmento. Alguns pigmentos absorvem todos os comprimentos de onda da luz e parecem, assim, como de cor preta. Entretanto, a maioria dos pigmentos absorve apenas certos comprimentos de onda e transmite ou reflete os comprimentos que eles não absorvem. O padrão de absorção da luz por um

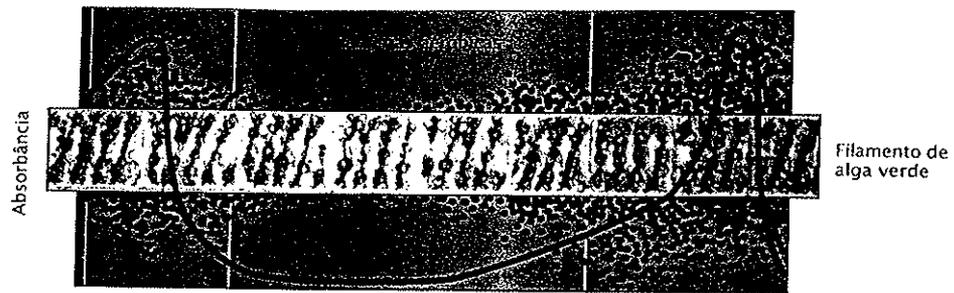
pigmento é conhecido como o espectro de absorção daquela substância. A clorofila, o pigmento que torna as folhas de cor verde, absorve a luz principalmente nos comprimentos de onda do violeta e azul, e também do vermelho. Por causa disso, a clorofila reflete principalmente a luz verde e, por isso, as plantas clorofiladas mostram-se verdes.

Um espectro de ação demonstra a eficiência relativa dos diferentes comprimentos de onda da luz para um processo específico que necessita de luz, tal como a fotossíntese ou a floração. As similaridades entre o espectro de absorção de um pigmento e o espectro de ação de um processo dependente de luz fornecem evidências de que o pigmento é responsável por este processo em particular (Figura 7.5). Uma evidência de que a clorofila é o principal pigmento envolvido na fotossíntese é a similaridade entre o seu espectro de absorção e o espectro de ação para a fotossíntese (Figura 7.6).

Quando moléculas de clorofila (ou moléculas de outro pigmento) absorvem luz, os elétrons são temporariamente impulsionados a um nível energético maior, chamado de estado excitado. À medida que os elétrons retornam para seu esta-



7.5 Comparação dos espectros de ação e de absorção O espectro de ação para a fotossíntese (curva de cima) e os espectros de absorção para a clorofila a, clorofila b e carotenóides (curvas de baixo) no cloroplasto de uma planta. Note a relação entre o espectro de ação da fotossíntese e os espectros de absorção dos pigmentos mencionados, os quais absorvem luz nos comprimentos de onda usados na fotossíntese.



7.6 Correlacionando os espectros de ação e de absorção Resultados de um experimento realizado em 1882 por T. W. Engelmann revelaram o espectro de ação da fotossíntese na alga filamentosa *Spirogyra*. Assim como os pesquisadores que trabalham até hoje em dia, Engelmann usou a taxa de produção de oxigênio para medir a taxa da fotossíntese. Diferentemente de seus sucessores, entretanto, ele não possuía equipamentos eletrônicos sensíveis para detectar o oxigênio. Como indicador de oxigênio, ele escolheu bactérias móveis que são atraídas por oxigênio. Ele substituiu o espelho e o diafragma, normalmente usados para iluminar objetos observados sob microscópio, por um "aparato microespectral", que, como seu nome implica, projeta um minúsculo espectro de cores sobre a lâmina em exame sob microscópio. Então, ele dispôs um filamento de células de alga paralelamente à distribuição do espectro. As bactérias atraídas pelo oxigênio agruparam-se principalmente nas áreas onde o comprimento de onda do violeta e do vermelho incidiam sobre o filamento de algas. Como se pode observar, o espectro de ação para a fotossíntese ocorreu paralelamente ao espectro de absorção da clorofila (como indicado pela linha preta mais espessada). Engelmann concluiu que a fotossíntese depende da luz absorvida pela clorofila. Este é um exemplo de experimento que cientistas referem como "elegante", não apenas brilhante, mas também simples em termos de projeto e conclusivo nos seus resultados.

do de energia mais baixo ou estado basal, a energia liberada tem três possíveis caminhos. A primeira possibilidade é a de que a energia seja convertida em calor, total ou parcialmente ou, principalmente, liberada em uma forma de fóton de menor energia conhecida como fluorescência. O comprimento de onda da luz emitida é levemente mais longo (e de menor energia) que o da luz absorvida porque uma porção da energia de excitação é convertida em calor, antes que o fóton menos energético, ou a fluorescência, seja emitido. A segunda possibilidade é a de que a energia — mas não o elétron — possa ser transferida da molécula de clorofila excitada para uma molécula de clorofila vizinha, excitando esta segunda molécula e permitindo que a primeira retorne para o estado basal. Esse processo é conhecido como transferência de energia por ressonância, que pode ser repetida para uma terceira, uma quarta ou para mais moléculas de clorofila. A terceira possibilidade é a de que o próprio elétron com alta energia possa ser transferido para uma molécula vizinha (um receptor de elétron), a qual faz parte de uma cadeia transportadora de elétrons, deixando um "buraco de elétron" na molécula de clorofila excitada. Essa possibilidade resulta na oxidação da molécula de clorofila e na redução de um receptor de elétrons.

Durante o processo de fotossíntese, em cloroplastos intactos, a segunda e a terceira possibilidades — conhecidas como a transferência de energia de uma clorofila excitada para uma clorofila vizinha e a transferência de um elétron de alta energia para um receptor de elétrons vizinho — são eventos liberadores de energia úteis, enquanto a reação que resulta em fluorescência não é uma reação produtiva.

Como foi visto no Capítulo 3, em células eucarióticas a fotossíntese ocorre no cloroplasto e a estrutura dessa organela desempenha um papel chave nessas transferências de energia (Figuras 7.1 e 7.7). As próprias moléculas de clorofila, em associação com proteínas hidrofóbicas, estão inseridas nos tilacóides dos cloroplastos.

Os Principais Pigmentos Fotossintetizantes São as Clorofilas, os Carotenóides e as Ficobilinas

Há vários tipos de moléculas de clorofila, que diferem umas das outras nos detalhes de suas estruturas moleculares e em suas propriedades específicas de absorção. A clorofila *a* está presente em todos os eucariotos fotossintetizantes e nas cianobactérias. Assim, não é surpreendente que a clorofila *a* seja essencial para a geração de oxigênio na fotossíntese realizada por organismos desses grupos (Figura 7.8).

As plantas, as algas verdes e as algas euglenóides também contêm o pigmento clorofila *b*, que tem um espectro de absorção levemente diferente do da clorofila *a*. A clorofila *b* é um pigmento acessório — um pigmento que não está diretamente envolvido nos processos fotossintéticos, mas serve para ampliar a faixa de luz que pode ser utilizada na fotossíntese (Figura 7.5). Quando uma molécula de clorofila *b* absorve luz, a energia é transferida para uma molécula de clorofila *a*, que então a transforma em energia química ao longo do processo fotossintético. Nas folhas da maioria das plantas verdes, a clorofila *a* geralmente constitui cerca de três quartos (3/4) do conteúdo total de clorofila e a clorofila *b* corresponde ao restante.

A clorofila *c* substitui a clorofila *b* em alguns grupos de algas, mais especificamente em algas pardas e diatomáceas (Capítulo 15). As bactérias fotossintetizantes (além das cianobactérias) contêm bacterioclorofila, que é encontrada nas

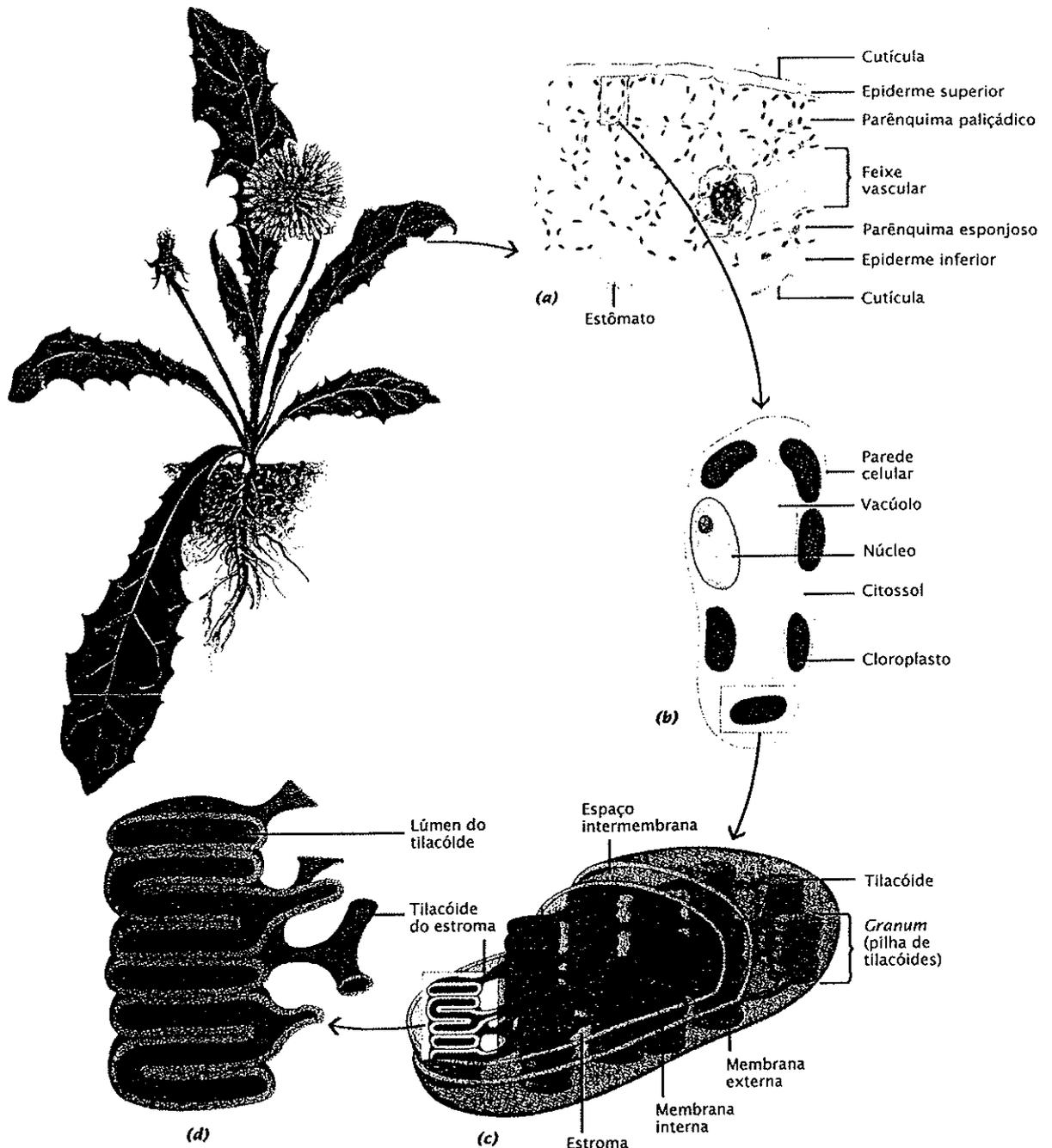
gelman
hoje em
retanto
; móveis
dos sob
nina em
itraidos
amento
lorofila
la. Este
projeto

icas a
ia or-
ncias
e clo-
io in-

imas
e em
está
nas
fila
tese

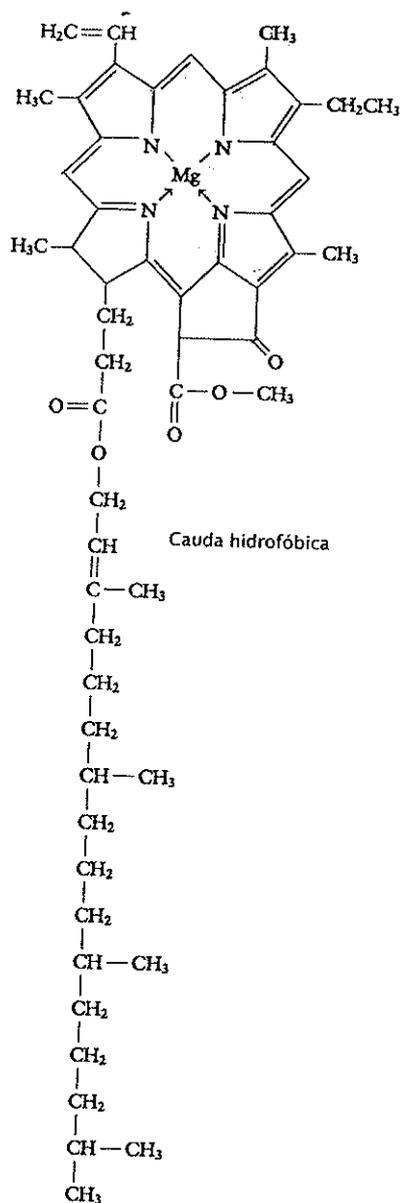
am-
tro
:lo-
ão
os,
ili-
la
na
er-
io-
n-
al

de
as
as
as



7.7 Um percurso no interior da folha A planta conhecida como dente-de-leão (*Taraxacum officinale*) é mostrada aqui. **(a)** Corte transversal da folha de dente-de-leão evidenciando epiderme da face superior, mesofilo ou porção interna e epiderme da face inferior. O mesofilo é especializado para a fotossíntese e consiste em células alongadas de formato colunar (parênquima paliçádico), abaixo das quais ocorrem células de formato irregular (parênquima esponjoso). Todas as células parenquimáticas contêm numerosos cloroplastos, e a maior parte da superfície destas células está em contato com o espaço intercelular (espaço aerífero). O oxigênio, o dióxido de carbono e os outros gases, incluindo o vapor de água, entram na folha através de aberturas especiais, os estômatos. Esses gases preenchem os espaços intercelulares e entram e saem das células por difusão. A água e os sais minerais absorvidos pelas raízes entram na folha pelo tecido condutor de água (xilema) dos feixes vasculares ou nervuras da folha. Os açúcares, produtos da fotossíntese, saem das folhas pelo tecido condutor de substâncias orgânicas (floema) dos feixes vasculares, indo em direção às partes da planta que não realizam a fotossíntese. **(b)** Os cloroplastos estão presentes na estreita camada de citoplasma, rico em proteína, que circunda um grande vacúolo central. **(c)** A estrutura tridimensional de um cloroplasto e **(d)** o arranjo das membranas dos tilacóides que contêm os pigmentos. Cada unidade de tilacóides discóides empilhados é chamada granum (plural grana). Os grana estão interligados por tilacóides que atravessam o estroma, conhecidos como tilacóides do estroma.

bactérias purpúreas ou clorofila *clorobium*, que ocorre nas bactérias verdes sulfurosas. Essas bactérias não podem extrair elétrons da água e, assim, não liberam oxigênio. As clorofilas *b* e *c* e os pigmentos fotossintéticos das bactérias purpúreas e das bactérias verdes sulfurosas são simplesmente variações químicas da estrutura básica mostrada na Figura 7.8.



7.8 A estrutura da clorofila a A clorofila a, pigmento essencial para a fotossíntese de todos os eucariotos fotossintetizantes e das cianobactérias, apresenta um íon de magnésio preso a um anel de porfirina contendo nitrogênio (destacado em azul). Ligada ao anel está uma longa cadeia hidrocarbônica, formando uma cauda hidrofóbica que serve para ancorar a molécula em proteínas hidrofóbicas específicas nas membranas dos tilacóides. A clorofila b difere da clorofila a por possuir um grupo $-CHO$ no lugar de um grupo $-CH_3$, indicado em cinza. A alternância entre ligações simples e duplas (conhecidas como ligações conjugadas), como as que ocorrem no anel de porfirina das clorofilas, é comum entre os pigmentos.

Os carotenóides e as ficobilinas são duas outras classes de pigmentos que estão envolvidos na captura de energia luminosa. A energia absorvida por esses pigmentos acessórios deve ser transferida para a clorofila *a*. Assim como as clorofilas *b* e *c*, esses pigmentos acessórios não podem substituir a clorofila *a* na fotossíntese.

Os carotenóides são pigmentos lipossolúveis de cor vermelha, laranja ou amarela encontrados em todos os cloroplastos e nas cianobactérias. Como as clorofilas, os pigmentos carotenóides dos cloroplastos estão associados com proteínas hidrofóbicas e inseridos nas membranas dos tilacóides. Dois grupos de carotenóides — carotenos e xantofilas — estão normalmente presentes nos cloroplastos. O beta-caroteno encontrado em plantas é a principal fonte de vitamina A necessária para os seres humanos e outros animais. Em folhas verdes, a cor dos carotenóides é geralmente mascarada pelas clorofilas, que são muito mais abundantes, mas em regiões de clima temperado, os carotenóides tornam-se visíveis quando as clorofilas são degradadas no outono. Embora os pigmentos carotenóides possam ajudar na captura de luz de diferentes comprimentos de onda, sua principal função é como antioxidante, prevenindo danos causados pelo efeito oxidativo do excesso de luz nas moléculas de clorofila. Sem os carotenóides, não haveria fotossíntese na presença de oxigênio.

A terceira classe de pigmentos acessórios, as ficobilinas, é encontrada em cianobactérias e nos cloroplastos de algas vermelhas. Diferentemente dos carotenóides, as ficobilinas são solúveis em água.

As Reações da Fotossíntese

As várias reações que ocorrem durante a fotossíntese são divididas em dois principais processos: as reações de transformação de energia (reações de transformação de um tipo de energia em outro), ou reações luminosas, e as reações de fixação de carbono.

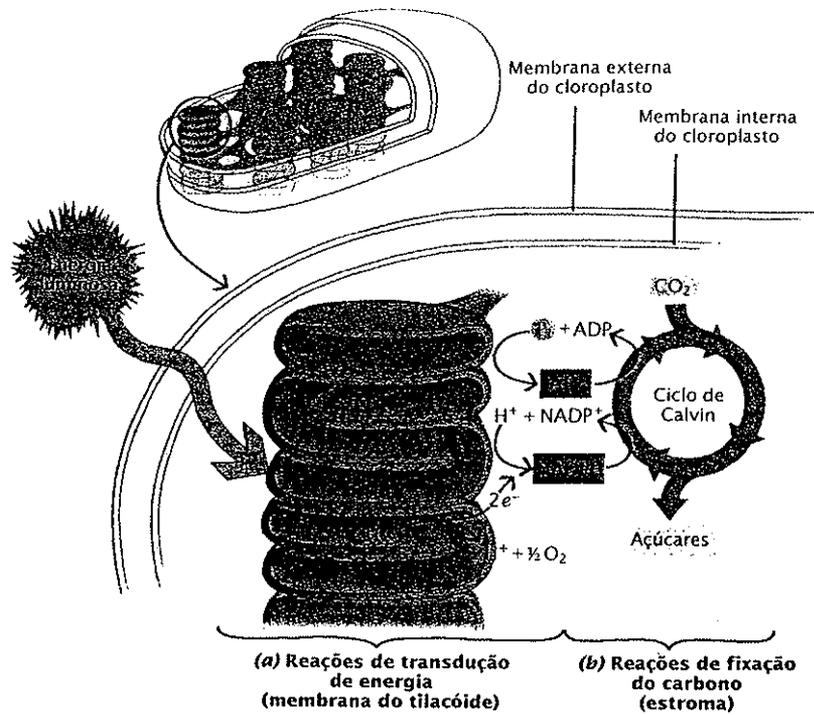
Nas reações luminosas, a energia luminosa é usada para formar ATP a partir do ADP e fosfato inorgânico e reduzir moléculas transportadoras de elétrons, principalmente a coenzima NADP⁺. O NADP⁺ é similar em estrutura ao NAD⁺ (ver Figura 5.8) — ele possui um fosfato extra em uma das riboses — mas sua função biológica é diferente. Sua forma reduzida, o NADPH, é usada pelas células para fornecer energia para as vias de biossíntese. O NADH, como foi visto no Capítulo 6, transfere seus elétrons para a cadeia transportadora de elétrons. Ao lado disso, as moléculas de água são clivadas, O₂ é formado e os elétrons liberados são usados para reduzir o NADP⁺ a NADPH (Figura 7.9).

Durante as reações de fixação do carbono, a energia do ATP é usada para ligar covalentemente o dióxido de carbono a uma molécula orgânica, e o poder redutor do NADPH é então usado para reduzir os novos átomos de carbono fixados a um açúcar simples. No processo, a energia química proveniente do ATP e do NADPH é usada para sintetizar moléculas de carboidrato apropriadas para o transporte (sacarose) ou usadas como reserva (amido). Ao mesmo tem-

as classes
de energia
podem

cor-ver-
dos os
ilhas, os
ociados
branas
oteno
s nos
tas é a
seres
or dos
s, que
tem-
s clo-
entos
eren-
como
oxi-
Sem
a de

nas,
lgas
inas



7.9 Visão geral da fotossíntese A fotossíntese ocorre em duas etapas: as reações de transdução de energia e as reações de fixação do carbono. **(a)** Nas reações de transdução de energia, a energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila a na membrana do tilacóide é utilizada indiretamente para movimentar a síntese de ATP. Simultaneamente, no interior do tilacóide, a água é quebrada em oxigênio gasoso e átomos de hidrogênio (elétrons e prótons). Os elétrons são, ao final, recebidos pelo NADP^+ e H^+ , produzindo NADPH. **(b)** Nas reações de fixação do carbono, que ocorrem no estroma do cloroplasto, os açúcares são sintetizados a partir do dióxido de carbono e do hidrogênio carregado pelo NADPH. Esse processo é energizado pelo ATP e pelo NADPH produzidos nas reações de transdução de energia. Como devemos notar, isso envolve uma série de reações, conhecidas como o ciclo de Calvin, que se repetem muitas vezes.

A Adequação da Luz

A luz, como Maxwell mostrou, é apenas uma estreita faixa ou banda no espectro eletromagnético contínuo. A diferença entre luz e escuro — tão notável aos olhos humanos — é, do ponto de vista dos físicos, uma diferença de apenas uns poucos nanômetros no comprimento de onda ou, em outras palavras, uma pequena quantidade de energia. Por que essa pequena porção do espectro é responsável pela visão, pelo fototropismo (o movimento de um organismo em direção à luz), pelo fotoperiodismo (respostas biológicas que ocorrem em um organismo com a mudança do comprimento do dia e da noite, em decorrência das estações do ano) e pela fotossíntese, da qual toda a vida depende? É uma estranha coincidência que todas estas atividades biológicas dependam desses mesmos comprimentos de onda?

George Wald, da Universidade de Harvard, argumentou que a relação entre luz e vida não era uma coincidência. Ele concluiu que se a vida evoluísse em qualquer outro lugar no universo, ela provavelmente

seria dependente da mesma pequena faixa do espectro como a vida no planeta Terra. Wald baseou sua conjectura sobre dois pontos. Primeiro, os seres vivos são compostos por moléculas grandes e complexas, mantidas em configurações especiais e relacionadas umas com as outras por pontes de hidrogênio e outras ligações fracas. As radiações de energia levemente maiores (comprimentos de onda mais curtos) que a energia da luz violeta quebram estas ligações e, assim, desorganizam a estrutura e a função das moléculas. As moléculas de DNA, por exemplo, são particularmente vulneráveis a tais efeitos destrutivos. As radiações com comprimento de onda menor que 200 nanômetros — isto é, com energia ainda maior — retiram os elétrons dos átomos para criar íons; essas radiações são chamadas de radiações ionizantes. Por outro lado, as radiações com comprimentos de onda maiores que o da faixa da luz visível — isto é, com menos energia que a luz vermelha — são absorvidas pela água, que compõe a maior parte de todas as coisas vivas sobre a Terra.

Quando tal radiação é absorvida por moléculas orgânicas, faz com que o movimento destas moléculas aumente (aumento de calor), porém não leva a mudanças em suas configurações eletrônicas. Apenas as radiações dentro da faixa da luz visível têm a propriedade de excitar moléculas — isto é, de mover elétrons para um nível energético maior — e de produzir mudanças químicas e, por fim, biológicas.

A segunda razão pela qual a banda da luz visível do espectro eletromagnético foi "escolhida" pelos seres vivos é simplesmente porque era o que estava disponível. A maior parte da radiação solar atingindo a superfície da Terra está dentro dessa faixa. A maioria dos comprimentos de onda de alta energia é absorvida pelo oxigênio e pelo ozônio na atmosfera. A maior parte da radiação infravermelha é eliminada pelo vapor d'água e dióxido de carbono antes de atingir a superfície da Terra.

Este é um exemplo do que tem sido denominado "a adequação do meio ambiente". A adequação do ambiente para a vida e a da vida para o mundo físico estão extraordinariamente inter-relacionadas. Se não fosse assim, a vida não poderia existir.

po, um esqueleto carbônico é gerado a partir do qual outras moléculas orgânicas podem ser construídas. Essa conversão de dióxido de carbono em compostos orgânicos é conhecida como fixação do carbono ou fixação do CO₂.

Dois Fotossistemas Estão Envolvidos nas Reações Luminosas

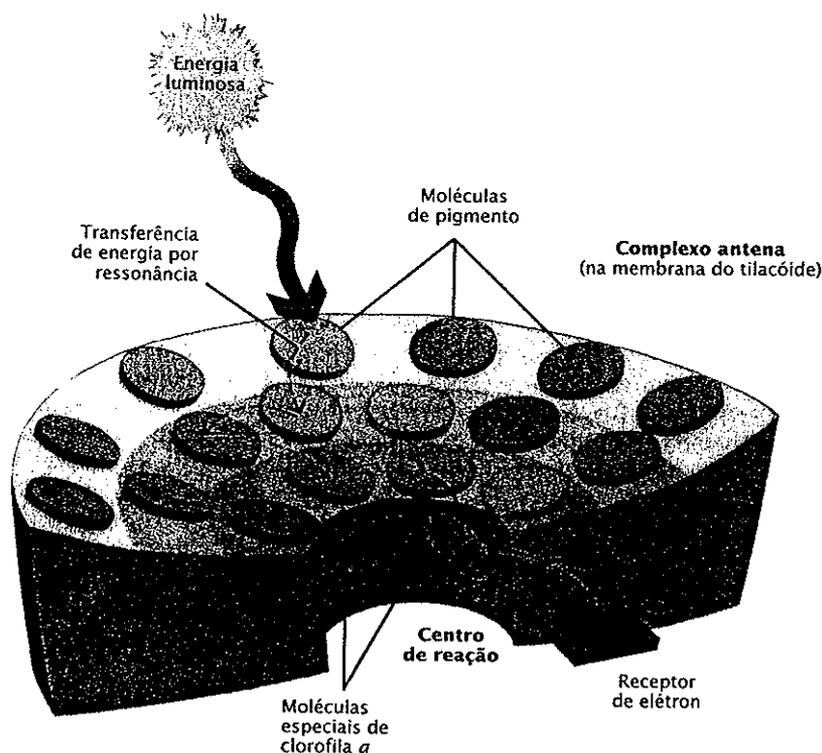
No cloroplasto (Figuras 7.1, 7.7 e 7.9), a clorofila e outras moléculas de pigmento estão inseridas nos tilacóides em unidades isoladas de organização, chamadas fotossistemas. Cada fotossistema inclui um conjunto de cerca de 250 a 400 moléculas de pigmentos e consiste em dois componentes estreitamente ligados: o complexo antena e o centro de reação. O complexo antena é constituído por moléculas de pigmento, que coletam a energia luminosa e a "afunilam" ou a canalizam para o centro de reação. O centro de reação é constituído por um complexo de proteínas e moléculas de clorofila que possibilitam a energia luminosa ser convertida em energia química. Dentro dos fotossistemas, as moléculas de clorofila estão ligadas a específicas proteínas de membrana ligadas à clorofila e mantidas no local para permitir uma eficiente captura de energia luminosa.

Todos os pigmentos dentro do fotossistema são capazes de absorver fótons, mas apenas um par especial de moléculas de clorofila *a* por fotossistema pode de fato usar

a energia na reação fotoquímica. Esse par especial de moléculas de clorofila *a* está situado no núcleo do centro de reação do fotossistema. As outras moléculas de pigmento, chamadas de pigmentos da antena por fazerem parte da rede coletora de luz, estão presentes no complexo antena. Além da clorofila, os pigmentos carotenóides, em quantidade variável, estão também presentes no complexo antena.

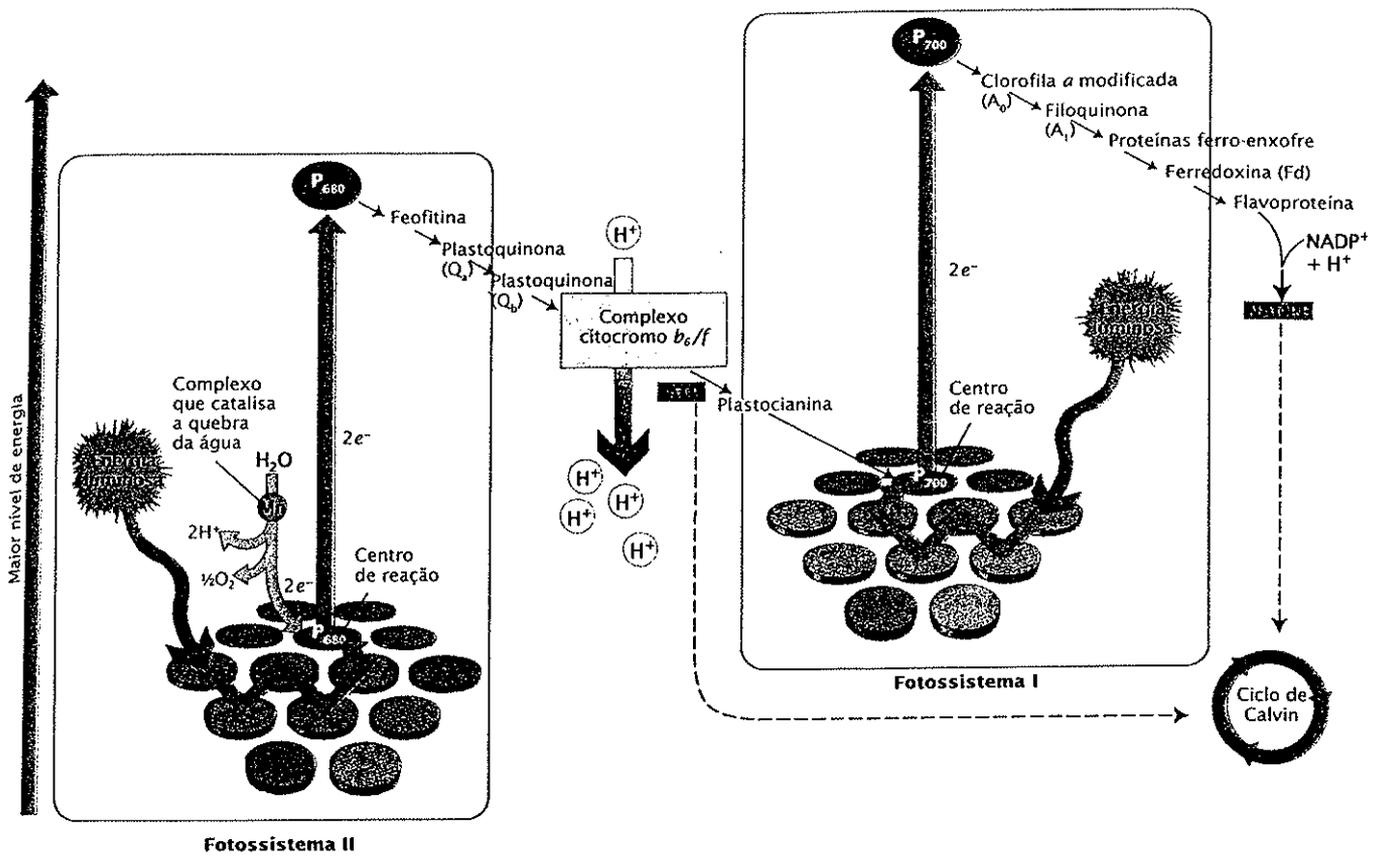
A energia luminosa absorvida por uma molécula de pigmento em qualquer lugar no complexo antena é transferida para uma outra molécula de pigmento e assim por diante, até atingir o centro de reação, que tem seu par especial de moléculas de clorofila *a* (Figura 7.10); essa passagem de energia se dá por meio do processo de transferência de energia por ressonância. Quando uma das duas moléculas de clorofila *a* do centro de reação absorve a energia, um de seus elétrons é elevado para um nível maior de energia e é transferido para uma molécula receptora de elétrons para iniciar o fluxo eletrônico. A molécula de clorofila *a* é assim oxidada e torna-se carregada positivamente.

Os dois tipos diferentes de fotossistemas, o fotossistema I e o fotossistema II, são ligados por uma cadeia transportadora de elétrons (Figura 7.11). Os fotossistemas foram numerados segundo a ordem de sua descoberta. No fotossistema I, as moléculas especiais de clorofila *a* do cen-



7.10 Transferência de energia durante a fotossíntese Parte do complexo antena, o qual está localizado na membrana do tilacóide, é mostrada aqui. A energia luminosa absorvida por uma molécula de pigmento em qualquer lugar do complexo antena passa, por transferência de energia por ressonância, de uma molécula de pigmento para outra até atingir uma das duas moléculas de clorofila especiais no centro de reação. Quando uma molécula de clorofila *a* no centro de reação absorve a energia, um de seus elétrons é elevado a um nível maior de energia e é transferido para uma molécula receptora de elétrons.

de mo-
ntro de
pigmen-
to parte
do an-
tes, em
imple-
ta de
trans-
m por
u par
; essa
trans-
a das
sorve
nível
cula
o. A
car-
tema
ans-
mas
. No
cen-



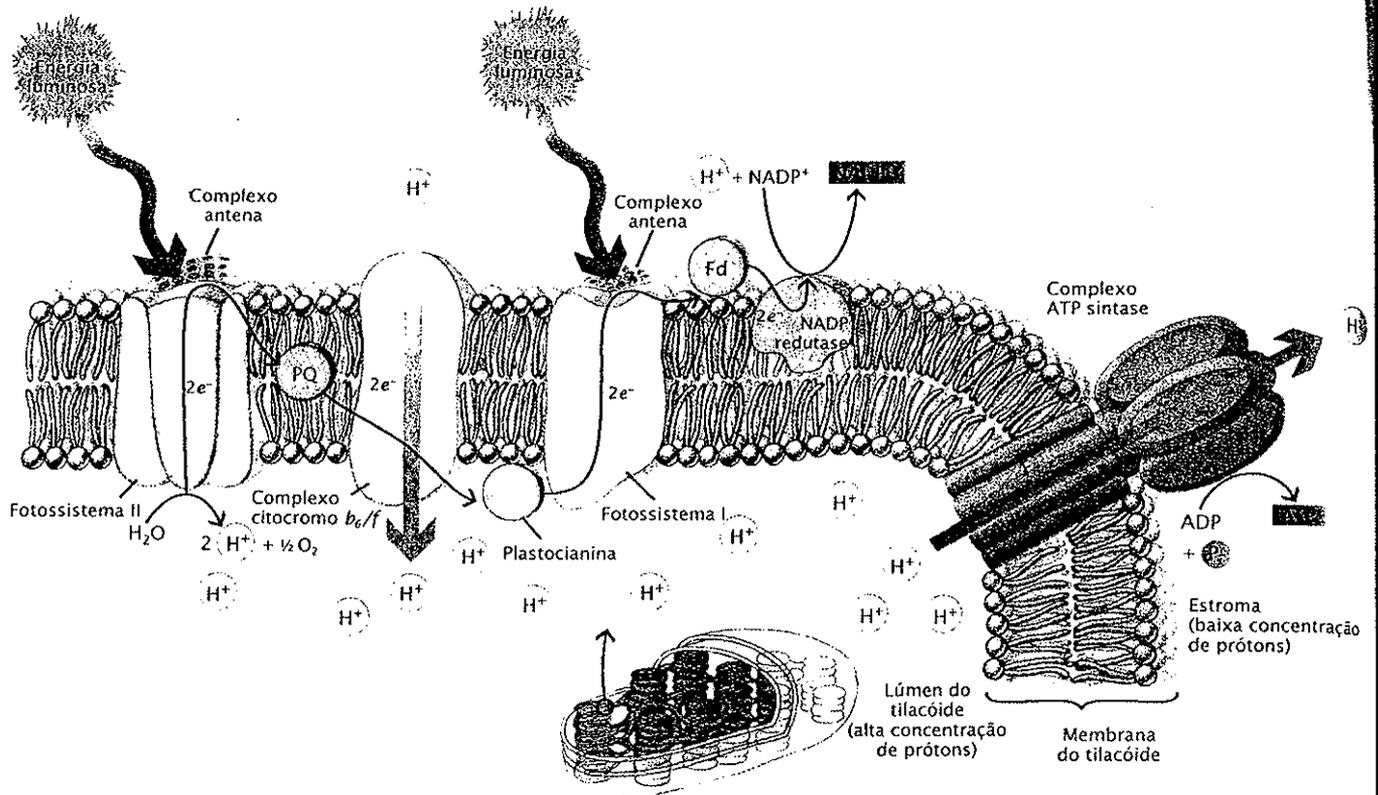
7.11 Fluxo não-cíclico de elétrons e fotofosforilação Este esquema em ziguezague (chamado de esquema Z) mostra a via de transferência de elétrons da H₂O para o NADP⁺, que ocorre durante o fluxo não-cíclico de elétrons, bem como as relações energéticas. Para aumentar a energia dos elétrons derivados da fotólise da H₂O para o nível de energia necessário para reduzir o NADP⁺ a NADPH, cada elétron deve ser energizado duas vezes (setas vermelhas espessas) pelos fótons absorvidos nos fotossistemas I e II. Depois de cada passo de excitação, os elétrons com maior energia deslocam-se para níveis de energia menor pelo esquema Z, via a cadeia transportadora de elétrons (indicada pelas setas pretas). Os prótons são bombeados através da membrana do tilacóide para dentro do lúmen do tilacóide durante a reação de quebra da água (fotólise) e durante a transferência de elétrons pelo complexo citocromo b₆/f, produzindo o gradiente de prótons que é essencial para a formação de ATP (ver Figura 7.12 para detalhes desse processo). A formação de ATP pelo fluxo não-cíclico de elétrons é chamada de fotofosforilação não-cíclica.

tro de reação são conhecidas como P₇₀₀. A letra "P" diz respeito a pigmento e o subscrito "700" designa o pico ótimo de absorção em nanômetros. O centro de reação do fotossistema II também contém uma forma especial de clorofila *a*. Seu pico ótimo de absorção é de 680 nanômetros e, portanto, é chamada de P₆₈₀.

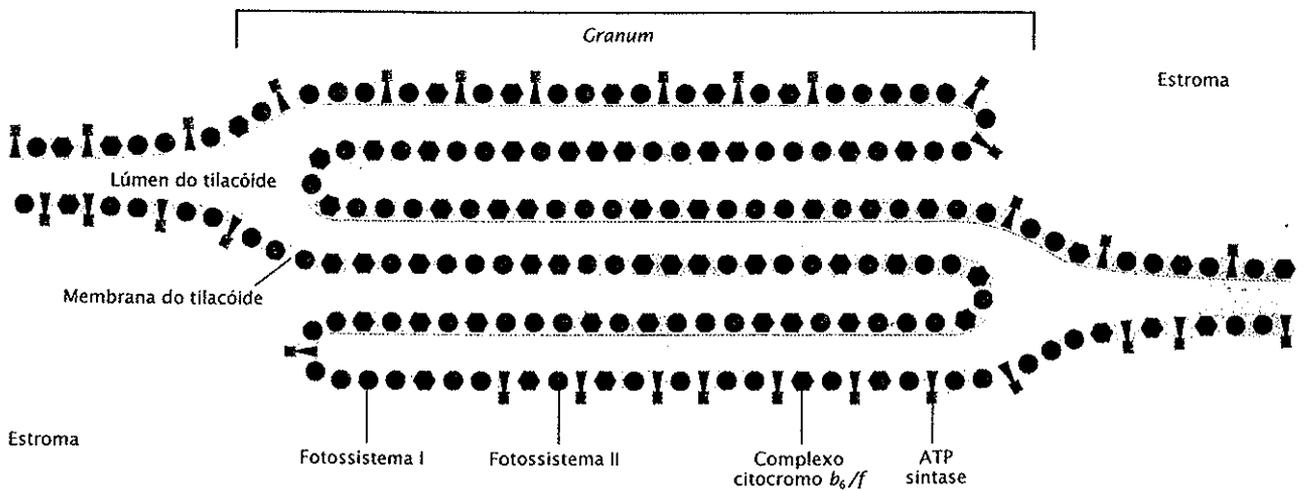
Em geral, o fotossistema I e o fotossistema II trabalham juntos, simultânea e continuamente. Embora, por conveniência, os dois fotossistemas geralmente sejam mostrados como ocorrendo mais ou menos lado a lado na mesma membrana do tilacóide, como na Figura 7.12, os fotossistemas I e II estão espacialmente separados. O fotossistema II está localizado principalmente nos tilacóides dos *grana* (grânulos), e o fotossistema I, quase inteiramente nos tilacóides do estroma e nas margens ou porções externas dos tilacóides dos *grana* (Figura 7.13). Além disso, como será visto, o fotossistema I pode operar independentemente.

Nas Reações de Luz, os Elétrons Fluem da Água para o Fotossistema II, para o Fotossistema I e para o NADP⁺

A Figura 7.11 mostra o modelo atual de como os dois fotossistemas trabalham juntos. De acordo com esse modelo, a energia luminosa incidente sobre o fotossistema II é absorvida, direta ou indiretamente, por moléculas P₆₈₀ no centro de reação via transferência de energia por ressonância a partir de uma ou mais moléculas da antena. Quando uma molécula do P₆₈₀ é excitada, seu elétron energizado é transferido para uma molécula receptora primária, que transfere seu elétron extra para uma molécula receptora secundária e assim por diante, ao longo da cadeia transportadora de elétrons. Por meio de uma reação ainda não completamente entendida, a molécula P₆₈₀, deficiente em elétrons, é capaz de substituir seus elétrons, um de cada vez, extraíndo-os das moléculas de água. Com a absorção de quatro fótons, as duas moléculas de água

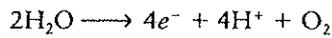


7.12 Mecanismo de ligação quimiosmótico da fotofosforilação Os elétrons movem-se da água (à esquerda, abaixo) pelo fotossistema II, seguindo pela cadeia intermediária de carregadores de elétrons, pelo fotossistema I e, finalmente, para o NADP⁺. (PQ refere-se ao conjunto de plastoquinonas, que são transportadoras de elétrons móveis e solúveis em lipídios.) Os prótons são bombeados do estroma para dentro do lúmen do tilacóide pelo fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons, entre o fotossistema II e o fotossistema I. Isso cria um gradiente eletroquímico de prótons, o qual impulsiona a síntese de ATP à medida que os prótons fluem a favor do gradiente através do complexo ATP sintase na membrana do tilacóide e entram novamente no estroma.



7.13 Organização dos fotossistemas das membranas dos tilacóides O fotossistema II está localizado principalmente nos grana dos tilacóides e o fotossistema I e o complexo ATP sintase, quase inteiramente nos tilacóides do estroma e nas partes externas dos grana. Notar que cada complexo de fotossistema consiste em um fotossistema, um complexo antena e um centro de reação. Os complexos citocromo b₆/f estão distribuídos homogeneamente ao longo das membranas. A separação espacial dos fotossistemas requer transportadores de elétrons móveis, tais como a plastoquinona e a plastocianina, para mover os elétrons entre os complexos de fotossistema, que estão separados na membrana.

são clivadas, produzindo quatro elétrons, quatro prótons e gás oxigênio:



Essa quebra oxidativa da molécula de água, dependente de luz, é chamada fotólise. O complexo enzimático que catalisa a fotólise da água está localizado no lado de dentro da membrana do tilacóide, e os prótons são liberados para dentro do lúmen do tilacóide ou espaço do tilacóide e não diretamente para o estroma do cloroplasto. Assim, a fotólise das moléculas de água contribui para a geração de um gradiente de prótons através da membrana do tilacóide — o único meio pelo qual o ATP é gerado durante a fotossíntese. O manganês é um co-fator essencial para o mecanismo de liberação de oxigênio. O cloro e o cálcio também são necessários.

Os componentes da cadeia transportadora de elétrons entre os dois fotossistemas remontam àqueles da cadeia transportadora de elétrons da respiração: quinonas, citocromos e proteínas ferro-enxofre estão envolvidos. Além disso, o transporte de elétrons da fotossíntese envolve a proteína plastocianina, a qual contém cobre e um derivado de clorofila, conhecido como feofitina, substância na qual o átomo de magnésio central foi substituído por dois átomos de hidrogênio. (A feofitina é um componente do complexo do centro de reação e dessa forma não é usualmente considerada como parte da cadeia de transporte de elétrons que liga o fotossistema I e o fotossistema II.) A cadeia transportadora de elétrons está arranjada de tal forma que a transferência de elétrons entre os transportadores de elétrons na cadeia está obrigatoriamente ligada ao bombeamento de prótons através da membrana do tilacóide (via o chamado complexo citocromo *b₆/f*), gerando o gradiente eletroquímico de prótons que é capaz de impulsionar a síntese de ATP. Os complexos ATP sintase, inseridos na membrana do tilacóide, provêm um canal através do qual os prótons podem fluir a favor do gradiente de volta para o estroma do cloroplasto. Com isto é formado um gradiente de energia potencial que impulsiona a síntese de ATP a partir do ADP e P_i . Esse processo é inteiramente análogo à síntese de ATP impulsionada por prótons na mitocôndria, mas aqui é chamado de fotofosforilação para enfatizar que a luz fornece a energia para estabelecer o gradiente de prótons. Portanto, cloroplastos e mitocôndrias geram ATP pelo mesmo mecanismo básico: acoplamento quimiosmótico (Figura 7.12).

No fotossistema I, a energia luminosa fotoexcita as moléculas da antena que passam a energia para as moléculas P_{700} do centro de reação (Figura 7.11). Quando uma molécula P_{700} é fotoexcitada, seu elétron energizado é passado para uma molécula receptora primária chamada A_0 , que se pensa ser uma clorofila especial com função similar à da feofitina do fotossistema II. Os elétrons são então passados através de uma cadeia de transportadores, incluindo filoquinona (A_1), proteínas ferro-enxofre, como a ferredoxina (Fd), e uma flavoproteína (ferredoxina-NADP⁺ redutase), para a coenzima NADP⁺. Isto

resulta na redução do NADP⁺ a NADPH e na oxidação da molécula P_{700} . Os elétrons removidos da molécula P_{700} são substituídos pelos elétrons vindos da cadeia transportadora de elétrons a partir do fotossistema II. Dois fótons devem ser absorvidos pelo fotossistema II e dois pelo fotossistema I para reduzir uma molécula de NADP⁺ a NADPH e produzir um átomo de oxigênio — meia molécula de O_2 — a partir de H_2O .

Assim, na luz, os elétrons fluem continuamente da água através dos fotossistemas II e I para o NADP⁺, resultando na oxidação da água a oxigênio (O_2) e na redução do NADP⁺ a NADPH. Esse fluxo de elétrons unidirecional da água para o NADP⁺ é chamado de fluxo não-cíclico de elétrons, e a produção de ATP que ocorre é chamada de fotofosforilação não-cíclica. Na medida em que o fotossistema II supre elétrons para o fotossistema I, para a eficiência da fotossíntese, as taxas de distribuição de fótons para os dois centros de reação devem ser iguais. Quando as condições de luz favorecem um ou outro fotossistema, a energia excessiva é redistribuída entre eles, resultando em um balanço igual de energia nos dois centros de reação.

A mudança de energia livre (ΔG) para a reação



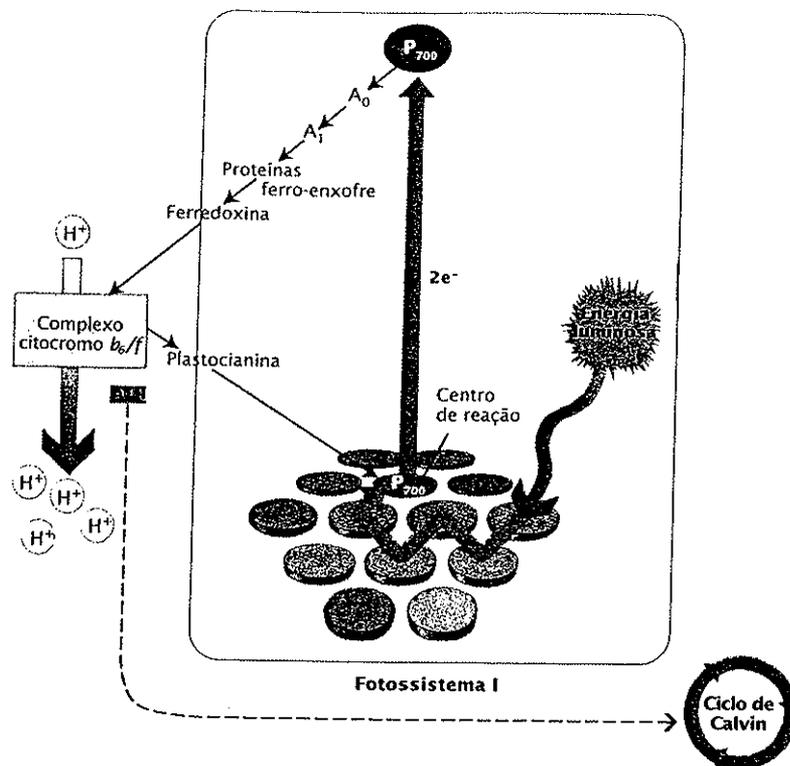
é de 51 quilocalorias por mol. A energia da luz de 700 nanômetros é cerca de 40 quilocalorias por mol de fótons. Uma vez que quatro fótons são necessários para impulsionar dois elétrons ao nível do NADPH, cerca de 160 quilocalorias estão disponíveis. Aproximadamente um terço (51/160) da energia disponível é capturada como NADPH. A energia total coletada a partir do fluxo não-cíclico de elétrons (baseada na passagem de 6 pares de elétrons da H_2O para o NADP⁺) é de 6 ATP e 6 NADPH.

A Fotofosforilação Cíclica Gera Apenas ATP

Como mencionado anteriormente, o fotossistema I pode trabalhar independentemente do fotossistema II. Nesse processo, chamado de fluxo cíclico de elétrons, os elétrons energizados são transferidos das moléculas P_{700} para o A_0 (Figura 7.14). Entretanto, os elétrons, ao invés de descerem para o NADP⁺, são desviados para um receptor da cadeia transportadora de elétrons, entre os fotossistemas I e II. Os elétrons então descem através dessa cadeia de volta para o centro de reação do fotossistema I, impulsionando o transporte de prótons através da membrana do tilacóide e assim promovendo a geração de ATP. Uma vez que esse processo envolve um fluxo cíclico de elétrons, ele é chamado fotofosforilação cíclica. Acredita-se que o mecanismo fotossintético mais primitivo trabalhava dessa forma e esse é, aparentemente, o caminho pelo qual algumas bactérias realizam fotossíntese. Os eucariotos fotossintetizantes (plantas e algas) são também capazes de sintetizar ATP pelo fluxo cíclico de elétrons. Entretanto, nenhuma molécula de água é quebrada, nenhum O_2 é liberado e nenhum NADPH é formado. O único produto é o ATP.

ntração

pelo
DP⁺.
idos
e o
na



7.14 Fluxo cíclico de elétrons O fluxo cíclico de elétrons envolve apenas o fotossistema I. O ATP é produzido a partir do ADP pelo mesmo mecanismo quimiosmótico da fotofosforilação mostrado na Figura 7.12, mas o oxigênio não é liberado e o NADP⁺ não é reduzido. A formação de ATP pelo fluxo cíclico de elétrons é chamada fotofosforilação cíclica.

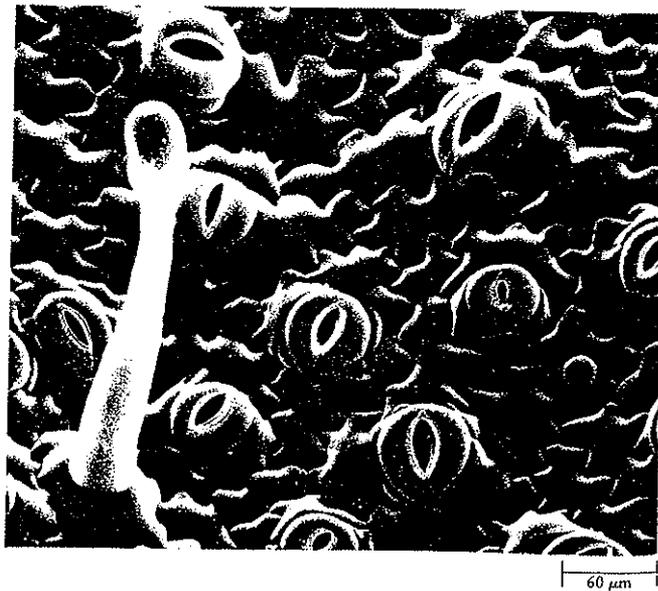
Como foi visto, a energia total capturada do fluxo não-cíclico de elétrons (baseado na passagem de 6 pares de elétrons da H₂O para o NADP⁺) é de 6 ATP e 6 NADPH. Entretanto, de fato, as reações de fixação de carbono que são encontradas habitualmente necessitam de mais ATP que NADPH — na proporção de cerca de 3:2. A fotofosforilação cíclica é necessária para suprir as necessidades do ciclo de Calvin, bem como para promover outros processos que requerem energia dentro do cloroplasto.

As Reações de Fixação do Carbono

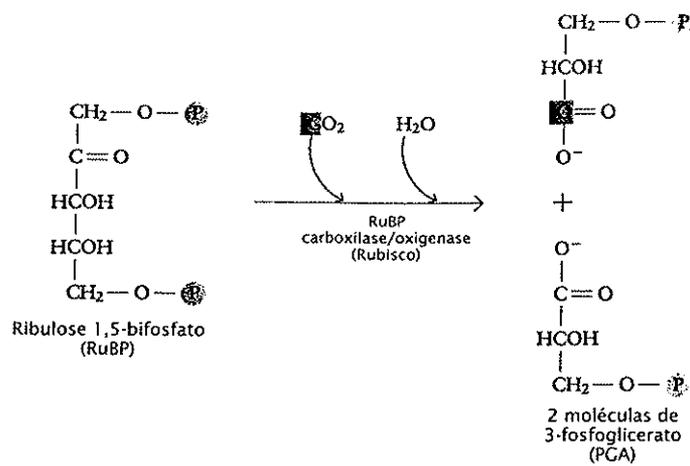
Na segunda série de reações da fotossíntese, o ATP e o NADPH gerados pelas reações luminosas são usados para fixar e reduzir o carbono e sintetizar açúcares simples. O carbono está disponível para as células fotossintetizantes na forma de dióxido de carbono. Para as algas e as cianobactérias, esse dióxido de carbono é encontrado dissolvido na água circundante. Na maioria das plantas, o dióxido de carbono atinge as células fotossintetizantes através da abertura de estruturas especiais chamadas estômatos, presentes nas folhas e caules verdes (Figura 7.15).

No Ciclo de Calvin, o CO₂ É Fixado Através da Via de Três Carbonos

Em muitas espécies de plantas, a redução do carbono ocorre exclusivamente no estroma do cloroplasto por meio de uma série de reações freqüentemente chamadas de ciclo de Calvin (de-



7.15 Estômatos na folha É mostrada aqui uma elétrono-micrografia de varredura da superfície inferior da folha de tabaco (*Nicotiana tabacum*). Uma planta pode abrir ou fechar seus estômatos segundo sua necessidade; nessa micrografia, a maioria dos estômatos está aberta. É através dos estômatos que o dióxido de carbono necessário para a fotossíntese difunde-se para o interior da folha e o oxigênio produzido difunde-se para a atmosfera. A estrutura alongada, visualizada à esquerda, é um tricoma.



7.16 A primeira etapa do ciclo de Calvin Melvin Calvin e seus colaboradores, Andrew A. Benson e James A. Bassham, submetaram algas fotossintetizantes a uma rápida exposição ao dióxido de carbono radioativo ($^{14}\text{CO}_2$) e então ferveram as células em álcool e separaram os vários compostos contendo o ^{14}C por cromatografia bidimensional em papel. Eles observaram que os vários compostos intermediários tornaram-se radioativamente marcados e deduziram que o carbono radioativo está covalentemente ligado a uma molécula de ribulose 1,5-bisfosfato (RuBP). O composto de seis carbonos resultante é imediatamente quebrado para formar duas moléculas de 3-fosfoglicerato (PGA). O átomo de carbono radioativo, indicado aqui em laranja, aparece em uma das duas moléculas de PGA.

nominada em homenagem a seu descobridor, Melvin Calvin, que recebeu o Prêmio Nobel em 1961 por seu trabalho na elucidação dessa via). O ciclo de Calvin é análogo a outros ciclos metabólicos (ver Capítulo 6), uma vez que, ao final de cada volta do ciclo, o composto inicial é regenerado. O composto inicial (e final) no ciclo de Calvin é um açúcar de cinco carbonos com dois grupos fosfato, conhecido como ribulose 1,5-bisfosfato (RuBP).

O ciclo de Calvin ocorre em três etapas. A primeira etapa começa quando o dióxido de carbono entra no ciclo e é enzimaticamente combinado ou “fixado” (covalentemente ligado) com a RuBP. O composto resultante com seis carbonos, um intermediário instável, é imediatamente hidrolisado para gerar duas moléculas de 3-fosfoglicerato ou ácido 3-fosfoglicérico (PGA) (Figura 7.16). Cada molécula de PGA — o primeiro produto detectável do ciclo de Calvin — contém três átomos de carbono. Desta forma, o ciclo de Calvin também é conhecido como a via C_3 .

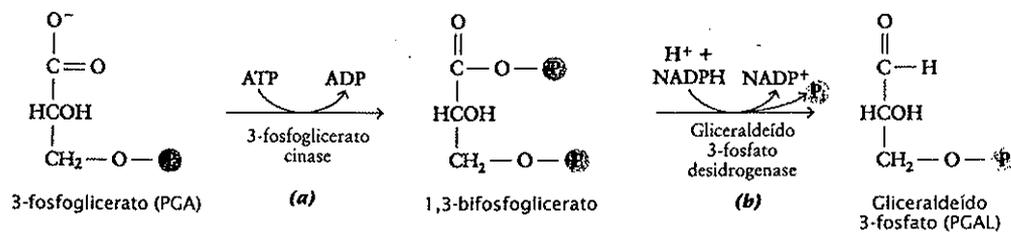
A RuBP carboxilase/oxigenase, freqüentemente chamada de Rubisco para encurtar seu nome, é a enzima que catalisa esta crucial reação inicial. (A atividade oxigenase da

enzima é discutida posteriormente neste capítulo.) Rubisco é sem dúvida a enzima mais abundante do mundo, e por algumas estimativas essa enzima deve corresponder a mais de 40% do total de proteína solúvel da maioria das folhas.

Na segunda etapa do ciclo, o 3-fosfoglicerato é reduzido a gliceraldeído 3-fosfato ou 3-fosfogliceraldeído (PGAL) (Figura 7.17). Isso ocorre em dois passos que são essencialmente o inverso dos passos correspondentes na glicólise, com uma exceção: o co-fator para a redução do 1,3-bisfosfoglicerato é o nucleotídeo NADPH e não NADH. Note que, nessa etapa, a fixação de três moléculas de CO_2 a três moléculas de ribulose 1,5-bisfosfato forma seis moléculas de gliceraldeído 3-fosfato.

Na terceira etapa do ciclo, cinco das seis moléculas de gliceraldeído 3-fosfato são usadas para regenerar três moléculas de ribulose 1,5-bisfosfato, o material inicial.

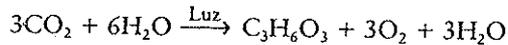
O ciclo completo está resumido na Figura 7.18. Como em cada via metabólica, cada etapa no ciclo de Calvin é catalisada por uma enzima específica. A cada volta completa do ciclo, uma molécula de dióxido de carbono entra no ciclo e é reduzida e uma molécula de RuBP é regenerada. Três voltas do



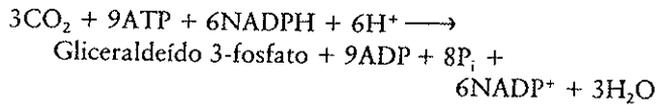
7.17 A segunda etapa do ciclo de Calvin De forma geral, a segunda etapa do ciclo de Calvin envolve a conversão do 3-fosfoglicerato (PGA) a gliceraldeído 3-fosfato (PGAL) em dois passos. (a) No primeiro passo da seqüência, a enzima 3-fosfoglicerato cinase, presente no estroma, catalisa a transferência do fosfato do ATP para o PGA, produzindo 1,3-bisfosfoglicerato. (b) No segundo passo, o NADPH doa elétrons na redução catalisada pela enzima gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase, produzindo PGAL. Além de sua função como intermediário na fixação do CO_2 , o PGAL tem outros possíveis destinos na célula vegetal. Ele pode ser oxidado pela via glicolítica para a produção de energia ou utilizado para a síntese de hexoses.

relo
ido.

ciclo, com a introdução de três átomos de carbono, são necessárias para produzir uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato, a forma fosforilada de $C_3H_6O_3$, na equação:

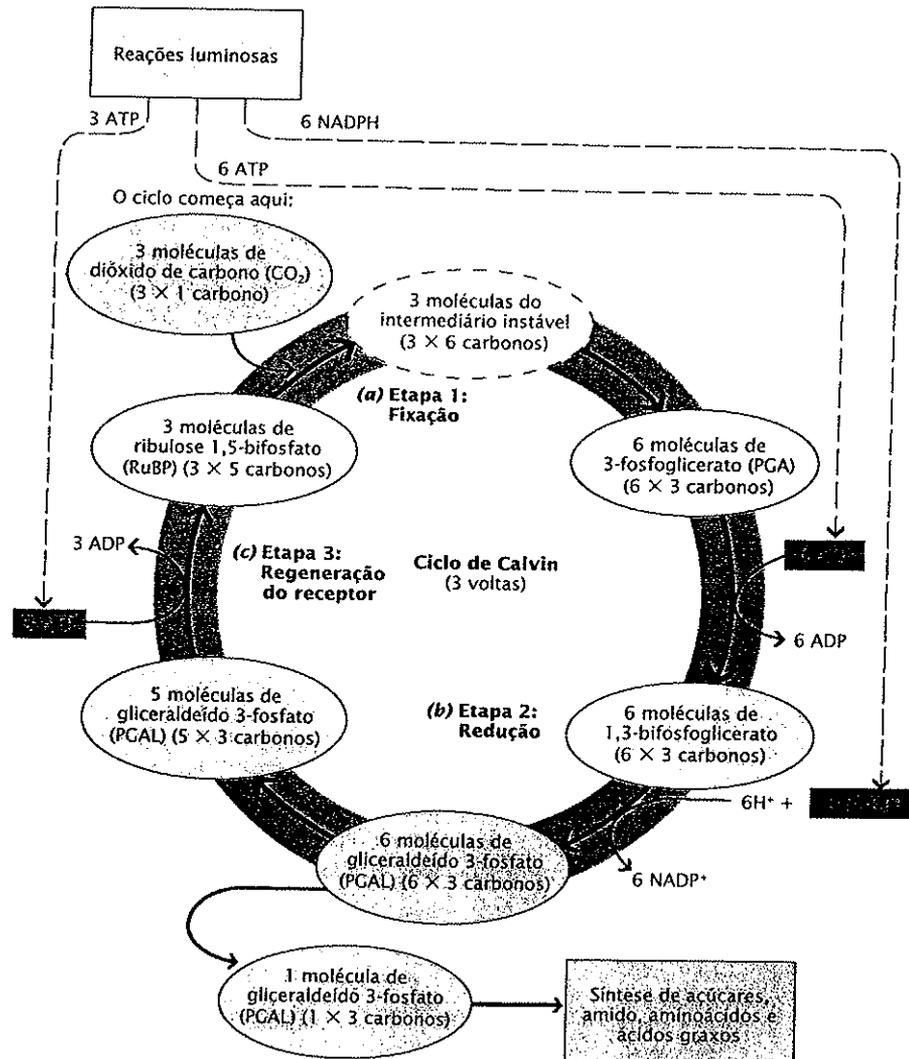


A equação geral para a produção de uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato é:



(Note novamente que o ciclo de Calvin necessita de mais ATP do que NADPH, por isso é necessário o ATP gerado pela fosforilação cíclica.)

O produto imediato do ciclo é o gliceraldeído 3-fosfato, a principal molécula transportada do cloroplasto para o citossol da célula. Essa mesma triose fosfato ("triose" significa um açúcar de três carbonos) é formada quando a molécula de frutose 1,6-bifosfato é quebrada no quarto passo da glicólise e pode ser convertida em outra triose fosfato, a diidroxiacetona fosfato. Utilizando a energia fornecida pela hidrólise das ligações fosfato, as primeiras quatro etapas da glicólise podem ser revertidas para formar glicose a partir do gliceraldeído 3-fosfato.



7.18 Resumo do ciclo de Calvin A cada volta do ciclo completada, uma molécula de dióxido de carbono (CO₂) entra no ciclo. Estão resumidas aqui três voltas do ciclo — o número necessário para produzir uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato (PGAL), que é equivalente a uma molécula de um açúcar com três carbonos. A energia que impulsiona o ciclo de Calvin é fornecida na forma de ATP e NADPH, proveniente das reações luminosas da fotossíntese. **(a) Etapa 1: Fixação.** O ciclo inicia-se no canto superior esquerdo quando três moléculas de ribulose 1,5-bifosfato (RuBP), um composto de cinco carbonos, são combinadas com três moléculas de dióxido de carbono. Essa reação produz três moléculas de um composto intermediário instável, o qual se quebra imediatamente, produzindo seis moléculas de 3-fosfoglicerato (PGA), um composto de três carbonos. **(b) Etapa 2: Redução.** As seis moléculas de PGA são reduzidas a seis moléculas de gliceraldeído 3-fosfato (PGAL). **(c) Etapa 3: Regeneração do receptor.** Seis das cinco moléculas de PGAL são combinadas e rearranjadas para formar três moléculas de cinco carbonos de RuBP. A única molécula "extra" de PGAL representa o ganho líquido do ciclo de Calvin. O PGAL serve como o ponto de início para a síntese de açúcares, amido e outros componentes celulares.

ais ATP do pela sfato, a itossol m açú- rutose e pode fosfa- ções everti- sfato.

A Maioria do Carbono Fixado É Convertido em Sacarose ou Amido

Como foi mencionado, embora a glicose seja comumente representada como o carboidrato produzido pela fotossíntese nas equações resumidas, na realidade muito pouca glicose livre é gerada nas células fotossintetizantes. A maioria do carbono fixado é convertida em sacarose, a principal forma de transporte dos açúcares, ou em amido, a principal forma de armazenamento de carboidratos nas plantas (ver Capítulo 2).

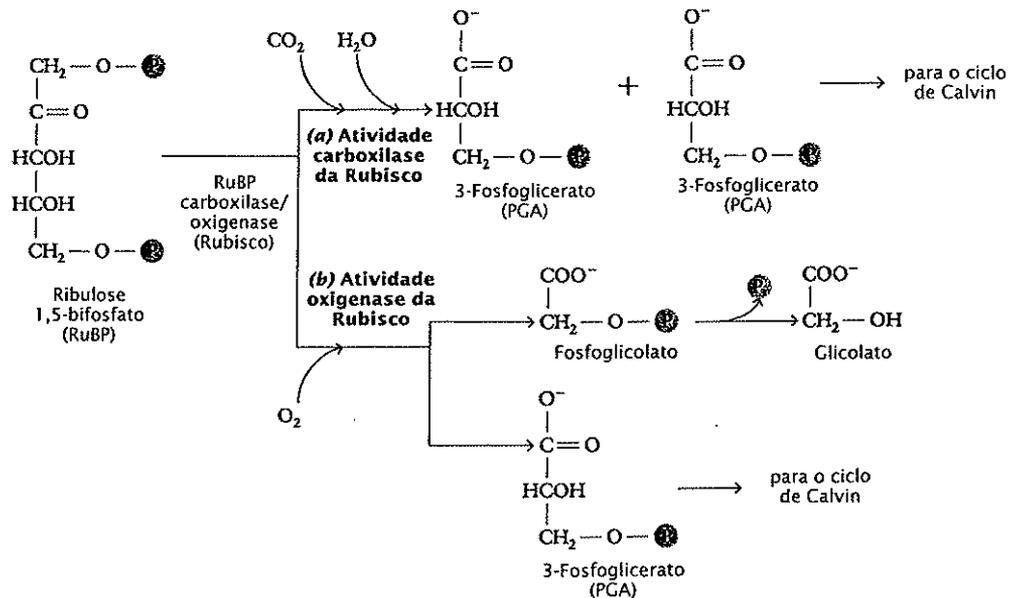
Grande parte do gliceraldeído 3-fosfato produzido pelo ciclo de Calvin é exportada para o citossol, onde, através de uma série de reações, é convertido em sacarose. A maioria do gliceraldeído 3-fosfato que permanece no cloroplasto é convertida em amido, que é estocado, temporariamente, durante o período de luz como grãos de amido no estroma (Figura 7.1). Durante a noite, a sacarose é produzida a partir do amido e é exportada da folha pelos feixes vasculares para as outras partes da planta.

A Fotorrespiração Ocorre Quando a Rubisco Liga-se ao O₂ em vez do CO₂

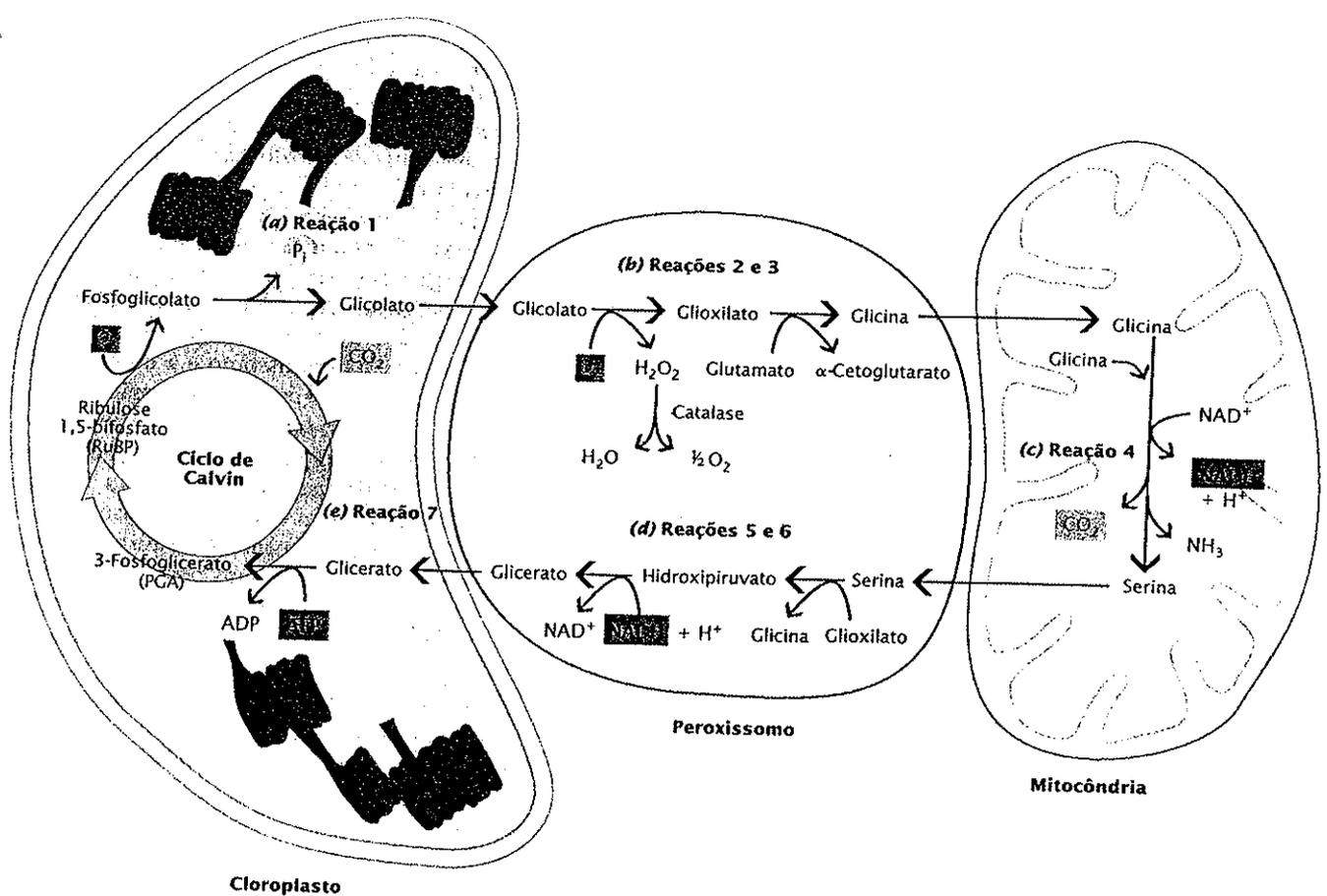
A enzima Rubisco, na presença de grande quantidade de CO₂ disponível, catalisa a carboxilação da ribulose 1,5-bifosfato com grande eficiência. Sob tais condições, a eficiência termodinâmica do ciclo de Calvin está próxima de 90% e o máximo da eficiência termodinâmica total para a fotossíntese é de cerca de 33%. (A maioria da energia luminosa é perdida na geração do ATP e do NADPH durante as reações luminosas.)

Como mencionado anteriormente, entretanto, a Rubisco não é absolutamente específica para o CO₂ como substrato. O oxigênio compete com o CO₂ no sítio ativo e a Rubisco também pode catalisar a condensação do O₂ com a RuBP para formar uma molécula de 3-fosfoglicerato e uma molécula de fosfoglicolato (Figura 7.19). Essa é a atividade oxigenase da enzima, que é refletida em seu nome: RuBP carboxilase/oxigenase. Nenhum carbono é fixado durante essa reação, e a energia deve ser gasta para a recuperação dos carbonos do fosfoglicolato, que não é um metabólito útil.

A via de recuperação é longa e emprega três organelas celulares: o cloroplasto, o peroxissomo e a mitocôndria (Figura 7.20). A via envolve, em parte, a conversão de duas moléculas de fosfoglicolato em uma molécula do aminoácido serina (que tem três carbonos) e uma molécula de CO₂. A atividade oxigenase da Rubisco combinada com a via de recuperação *consome* O₂ e *libera* CO₂, um processo chamado de fotorrespiração. Diferentemente da respiração mitocondrial (frequentemente referida como “respiração no escuro” para diferenciá-la da fotorrespiração, que ocorre apenas na presença de luz), a fotorrespiração é um processo dispendioso, não produzindo ATP nem NADH. Em algumas plantas, cerca de 50% do carbono fixado na fotossíntese pode ser reoxidado a dióxido de carbono durante a fotorrespiração. Parece que a evolução da Rubisco selecionou um sítio ativo que não é capaz de discriminar entre o CO₂ e o O₂, talvez porque muito de sua evolução tenha ocorrido antes de o O₂ ser um importante componente da atmosfera.



7.19 Reações catalisadas pela Rubisco (a) A atividade carboxilase da Rubisco (RuBP carboxilase/oxigenase), que é responsável pela fixação do CO₂ no ciclo de Calvin, é favorecida por altas concentrações de CO₂ e baixas concentrações de oxigênio (ver também Figura 7.16). (b) A ação oxigenase da Rubisco também ocorre de forma significativa, especialmente na presença de baixas concentrações de CO₂ e altas concentrações de oxigênio (concentrações atmosféricas normais). A ação oxigenase da Rubisco diminui a eficiência da fotossíntese, uma vez que apenas uma molécula de 3-fosfoglicerato (PGA) é formada a partir da ribulose 1,5-bifosfato (RuBP), em vez das duas formadas pela atividade carboxilase da Rubisco. A atividade oxigenase da Rubisco combinada com a via de recuperação (ver Figura 7.20) consome O₂ e libera CO₂, processo chamado de fotorrespiração.



7.20 Recuperação do fosfoglicolato É mostrada aqui a via pela qual o fosfoglicolato formado durante a fotorrespiração é recuperado pela conversão em serina e então em 3-fosfoglicerato (PGA), que irá realimentar o ciclo de Calvin. **(a) Reação 1:** O fosfoglicolato é desfosforilado nos cloroplastos para formar glicolato. **(b) Reações 2 e 3:** Nos peroxissomos, o glicolato é oxidado a glioxilato, que é então transaminado a glicina. **(c) Reação 4:** Na mitocôndria, duas moléculas de glicina se condensam para formar serina e CO_2 , o qual é liberado durante a fotorrespiração. **(d) Reações 5 e 6:** Nos peroxissomos, a serina é transaminada a hidroxipiruvato, que é então reduzido a glicerato. O glicerato entra nos cloroplastos. **(e) Reação 7:** O glicerato é fosforilado a 3-fosfoglicerato (PGA), que retorna ao ciclo de Calvin. O oxigênio é consumido em dois pontos na via da fotorrespiração, uma vez no cloroplasto (atividade oxigenase da Rubisco) e uma vez no peroxissomo (oxidação do glicolato a glioxilato). O dióxido de carbono é liberado na mitocôndria (condensação de duas moléculas de glicina para formar uma molécula de serina).

A condensação do oxigênio com a RuBP ocorre concomitantemente com a fixação do CO_2 nas condições atmosféricas atuais, com uma atmosfera consistindo em 21% de O_2 e apenas 0,036% (360 ppm, ou seja, partes por milhão) de CO_2 . Além disso, são muito comuns as condições que podem alterar a relação CO_2/O_2 em favor do oxigênio e por isso aumentar a fotorrespiração. O dióxido de carbono não está continuamente disponível para as células fotossintetizantes de uma planta. Como vimos, ele entra na folha pelos estômatos, os poros especializados que se abrem e fecham dependendo, dentre outros fatores, do estresse hídrico. Quando uma planta está sujeita a altas temperaturas e a condições de seca, ela deve fechar seus estômatos para conservar a água. Isso corta o suprimento de CO_2 e também permite que o O_2 produzido pela fotossíntese seja acumulado. A resultante baixa concentração de CO_2 e alta concentração de O_2 favorecem a fotorrespiração.

Quando as plantas estão crescendo em proximidade umas das outras, o ar em volta das folhas pode ficar parado, com

poucas trocas gasosas entre o ambiente imediato e a atmosfera como um todo. Sob tais condições, a concentração de CO_2 no ar mais próximo às folhas pode ser rapidamente reduzida a baixos níveis pela atividade fotossintética das plantas. Mesmo se os estômatos estiverem abertos, o gradiente de concentração entre o meio externo da folha e o meio interno pode ser tão diminuto que pouco CO_2 difunde-se para a folha. Enquanto isso, o O_2 acumula-se, favorecendo a fotorrespiração e reduzindo consideravelmente a eficiência fotossintética das plantas.

A Via de Quatro Carbonos É uma Solução para a Fotorrespiração

O ciclo de Calvin não é a única via usada nas reações de fixação de carbono. Em algumas plantas, o primeiro produto detectável da fixação do CO_2 não é a molécula de três carbonos 3-fosfoglicerato, mas sim a molécula de quatro carbonos oxaloacetato, que é também um intermediário no ciclo do ácido cítrico ou de Krebs. Plantas que empregam