1. **Em células vegetais, há um link entre a glicólise e a via das pentoses-fosfato, que operam de forma interativa ao compartilharem metabólitos. Ambas as vias, não somente produzem compostos ricos em energia como geram esqueletos de carbono requeridos por reações biossintéticas. Explique a relação entre a via das pentoses-fosfato e a glicólise, bem como os produtos e o mecanismo de regulação de cada via.**

Na glicólise ocorre uma série de reações em que um açúcar (sacarose) é parcialmente oxidado via açucares fosfato de seis carbonos (hexoses-fosfato) e açucares fosfato de três carbonos (triose-fosfato) para produzir um ácido orgânico (piruvato), utilizando enzimas localizadas tanto no citosol como nos plastídios. Assim, através desta via, na etapa inicial os carboidratos são convertidos a hexoses-fosfato, que são então quebradas em duas trioses-fosfato. Na segunda fase, considerada a fase de conservação de energia, as trioses-fosfato são oxidadas e rearranjadas, sendo produzidas duas moléculas de piruvato, um ácido orgânico. Desta forma, esta via converte carboidratos em piruvato e também produz NADH e ATP.

Já rota das pentoses-fosfato é uma alternativa de oxidação da glicose, que leva a produção de dois compostos: ribose-5-fosfato, eritrose-4-fosfato, NADPH, não produzindo ATP. As reações são realizadas por enzimas também presentes no citosol e em plastídios. O NADPH produzido tem como função ser utilizado como fonte de poder redutor nas reações biossintéticas e, alternativamente, como fonte de energia que pode ser utilizada na CTE para produção de ATP (lembre-se da desidrogenase do NAD(P)H que existe na face externa da membrana interna da mitocôndria de plantas). Já a ribuse-5-fosfato produzida é utilizada para as biossínteses dos nucleotídeos e dos ácidos nucléicos (TAIZ et al, 2017).

A via das pentoses-fosfato e a glicólise apesar de terem funções distintas, são intimamente relacionadas por apresentarem compostos intermediários comuns: glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato e gliceraldeído-6-fosfato. Assim, o compartilhamento de compostos e a reversibilidade das reações da etapa não oxidativa da via das pentoses fosfato tornam possível o direcionamento dos açucares fosforilados desta via para a glicólise ou vice-versa (LOBATO, 2010).

A entrada da glicose na via glicolítica ou via das pentoses depende das necessidades momentâneas da célula, assim como a relação entre as concentrações citosólicas de NAPDH e NADP+. Assim, quando o NAPDH é formado mais rapidamente do que consumido, a sua concentração aumenta e, por consequência inibe a primeira enzima da via, a glicólise 6-P desidrogenase, e portanto, mais glicose 6-P estará disponível para a glicose. Entretanto, quando o NADPH é consumido mais rapidamente do que é formado, a concentração de NADP+ aumenta, ativando alostericamente a enzima glicose 6-P desidrogenase, determinando o aumento do fluxo de glicose 6-P pela via das pentoses (NELSON, et al., 2014).

Essa rota é importante em condições noturnas, onde o NADH é produzido nestas condições e alguns compostos são produzidos apenas a noite, e também importante para não ocorrer ciclo fútil.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

LOBATO, Ana Katerine de Carvalho Lima. **Análise de fluxos metabólicos para otimização da síntese do antibiótico cosmomicina por Streptomyces olindensis** ICB20. 2010.

NELSON, D. L.; COX, M.M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. Tradução Fabiana Horn e colaboradores. Revisão técnica Carla Dalmaz e Sandra E. Farias. 6 ed. Artmed, Porto Alegre, 2014.

1. **A respiração aeróbica é um processo que envolve a oxidação controlada de substratos orgânicos a CO2 enquanto o oxigênio, aceptor final de elétrons, é reduzido à água. No entanto, uma diminuição na concentração de oxigênio inibe a citocromo c oxidase e altera profundamente a via dos ácidos tricarboxílicos enquanto que a via glicolítica passa a ser mantida via reações fermentativas. Explique.**

Em situações em que oxigênio não está disponível como por exemplo, em condições de solos alagados, as rotas fermentativas reduzem o piruvato para reciclar o NADH produzido na glicose, e assim a obtenção de energia para a continuidade do metabolismo passa a ser principalmente pela via glicolítica, em detrimento à fosforilação oxidativa mitocondrial. De modo, que ocorre o aumento das vias da glicólise e da fermentação anaeróbica (TAIZ et al, 2017; CASAROTTO, 2017) Este tipo de respiração, por ser menos eficiente produz pouco ATP e leva a um maior consumo de carboidratos (Efeito pasteur).

Assim, quando o fornecimento de O2 é insuficiente para a respiração aeróbica, o metabolismo fermentativo das raízes utiliza o piruvato (formado na glicólise) como aceptor de elétrons para reoxidação do NADH citossólico, permitindo a continuidade da glicólise e produção de ATP em nível de substrato, conduzindo à produção de lactato, pela ação da enzima lactato desidrogenase. Este processo é transitório, uma vez que o acúmulo de lactato leva a uma diminuição rápida no pH intracelular e conduz a uma mudança da fermentação do lactato para a fermentação alcóolica, uma vez que as enzimas para estas vias metabólicas diferem em relação à faixa de pH ótimo para sua maior atividade (MORALES-OLMEDO et al., 2015), sendo que em condições de pH ácido a lactato desidrogenase é inibida e a piruvato descarboxilase, ativada. Assim, o piruvato passa a ser convertido em etanol, através de duas reações subsequentes catalisada pela piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase (YANG et al., 2014).

CASAROTTO, Gabriele. **Ressequenciamento genômico de soja (Glycine max (L.) Merr.) e identificação de genes relacionados à tolerância ao alagamento do solo**. 2017.

MORALES-OLMEDO, M. et al. Effects of transient soil waterlogging and its importance for rootstock selection. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.75, p.45-56. 2015.

YANG, W. et al. Insights into algal fermentation, p. 135-163. In: van DONGEN, J.T.; LICAUSI, F. **Low-oxygen stress in plants: oxygen sensing and adaptive responses to hypoxia**. Ed. Springer, 426p. 2014.

1. **A cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (CTEm) é responsável pela oxidação do poder redutor enquanto que a fosforilação oxidativa pela síntese de ATP. Explique e esquematize a relação entre a CTEm e a síntese de ATP via fosforilação oxidativa.**

A fosforilação oxidativa é um processo metabólico de síntese de ATP a partir da energia química conservada durante o ciclo cítrico sob formas de NADH e FADH2 pelo transporte de elétrons pela cadeia respiratória. De forma, que a cadeia de transporte de elétrons catalisa o fluxo de elétrons do NADH ao O2, pois a cadeia é composta por complexos com poder redutor. Os complexos I, III e IV são centros de acoplamento de energia. Nestes complexos a energia liberada durante o transporte de elétrons é conservada através de uma translocação vetorial de prótons e da formação de um potencial eletroquímico protônico de membrana, usado para a síntese de ATP. Esta síntese é catalisada por um complexo multienzimático, complexo V ou ATP-sintase. Assim, o fluxo de elétrons na CTE da respiração transloca prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembrana, e o aumento da concentração de H+ gera gradiente de potencial eletroquímico, e os prótons difundirem-se pelo complexo F0F1-ATP sintase canalizam a reação ADP+Pi=ATP.

Desta forma, a síntese de ATP através da ATP-sintase envolvida na fosforilação oxidativa em mitocôndrias baseia-se na hipótese quimiosmótica, em que a energia de transporte de elétrons é utilizada para bombear prótons através da membrana interna para o exterior da mitocôndria, e assim em consequência do bombeamento de prótons ocorre a formação de um gradiente de prótons (Os prótons entram por sítios específicos da ATP-sintase), e assim a ATP-sintase catalisa a formação de ATP quando os prótons atravessam a enzima, onde quatro prótons são necessários para cada ATP sintetizado.

1. **Sob condições aeróbicas, o NADH extramitocondrial precisa ser oxidado pela cadeia de transporte de elétrons. Considere um preparado de células vegetais contendo mitocôndrias e todas as enzimas citosólicas. Se [4–3H] NADH é introduzido, radioatividade logo aparece na matriz mitocondrial. No entanto, se [7–14C] NADH é introduzido, nenhuma radioatividade aparece na matriz. O que essas observações revelam sobre o NADH extramitocondrial?**

O 4-3H NADH é a forma oxidada=NAD

O 7-14C NADH é a forma Reduzida=NADH

O NADH extramitocondrial é transferido para a matriz por meio da transferência de elétrons/ H + para o oxaloacetato. Dessa forma, não há passagens da estrutura carbônica do NADH, o que justifica a não ocorrência de radioatividade quando utiliza-se C14.

1. **O que é respiração alternativa ou respiração resistente ao cianeto? Em quais situações esse processo pode ser ativado? Qual a sua importância para a respiração em células vegetais?**

A respiração resistente ao cianeto ou via alternativa é a respiração celular, decorrente da atividade da oxidase alternativa (AOX), que é resistente aos inibidores terminais (Cianeto) e inibidores que agem entre os citocromos tipo b e c (Antimicina A). Sob baixos níveis de substrato (carboidratos e ácidos orgânicos) a atividade respiratória pode estar limitada por este déficit. Quando os níveis de substrato aumentam, a respiração pode exceder a demanda por energia metabólica. Nestas condições, a atividade da rota alternativa do metabolismo respiratório (cianeto-resistente) é aumentada.

Assim, nesta rota respiratória alternativa os elétrons da respiração (NadH + H+) são carreados para um reservatório de ubiquinonas e a seguir para a única enzima específica da rota respiratória alternativa, a enzima ubiquinol oxidase, que transfere os elétrons da ubiquinona reduzida (ubiquinol) para o oxigênio molecular. Assim, na rota alternativa ocorre a formação de apenas 1 ATP por par de elétrons (NadH + H+), tendo-se em vista que dois sítios da cadeia respiratória não chegam a ser utilizados, sem a participação da citocromo c oxidase.

Está rota é importante, devido a capacidade de AOX de aceitar elétrons a partir da ubiquinona, assim o excesso de elétrons pode ser desviado para a via alternativa em situações onde a cadeia de transporte de elétrons esteja saturada. Também, apresenta possível importante papel em condições de estresses, pois a síntese de AOX é aumenta em situações como ataque de patógenos e baixas temperaturas.

1. **a) Qual a relação entre a razão alta ou baixa de [PEP]/[Pi] no citosol e o estado energético da planta? Comente como ocorrem as mudanças nessa razão (alta ou baixa) e as consequências dessas mudanças em relação ao catabolismo de açúcares.**

A relação entre as concentrações de PEP/Pi tem influencia direta sobre o estado energético da planta. Em situações de baixa [ATP] e baixa [NADPH] se tem Pi alta, assim como em altas concentrações de ATP e NADPH se tem baixa concentração de Pi, desta forma:

*Baixa demanda energética:* alta [PEP] que inibe a glicose e impede a conversão da PEP em piruvato, tendo baixa [Pi].

*Alta demanda energética:* Se tem alta [Pi] o que inibe a PEP, pois há necessidade de muita energia, diminuindo assim os efeitos da PEP, e assim é possível produzir piruvato.

Desta forma, as mudanças na razão entre alta ou baixa [PEP]/[Pi] promove mudanças no catabolismo de açucares, pois quando se tem baixa concentração de Pi predomina a síntese de amido, e em condições de altas concentrações de Pi a síntese de sacarose.

**b) O que é a frutose 2,6-bisfotato? O que leva ao seu aumento ou diminuição na concentração celular e que implicações isso tem no fluxo de carbono fotossintético da planta? Considere suas variações no início de um dia típico de verão e no final desse dia. Compare as duas situações considerando as variações os principais pontos de regulação do fluxo de carbono fotossintético para produção de energia (oxidação), exportação (como sacarose) ou acúmulo temporário (síntese de amido nos cloroplastos).**

A frutose 2,6-bisfosfato é o sinal metabólico que regula a partição entre a sacarose e a síntese de amido. O aumento ou diminuição da sua atividade é dependente das condições do ambiente, ou seja, exemplificando através de um dia típico de verão:

*Inicio do dia:* Haverá uma maior taxa disponível de ADP e Pi, e assim se tem alta síntese de frutose, 1,6-bifosfato e também de sacarose fosfato sintase que se encontra em estado ativo (não fosforilado), e baixa quantidade frutose 2, 6-bifosfato. Assim, há alta exportação de sacarose e baixa acumulo de amido.

*Meio dia:* Ocorre uma diminuição da demanda dos órgãos dreno ou a capacidade de exportação da folha, deste modo, se tem um aumento da atividade de frutose 2,6-bifosfato, e assim menor exportação de sacarose, com isso mais acumulo da sacarose na citosol e de ámido no cloroplasto.

*Ao anoitecer:* Haverá uma alta taxa de exportação de sacarose, que foi produzida durante o dia, entretanto a taxa de sintase é baixa. E nestas situações, o carbono armazenado como amido pode ser utilizado para suportar a respiração contínua da sacorose quando a fotossíntese está inativa à noite.

Desta forma, durante o dia a sacarose flui continuamente a partir do citossol das folhas para os tecidos drenos, enquanto o amido se acumula nos cloroplastos. À noite o conteúdo de amido nos cloroplastos cai para sustentar a exportação de sacarose para outros órgãos.

1. **Sobre metabolismo de lipídios, responda:**
2. **Cite a fonte de carbono, poder redutor e compartimentos celulares envolvidos para formação de ácidos graxos C16, C18 e de cadeia longa, em tecidos fotossintéticos e não fotossintéticos.**

A síntese de ácidos graxos tem acetil-Coa e malonil Coa como doadores de carbonos e NADPH como agente redutores. Assim, os ácidos graxos são sintetizados nos plastídios, utilizando acetil- CoA, em ciclos de adição de dois carbonos. Os ácidos graxos dos plastídios podem ser transportados ao RE, onde posteriormente são modificados. Em plantas, os ácidos graxos são sintetizados principalmente nos cloroplastos, de forma que nos cloroplastos, a rota procariótica utiliza os produtos 16:0-ACP e 18:1-ACP da síntese de ácidos graxos no cloroplasto para sintetizar ácido fosfatídico e seus derivados. Alternativamente, os ácidos graxos podem ser exportados ao citoplasma como ésteres de CoA. Já no citoplasma, a rota eucariótica utiliza um conjunto separado de aciltransferases no RE, para incorporar os ácidos graxos no ácido fosfatídico e seus derivados.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

1. **Comente a função bioquímica da isoforma citoplasmática e plastídica da enzima AcetilCoA carboxilase. Comente os principais aspectos de sua regulação.**

A acetil-CoA carboxilase (ACCase) é uma enzima bastante importante e que mediante a dependência de biotina, é responsável por catalisar duas reações irreversíveis que ao fim do processo determinam o comprometimento da via de síntese dos ácidos graxos. A biotina carboxilase e carboxil transferase são os responsáveis pelas atividades catalíticas dependentes de ATP, Mg2+ e HCO3- resultando nos processos de carboxilação de Acetil-CoA para posterior formação do malonil-CoA. A ACCase possui na sua constituição de isoformas plastídicas e citoplasmáticas, sendo as plastídicas responsáveis por a maior parte da atividade destas enzimas em folhas (mais de 80%).

Plantas que estão inseridas no grupo das Poaceas (gramíneas), são dotadas por ACCase plastídica homomérica, onde os domínios BCCP, BC e CT localizam-se em proteína de cadeia polipeptídica única. Já quando ACCases plastídicas e citoplasmáticas de gramíneas tornam-se na sua forma ativa, são homodimerizadas. No entanto as demais plantas são dotadas por uma forma homomérica no citoplasma e uma forma heteromérica nos plastídeos, onde seus domínios podem ser codificados pelo mais diversos genes expressos de forma coordenada.

Desta forma, os herbicidas inibidores da ACCase no controle de plantas daninhas gramíneas, essa especificidade de controle dá-se ao fato da inibição seletiva das ACCases plastídicas homoméricas que se fazem presentes tão somente nesta família botânica, no entanto, havendo algumas exceções. Diante disso, formas heteroméricas plastídicas e homoméricas citosólicas da enzima acabam por não expressar essa inibição pelos herbicidas, ao que chamamos de plantas tolerantes ao herbicida.

1. **Especifique os gastos energéticos (ATP e poder redutor), número de acetil-CoA necessários para a síntese do ácido esteárico (C18). Considere a ação da Acetil CoACarboxilase e do Complexo Ácido Graxo Sintase.**

O ácido esteárico (ou ácido octadecanóico – CH3(CH2)16COOH) é um ácido graxo de cadeia longa que consiste de 18 átomos de carbono sem duplas ligações. O ácido esteárico é classificado como ácido graxo saturado (AGS).

Para a sua síntese é formando 9 moleculas de Acetil, além de água e NADH. Desta forma, na etapa de B-oxidação um ácido esteárico com 18 carbonos forma 18 elétrons, 36 prótons e reduz 36 carbonos, e como possui 18 carbonos em sua estrutura irá passar por 9 voltas na etapa de B-oxidação. A produção de ATP, é formada a cada passada na B-oxidação, que em cada passagem forma 4 ATP, e cada acetil-coa produz 10 ATP.

1. **O que são enzimas dessaturases? Comente a importância dessas enzimas, destacando o resultado de uma pesquisa, seja voltada à tecnologia de alimentos ou a aspectos ecofisiológicos.**

Enzimas dessaturases são capazes de introduzir duplas ligações (insaturações) na cadeia do ácido graxo. A dessaturação é um processo aeróbico que utiliza oxigênio molecular e elétrons obtidos através da cadeia de transporte de elétrons. Três tipos de enzimas dessaturases podem ser encontradas: Acetil-COA, Acetil-lipídeos e Acetil-ACP. Estas, podem ser categorizadas de acordo com o doador de elétrons utilizado que podem ser o citocromo b5 ou a ferredoxina e NADH ou NADPH (PEREIRA, 2003).

Assim, por essas enzimas terem a capacidade de introduzir duplas ligações, o entendimento destes mecanismos de regulação da via de ácidos graxos é de suma importância, por exemplo, para a identificação e o desenvolvimento de genótipos que contenham conteúdos de ácidos graxos mais apropriados para diversos fins, como a produção de óleos de soja. Pois, a utilização de oléos de soja com alto teor de ácidos graxos insaturados para a produção de biodiesel leva à produção de um combustível com qualidade inferior, com baixo índice de cetano e maior instabilidade oxidativa. A biossíntese de ácidos graxos é alterada por fatores genéticos, ambientais e a interação entre eles, de forma a afetar a via biossintetica. Como pode ser exemplificado no estudo realizado por Pinto (2012) que buscou avaliar a expressão e substituição alélica dos genes de dessaturares de ácidos graxos em soja para então avaliar os efeitos do ambiente de cultivo na composição de ácidos graxos no conteúdo de óleo e na expressão das enzimas dessaturases de diferentes genótipos, para assim selecionar materiais superiores.

PEREIRA, Suzette L.; LEONARD, Amanda E.; MUKERJI, Pradip. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, n. 2, p. 97-106, 2003.

PINTO, Marcos De Oliveira. **Expressão E Substituição Alélica Dos Genes De Dessaturases De Ácidos Graxos Em Soja**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

**e) Descreva a importância bioquímica e fisiológica do Ciclo do Glioxilato em plantas. Considere a sua integração no metabolismo vegetal em diferentes etapas do desenvolvimento da planta.**

Essa via é uma alternativa para o metabolismo de acetil-CoA, de forma que o a molécula de acetil-CoA é convertido a succinato, que então é transportado para a mitocôndria onde é convertido a malato pelo ciclo de Krebs. Nesta via, não há descarboxilação evitando perdas de C através do CO2. As enzimas envolvidas são Isocitrato liase e Malato sintase. Desta forma, a importância bioquímica para as plantas dessa via é ela ser uma alternativa para o Acetil-CoA, o que permite a síntese de glicose e a produção de intermediários do ciclo de Krebs a partir de acetil-CoA.

Do ponto de vista fisiológico, essa rota é importante para sementes que armazenam grande quantidade de lipídios e proteínas em seus cotilédones, os quais são usados como nutriente para a germinação, crescimento e desenvolvimento da nova plântula. As enzimas isocitrato-liase e malato-sintase da regulação do ciclo do glioxilato, aumentam sua atividades durante a germinação das sementes, obtendo-se valores máximos quando ocorre o máximo da proporção de lipídios degradados e na síntese de sacarose. Neste ciclo, os lipídios insolúveis das sementes se transformam em açúcares solúveis (sacarose), os quais são facilmente deslocados para os meristemas radiculares e apicais. Ambas as enzimas são sintetizadas “de novo” após o início do processo germinativo (Bewley & Black, 1994). Essa via sofre alterações de acordo com as etapas do desenvolvimento da planta, pois o ciclo glioxilato é inibido quando a planta autotrófica, e volta a ser ativa quando inicia-se o processo de senescência, que induz a produção de malato sintase.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. Seeds physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994. 445p.