

FISIOLOGIA VEGETAL

2013-2014

Ricardo Boavida Ferreira

Aula T-14, T-15, T-16, T-17, T-18 e T-19

Cap. II - METABOLISMO DO CARBONO

Fixação do dióxido de carbono e metabolismo fotossintético

Aula T-18 Plantas C4

TABELA 1

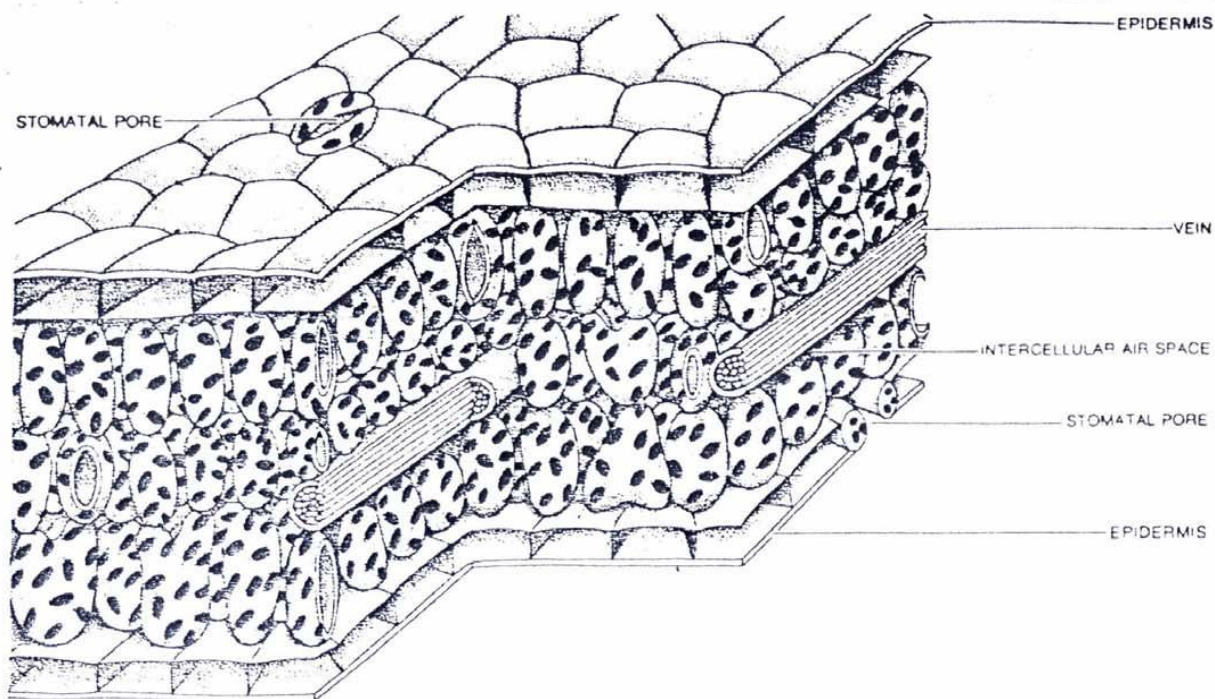
C₄.2Alguns exemplos de plantas C₃, C₄ e CAM

C ₃	C ₄	CAM
<i>Agrostis alba</i>	<i>Amaranthus albus</i>	<i>Agave sisalana</i>
<i>Anachis hypogea</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>Aloe arborescens</i>
<i>Atriplex hastata</i>	<i>Anistida purpurea</i>	<i>Aloe saponaria</i>
<i>Avena sativa</i>	<i>Atriplex rosea</i>	<i>Amans comosus</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Atriplex semibaccata</i>	<i>Bryophyllum calycinum</i>
<i>Brassica nigra</i>	<i>Bouteloua curtipendula</i>	<i>Bryophyllum fedtschenkoi</i>
<i>Chenopodium album</i>	<i>Chloris gayana</i>	<i>Bryophyllum pinnatum</i>
<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	<i>Bryophyllum tubiflorum</i>
<i>Datura stramonium</i>	<i>Cyperus esculentus</i>	<i>Carnegiea gigantea</i>
<i>Daucus carota</i>	<i>Cyperus rotundus</i>	<i>Crassula lycopodioides</i>
<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Digitaria sanguinalis</i>	<i>Hoya carnosus</i>
<i>Glycine max</i>	<i>Echinochloa crus-galli</i>	<i>Isoetes howellii</i>
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>Euphorbia maculata</i>	<i>Kalanchoe blossfeldiana</i>
<i>Helianthus annuus</i>	<i>Kochia childsii</i>	<i>Kalanchoe daigremontiana</i>
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Panicum antidotale</i>	<i>Kalanchoe tubiflora</i>
<i>Lactuca sativa</i>	<i>Panicum capillare</i>	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>
<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Paspalum notatum</i>	<i>Nopalea dejecta</i>
<i>Oryza sativa</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Opuntia ficus-indica</i>
<i>Panicum commutatum</i>	<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Opuntia inermis</i>
<i>Phalaris canariensis</i>	<i>Salsola Kali</i>	<i>Opuntia polycantha</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Setaria italica</i>	<i>Pereskia grandifolia</i>
<i>Poa pratensis</i>	<i>Setaria leutescens</i>	<i>Sedum praealtum</i>
<i>Spinacea oleracea</i>	<i>Sorghum bicolor</i>	<i>Sedum telephium</i>
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Sorghum sudanense</i>	<i>Stapelia gigantea</i>
<i>Xanthium strumarium</i>	<i>Zea mays</i>	<i>Welwitschia mirabilis</i>

Tabela 2

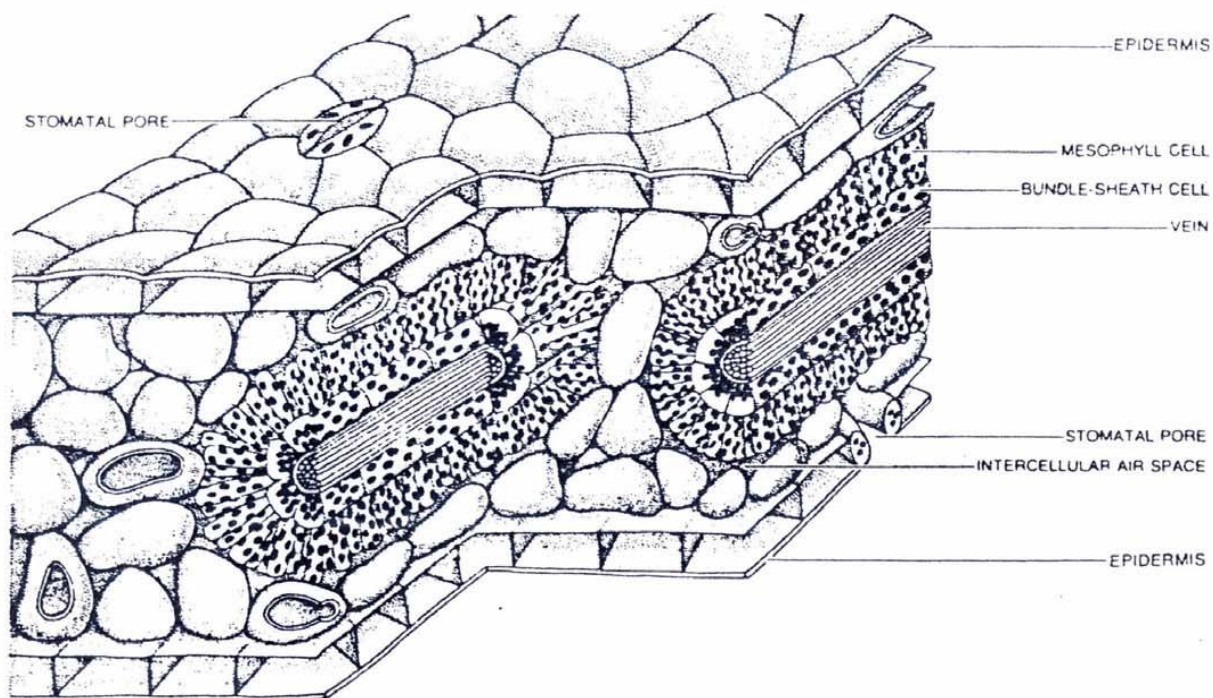
Ocorrência de espécies C₄ entre as importantes de maior importância econômica a escala mundial.

Espécie	Classificação
<i>Amaranthus hybridus</i>	C ₄
<i>Amaranthus spinosus</i>	C ₄
<i>Cynodon dactylon</i>	C ₄ (NAD-ME)
<i>Cyperus rotundus esculentus</i>	C ₄
<i>Cyperus rotundus</i>	C ₄ (NADP-ME)
<i>Digitaria sanguinalis</i>	C ₄
<i>Echinochloa colomum</i>	C ₄
<i>Echinochloa crusgalli</i>	C ₄ (NADP-ME)
<i>Eleusine indica</i>	C ₄ (NAD-ME)
<i>Imperata cylindrica</i>	C ₄
<i>Panicum maximum</i>	C ₄ (PEP-CK)
<i>Paspalum conjugatum</i>	C ₄
<i>Portulaca oleracea</i>	C ₄
<i>Rottboellia exaltata</i>	C ₄
<i>Sorghum halepense</i>	C ₄ (NADP-ME)
<i>Avena fatua</i>	C ₃
<i>Chemopodium album</i>	C ₃
<i>Convolvulus arvensis</i>	C ₃
<i>Exchhornia crassipes</i>	C ₃
<i>Lantana camara</i>	C ₃



LEAF STRUCTURE of the three-carbon plant *Atriplex patula* is portrayed. As in other typical leaves the cells, containing chlorophyll, which is shown in color, are of a single type, and they are

found throughout the interior of the leaf. *A. patula* has a relative, *A. rosea*, that employs the four-carbon pathway for photosynthesis and has a different leaf structure, shown in the illustration below.



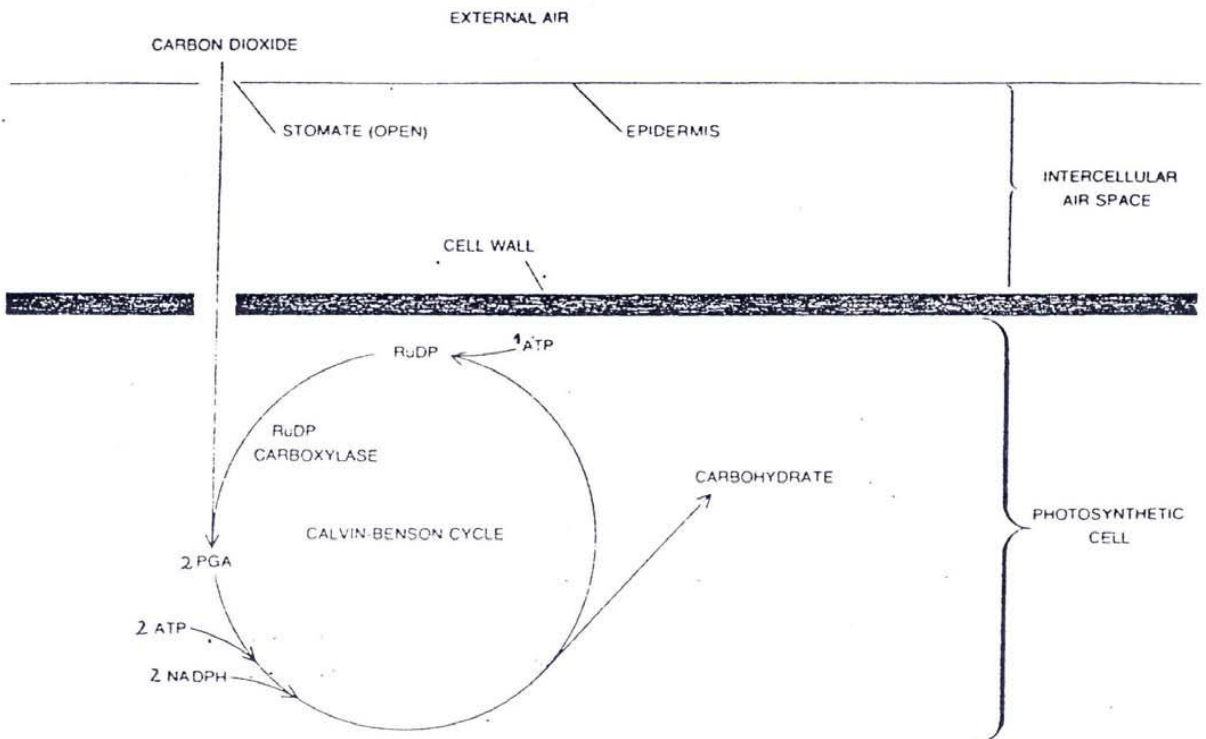
SPECIALIZED LEAF of *A. rosea* has nearly all its chlorophyll in two types of cells, which form concentric cylinders around the

fine veins of the leaf. The cells of the outer cylinder are mesophyll cells; those of the inner cylinder are bundle-sheath cells.

Tabela 3

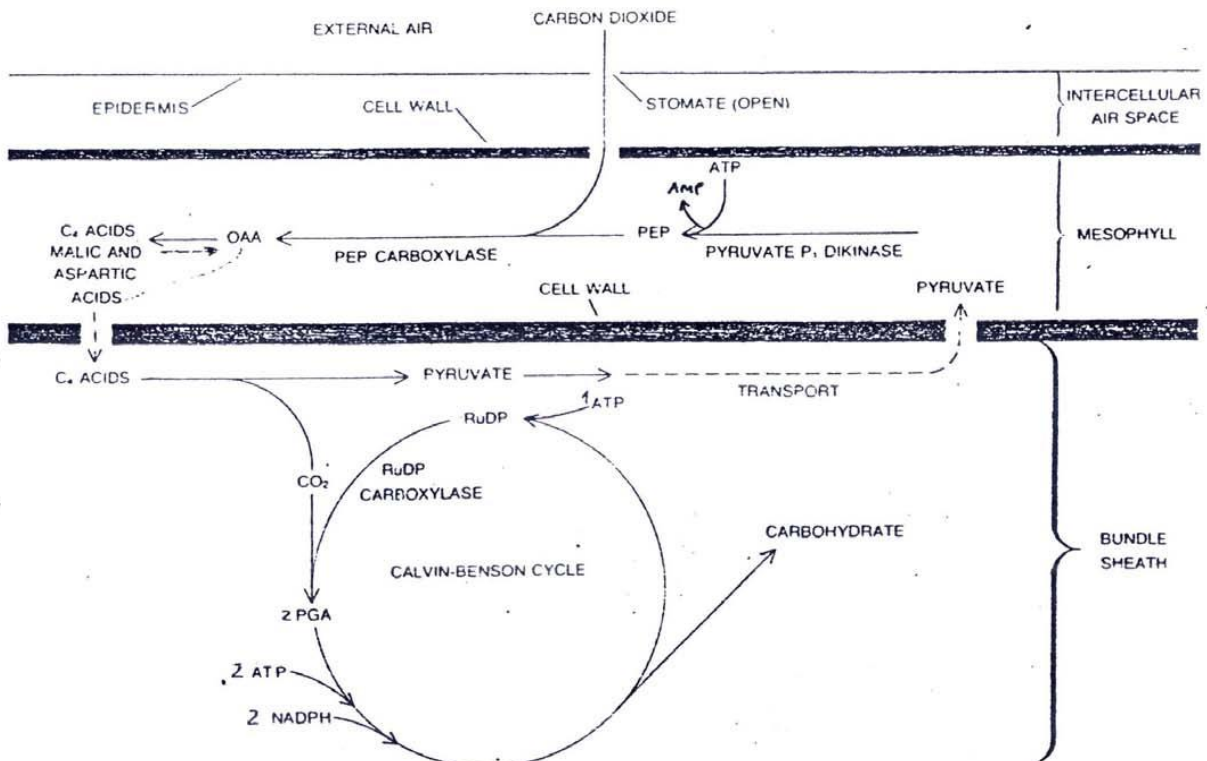
Algumas características fisiológicas e bioquímicas que distinguem as plantas C₄ das plantas C₃ e CAM.

Características	Plantas tipo C ₃	Plantas tipo C ₄	Plantas tipo CAM
Via de fixação do CO ₂	Ciclo de Calvin	Via em C ₄ seguida do ciclo de Calvin	Via em C ₄ e ciclo de Calvin
Ponto de compensação para o CO ₂	40 a 150 ppm	0 a 10 ppm	0 a 5 ppm às escuras 0 a 200 ppm à luz
Fotorrespiração	Elevada e fácil de detectar	Muito baixa e difícil de detectar	Muito variável com as condições ambientais
Taxa de fotossíntese aparente com luz solar intensa	15 a 35 mg de CO ₂ por dm ² de área foliar por hora	40 a 80 mg de CO ₂ por dm ² de área foliar por hora	1 a 10 mg de CO ₂ por dm ² de área foliar por hora
Resposta da fotossíntese aparente ao aumento da intensidade luminosa	A saturação é atingida com baixas intensidades luminosas	A saturação é difícil de atingir, mesmo com luz solar intensa	Intermediária em relação às anteriores
Temperatura ótima para a fotossíntese	10 a 25°C	30 a 45°C	≈ 35°C
Abertura estomatística à luz	Grande	Fraca	Nada ou quase nada
Taxa transpiratória (g H ₂ O por g matéria seca)	450 a 950	250 a 350	50 a 55



THREE-CARBON PHOTOSYNTHETIC PATHWAY is the usual one, so named because the initial product is a compound with three carbon atoms per molecule. In this simplified schematic diagram the carbon dioxide that the leaf has admitted from the surrounding air reacts with ribulose diphosphate (RuDP) in a reaction catalyzed by the enzyme RuDP carboxylase, forming two molecules of phosphoglyceric acid (PGA) with three carbon atoms each. In

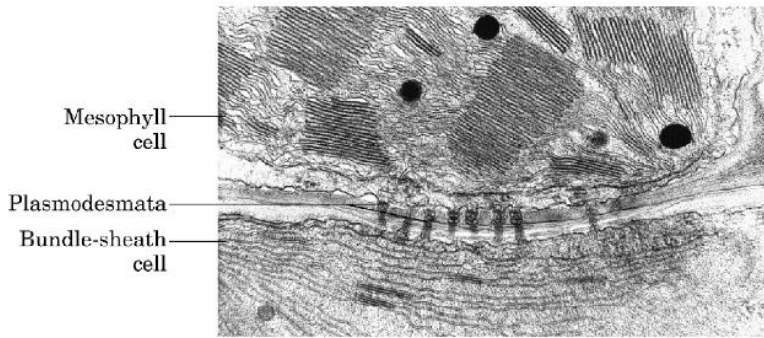
subsequent reactions some of the phosphoglyceric acid is converted to end products of photosynthesis and some of it is utilized to regenerate molecules of RuDP so that they can again serve as acceptors of carbon dioxide. The loop thus closed makes the process of fixing carbon dioxide a self-sustaining cycle driven by energy derived from light. End products of photosynthesis are carbohydrates, amino acids and other compounds that plant needs for growth.



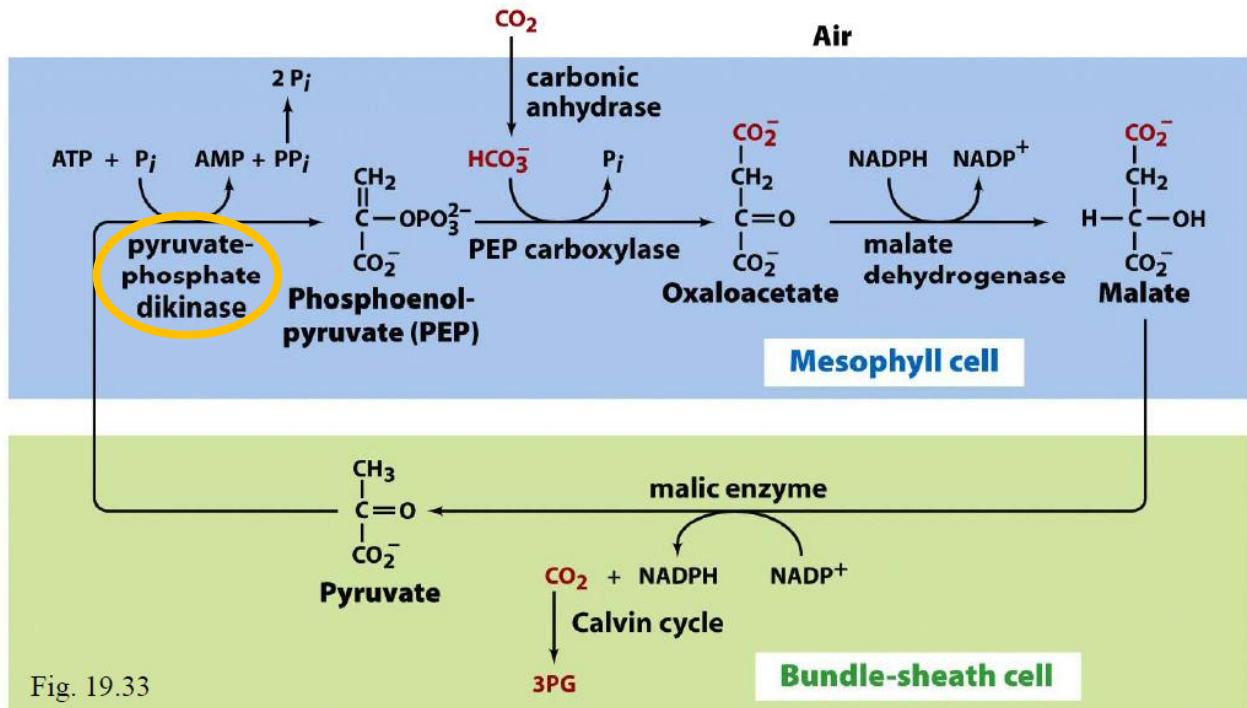
FOUR-CARBON PHOTOSYNTHETIC PATHWAY occurs in some specially adapted desert plants. Carbon dioxide entering the leaf reacts with phospho-enol-pyruvate (PEP), a three-carbon compound, to form four-carbon oxaloacetic acid (OAA), from which malic acid and aspartic acid are formed. They are transported from the mesophyll cells, which are in the outer part of the leaf, to the inner bundle-sheath cells. There carbon dioxide is released from

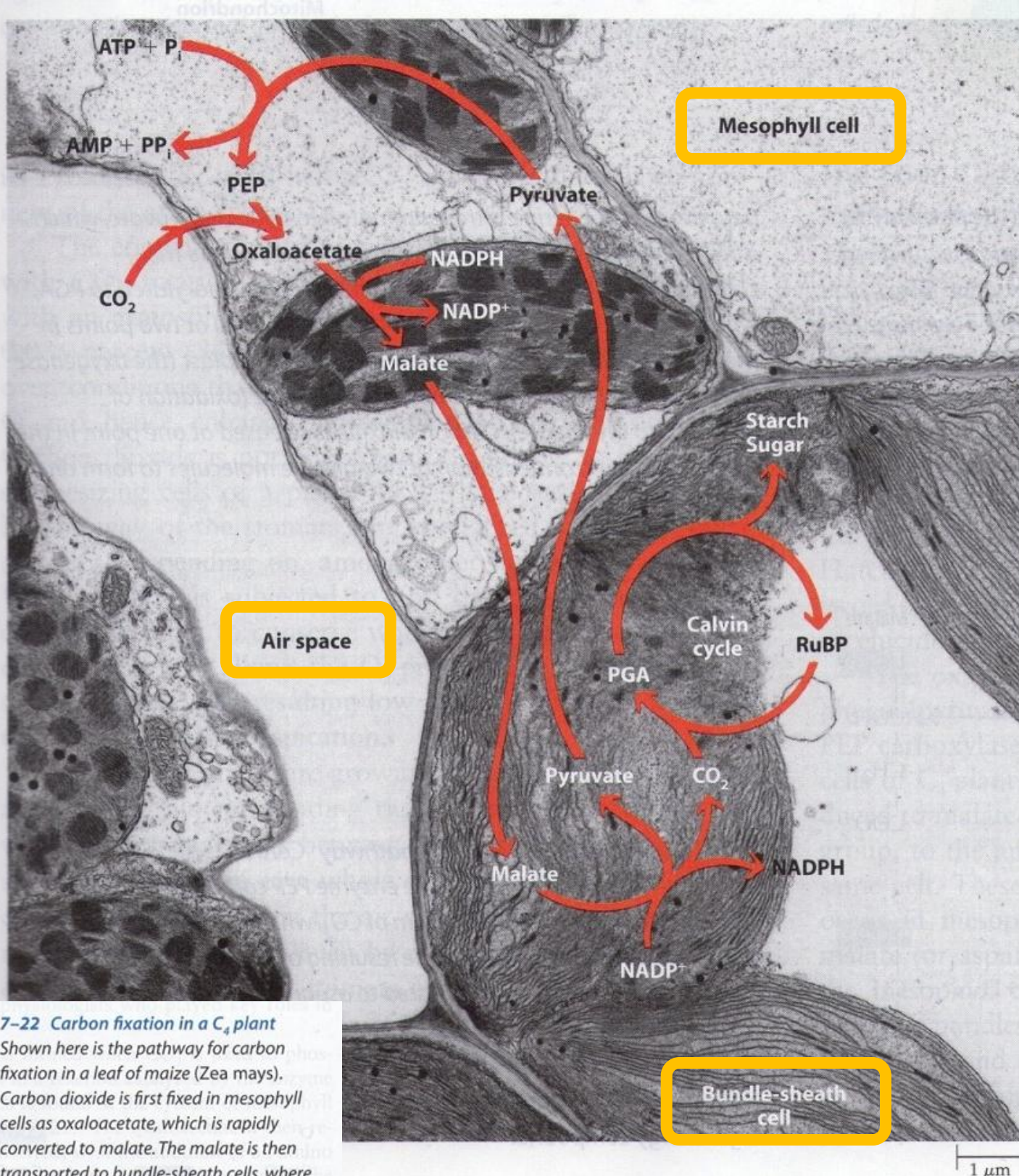
the four-carbon compounds and pyruvic acid, a three-carbon compound, is formed. The carbon dioxide is now fixed again in the usual cycle. The pyruvic acid returns to the mesophyll cells, where it acquires a phosphate group from adenosine triphosphate (ATP) to form PEP, thus regenerating the initial carbon dioxide acceptor molecule. This additional cycle for fixing carbon dioxide helps to increase the overall efficiency of utilizing the carbon dioxide.

(a) An electron micrograph showing chloroplasts of connected mesophyll (above) and bundle-sheath (below) cells. The bundle-sheath cell contains starch granules. The plasmodesmata linking the two cells are evident. (b) The Hatch-Slack pathway of CO₂ fixation, via a four-carbon intermediate. This pathway prevails in plants of tropical origin (C₄ plants).



Increasing CO₂ concentration in **C₄ plants** to reduce O₂ inhibition of RUBISCO





7-22 Carbon fixation in a C₄ plant

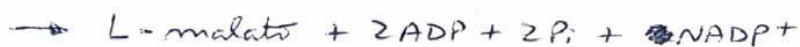
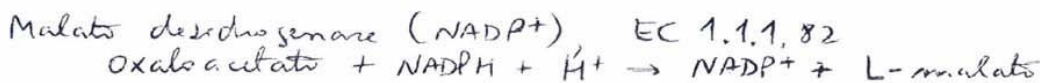
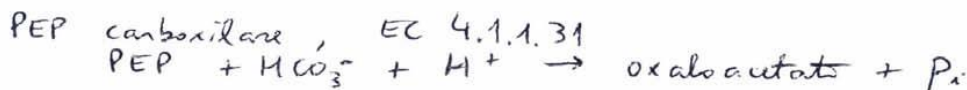
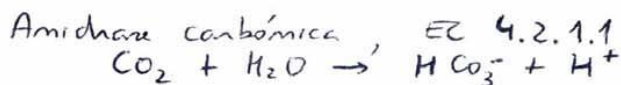
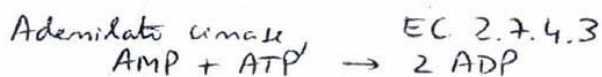
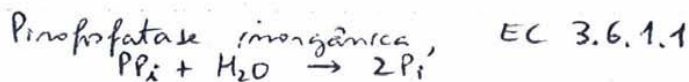
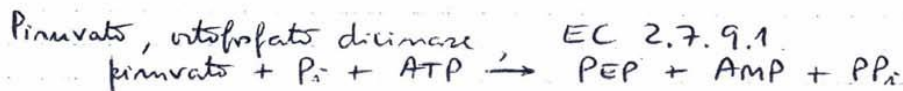
Shown here is the pathway for carbon fixation in a leaf of maize (*Zea mays*). Carbon dioxide is first fixed in mesophyll cells as oxaloacetate, which is rapidly converted to malate. The malate is then transported to bundle-sheath cells, where the CO₂ is released to enter the Calvin cycle, ultimately yielding sugars and starch. Pyruvate returns to the mesophyll cell for regeneration of phosphoenolpyruvate (PEP). Hence, there is a spatial separation between the C₄ pathway, which occurs in the mesophyll cells, and the Calvin cycle, which takes place in the bundle-sheath cells.

Tabela 4

Localização intracelular das enzimas que participam na via em C₄

ENZIMA	LOCALIZAÇÃO INTRACELULAR
CÉLULAS DO MESÓFILO	
PEP carboxilase	Citoplasma
Amidase carbônica	Citoplasma
Alanina aminotransferase	Citoplasma
Aspartato aminotransferase	Cloroplasto (NADP-ME); Citoplasma (NAD-ME ₂)
<u>Piruvato oxaloacetato descarboxilase</u>	PEP-CK
Piruvato oxaloacetato descarboxilase	Cloroplasto
Adenilato cinaase	Cloroplasto
Malato desidrogenase (NADP ⁺)	Cloroplasto
CÉLULAS DA BAINHA DOS FEIXES	
Alanina aminotransferase	Citoplasma
Aspartato aminotransferase	Mitocondrio
Malato desidrogenase	Cloroplasto
Enzima málase (NAD ⁺)	Mitocondrio
Enzima málase (NADP ⁺)	Cloroplasto
PEP carboxilase	Citoplasma

a) A conversão de piruvato e CO₂ a malato, envolvendo 6 enzimas, com o consumo de 2 ATP e 1 NADPH por CO₂ fixado:

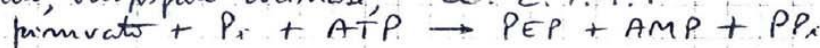


b) A conversão de alanina e CO_2 a aspartato, envolvendo 7 enzimas, com o consumo de 2 ATP por CO_2 fixado:

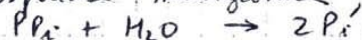
Alanina aminotransferase, EC 2.6.1.2



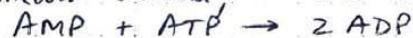
Piruvato, orotofato decarboxilase, EC 2.7.9.1



Piruvato, orotofato decarboxilase, EC 3.6.1.1



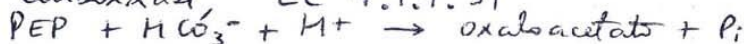
Adenilato cinase, EC 2.7.4.3



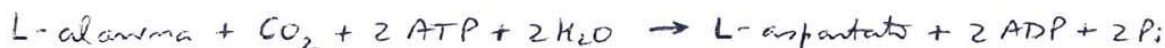
Amidase carbônica, EC 4.2.1.1



PEP carboxilase, EC 4.1.1.31

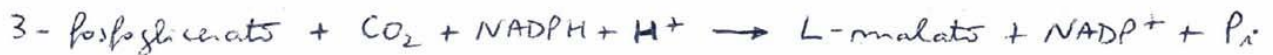
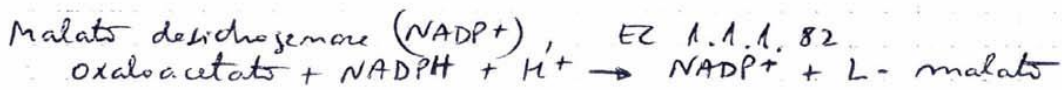
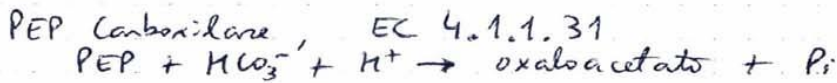
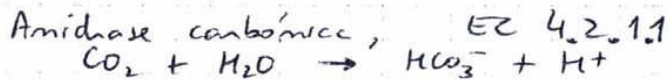
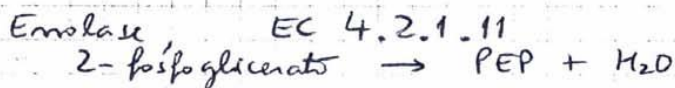
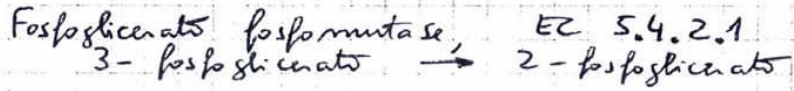


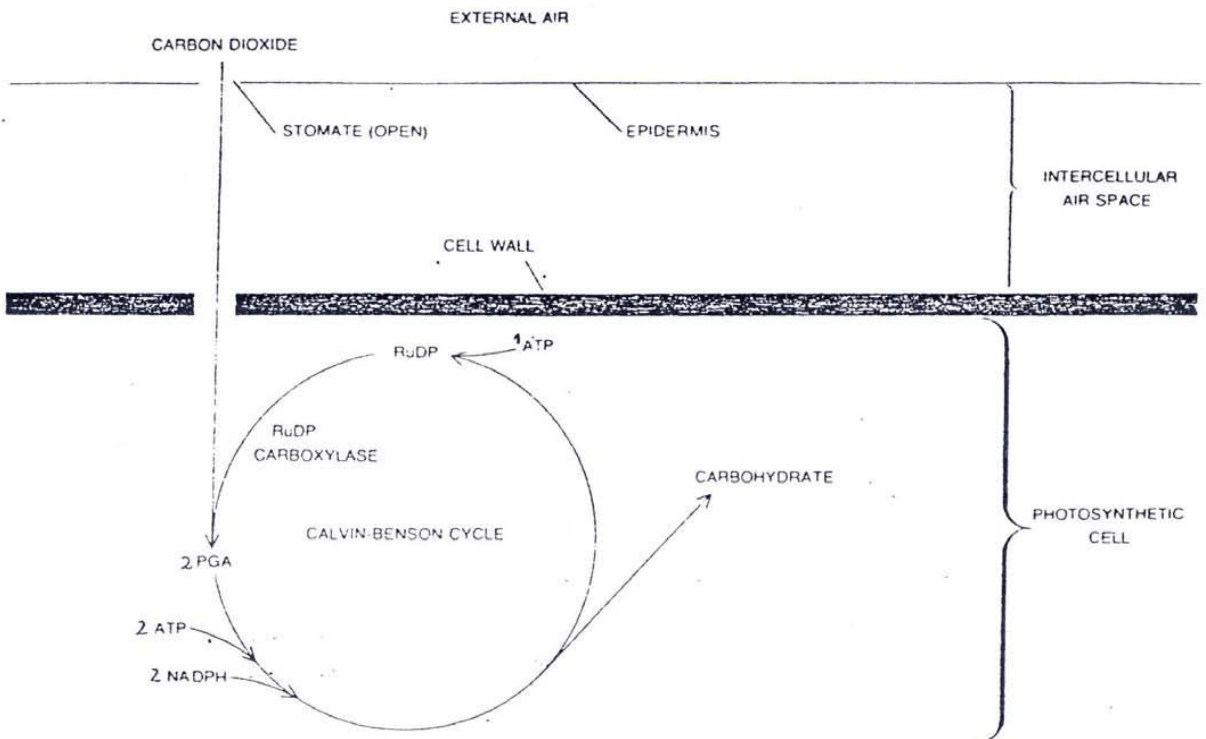
Aspartato aminotransferase, EC 2.6.1.1



O glutamato e o 2-oxoglutarato são reciclados pelo acoplamento das reações catalisadas pelas duas aminotransferases.

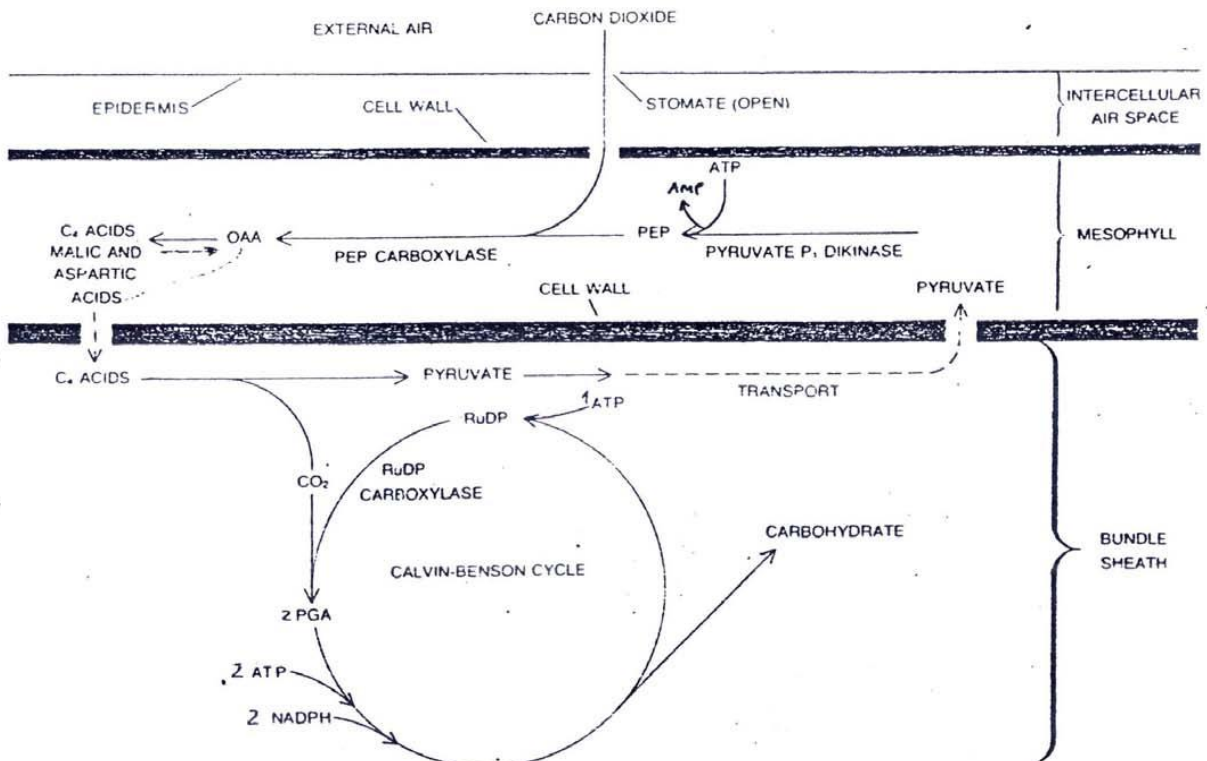
c) A conversão de PGA e CO₂ a malato e Pi, envolvendo 5 enzimas, com o consumo de 1 NADPH por CO₂ fixado:





THREE-CARBON PHOTOSYNTHETIC PATHWAY is the usual one, so named because the initial product is a compound with three carbon atoms per molecule. In this simplified schematic diagram the carbon dioxide that the leaf has admitted from the surrounding air reacts with ribulose diphosphate (RuDP) in a reaction catalyzed by the enzyme RuDP carboxylase, forming two molecules of phosphoglyceric acid (PGA) with three carbon atoms each. In

subsequent reactions some of the phosphoglyceric acid is converted to end products of photosynthesis and some of it is utilized to regenerate molecules of RuDP so that they can again serve as acceptors of carbon dioxide. The loop thus closed makes the process of fixing carbon dioxide a self-sustaining cycle driven by energy derived from light. End products of photosynthesis are carbohydrates, amino acids and other compounds that plant needs for growth.



FOUR-CARBON PHOTOSYNTHETIC PATHWAY occurs in some specially adapted desert plants. Carbon dioxide entering the leaf reacts with phospho-enol-pyruvate (PEP), a three-carbon compound, to form four-carbon oxaloacetic acid (OAA), from which malic acid and aspartic acid are formed. They are transported from the mesophyll cells, which are in the outer part of the leaf, to the inner bundle-sheath cells. There carbon dioxide is released from

the four-carbon compounds and pyruvic acid, a three-carbon compound, is formed. The carbon dioxide is now fixed again in the usual cycle. The pyruvic acid returns to the mesophyll cells, where it acquires a phosphate group from adenosine triphosphate (ATP) to form PEP, thus regenerating the initial carbon dioxide acceptor molecule. This additional cycle for fixing carbon dioxide helps to increase the overall efficiency of utilizing the carbon dioxide.

Tabela 5 - Subgrupos de plantas C_4

Subgrupo	Exemplos	Enzima fixadora do CO_2 no mesófilo	Forma de translocação do CO_2 do mesófilo para a bainha dos feixes	Enzima responsável pelo descarboxilação de CO_2 na bainha dos feixes	Composto translocado da bainha dos feixes para o mesófilo
NADP-ME	<i>Digitaria sanguinalis</i> <i>Saccharum officinarum</i> <i>Setaria lutescens</i> <i>Sorghum sudanense</i> <i>Zea mays</i>	PEP carboxilase	L-malato	enzima málica ($NADP^+$)	Piruvato
NAD-ME	<i>Amaranthus edulis</i> <i>Amaranthus retroflexus</i> <i>Atriplex spongiosa</i> <i>Panicum miliaceum</i> <i>Portulaca oleracea</i>	PEP carboxilase	L-aspartato	enzima málica (NAD^+)	alanina
PEP-CK	<i>Chloris gayana</i> <i>Panicum maximum</i> <i>Sporobolus fimbriatus</i>	PEP carboxilase	L-aspartato	PEP carboxicimase	PEP

FASE DE DESCARBOXILAÇÃO

SUBGRUPO NADP-ME

Malato desidrogenase (oxaloacetato descarboxilante), EC 1.1.1.40

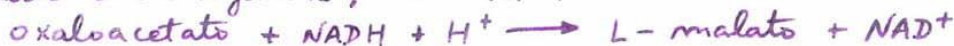


SUBGRUPO NAD-ME

Aspartato aminotransferase, EC 2.6.1.1



Malato desidrogenase, EC 1.1.1.37



Enzima málica (NAD^+) ou
malato desidrogenase (descarboxilante), EC 1.1.1.39



Alanina aminotransferase, EC 2.6.1.2



SUBGRUPO PEP-CK

Aspartato aminotransferase, EC 2.6.1.1



PEP-carboxicimase, EC 4.1.1.49



Tabela 6

Necessidades energéticas do ciclo em C₄ e do ciclo de Calvin por CO₂ fixado para cada um dos subgrupos de plantas C₄.

Sub-grupo	fonte de energia	NECESSIDADES DO CICLO EM C ₄		Necessidades do ciclo de Calvin	Necessidades energética Totais por CO ₂ fixado
		Células do mesófito	Células de bainha dos feixes		
NADP-ME	ATP	2	0	3	5
	NADPH	1	0	1*	2
NAD-ME	ATP	2	0	3	5
	NADPH	0	0	2	2
PEP-CK	ATP	0	1	3	4
	NADPH	0	0	2	2

* Forma-se um NADPH na reação de descarboxilação catalisada pela enzima malato desidrogenase (oxaloacetato descarboxilante) (NADP⁺).

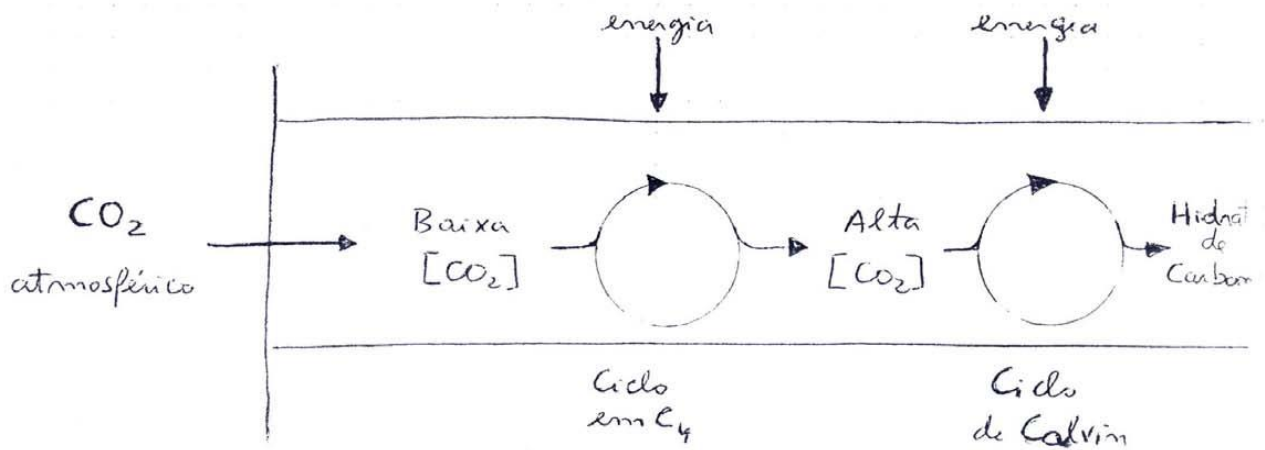


Fig. 2 - Fotossíntese em C_4

Algumas plantas desenvolvem uma bomba metabólica de CO_2 , movida por compostos ricos em energia, a qual capta o CO_2 atmosférico numa corrente exterior de células fotossintéticas (mesófilas), enviando-o para uma corrente mais interior (bomba das folhas) onde é assimilado.

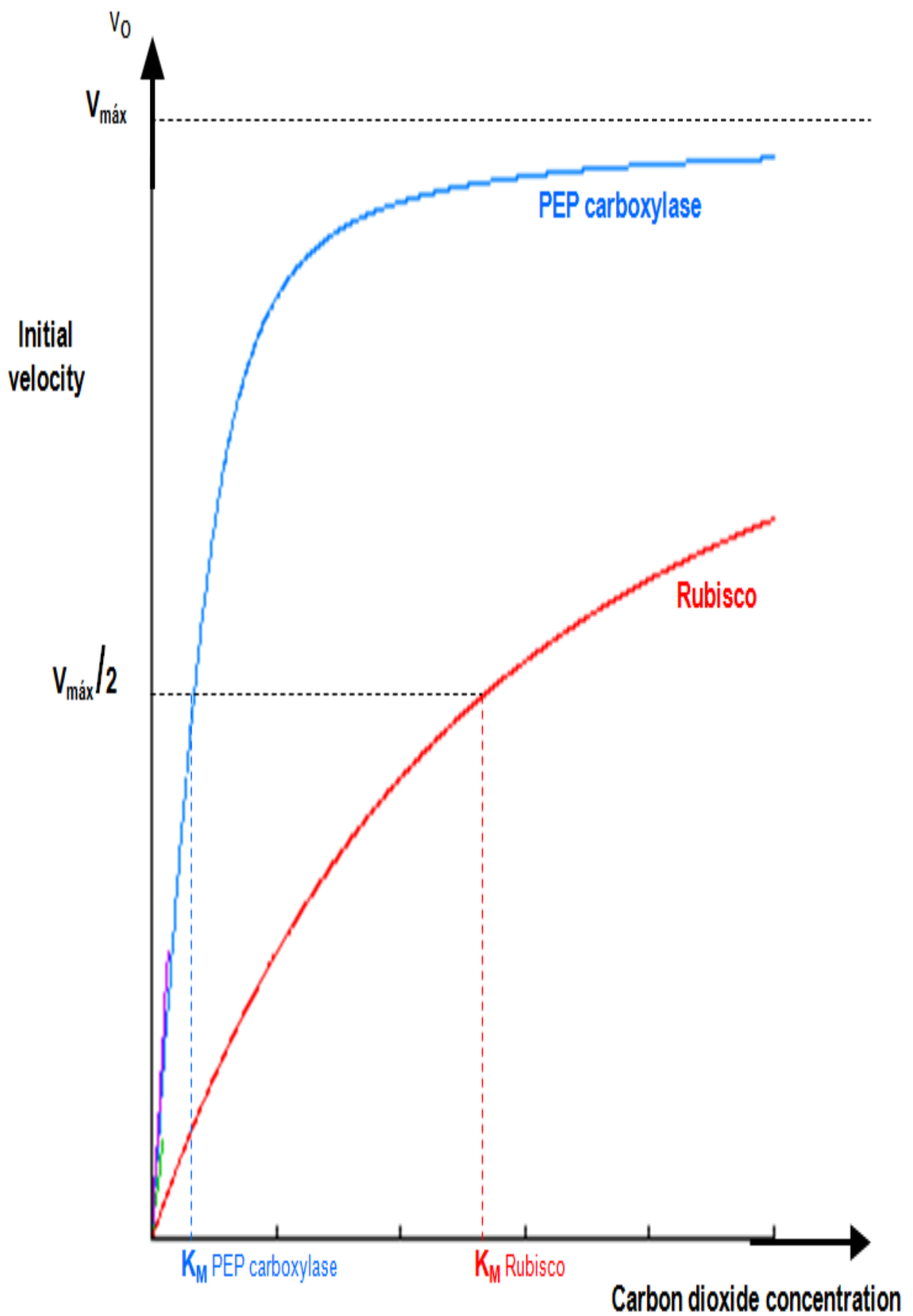


Tabela 7

Características fotossintéticas intermediárias entre C₃ e C₄ de Panicum milioides.

Características	Planta C ₃ típica	<u>P. milioides</u>	Planta C ₄ típica
Ponto de compensação para O ₂ (ppm)	40-60	16	0-5
Inibição da fotossíntese pelo oxigênio (21% versus 2% [O ₂])	30%	15-20%	0%
Atividade relativa da PEP carboxilase	27	147	>1000
Anatomia foliar	mão-Kranz	intermédia	Kranz

Algumas questões:

1 - A concentração de CO_2 na atmosfera está a aumentar.

- a) Defina ponto de compensação para o CO_2 .
- b) Tendo por base o conceito da alínea anterior, explique quais das plantas, C_3 ou C_4 , terão mais sucesso devido a este aumento.
- c) Indique resumidamente quais as resistências à difusão CO_2 desde o exterior da folha até ao cloroplasto.

2 - Considere uma planta de milho.

- a) Porque é que esta planta se classifica como C_4 ?
- b) Qual a principal diferença entre a enzima PEP carboxilase e a Rubisco que justifica que o milho cresça muito melhor em determinadas condições que as plantas C_3 ?
- c) Qual a principal função da via em C_4 ?
- d) Descreva, justificando, um conjunto de condições ambientais em que uma planta C_3 típica cresça melhor que o milho.

3 – Defina, resumidamente, os conceitos de planta C_4 e de fotorrespiração;

- a) Qual a enzima responsável pela catálise da reacção inicial de fixação do CO_2 numa planta C_3 ? Escreva essa reacção;
- b) Qual a explicação bioquímica para o ponto de compensação para o CO_2 das plantas C_4 ser muito mais baixo do que o das plantas C_3 ?
- c) Num clima como o de Inglaterra, uma planta de trigo pode crescer melhor que uma planta de milho. Explique porquê.

4 – Defina, resumidamente, os conceitos de planta C_3 e de planta CAM;

- a) Qual a enzima responsável pela catálise da reacção inicial de fixação do CO_2 numa planta C_4 ? Escreva essa reacção;
- b) Indique duas razões bioquímicas que expliquem a taxa de crescimento muito superior das plantas C_4 em condições óptimas, quando comparadas com as plantas C_3 ;
- c) Dê três razões para a ausência de sintomas da fotorrespiração numa planta C_4 .

5 – A concentração de CO_2 na atmosfera está a aumentar.

- a) Defina ponto de compensação para o CO_2 .
- b) Identifique o motivo pelo qual o ponto de compensação para o CO_2 das plantas C_4 é muito inferior ao das plantas C_3 .
- c) Indique, justificando, quais das plantas, C_3 ou C_4 , terão mais sucesso devido a este aumento.

5 - Defina, justificando objectivamente mas sucintamente, condições ambientais em que:

- a) Uma planta de trigo tenha um desenvolvimento inferior ao de uma planta de milho;
- b) Uma planta de milho tenha um desenvolvimento inferior ao de uma planta de trigo.

6 - O aumento de temperatura ao longo de um dia de Verão

provoca, tipicamente, um grande incremento na actividade fotorrespiratória de uma planta de trigo porque (selecione, com um X, as duas opções correctas que justificam esta afirmação; **Nota: a selecção de opções erradas desconta na classificação**):

- Aumenta a taxa de catálise da PEP carboxilase;
- Aumenta a solubilidade do oxigénio na água relativamente à do dióxido de carbono;
- O fecho dos estomas conduz a uma diminuição da concentração intracelular de oxigénio;
- O fecho dos estomas conduz a uma diminuição da concentração intracelular de dióxido de carbono;

- Aumenta a abertura dos estomas para permitir uma maior taxa de transpiração.

b) não afecta, de modo significativo, a actividade fotorrespiratória de uma planta de milho porque (selecione, com um X, as duas opções correctas que justificam esta afirmação; **Nota: a selecção de opções erradas desconta na classificação**):

- O fecho dos estomas aumenta a concentração intracelular de oxigénio;
- O funcionamento da via HSK permite aumentar o valor da razão $[CO_2] / [O_2]$ junto dos centros activos da Rubisco;
- O fecho dos estomas diminui a taxa de transpiração;
- O aumento da temperatura eleva o valor da constante de especificidade τ ;
- O fecho dos estomas reduz a concentração intracelular de dióxido de carbono, o que não é muito importante porque a PEP carboxilase apresenta um K_m muito baixo para o HCO_3^- .

7 - Considere uma planta de milho.

- a) Porque é que esta planta se classifica como C_4 ?
- b) Qual a principal diferença entre a enzima PEP carboxilase e a Rubisco que justifica que o milho cresça muito melhor em determinadas condições que as plantas C_3 ?
- c) Qual a principal função da via em C_4 ?
- d) Descreva, justificando, um conjunto de condições ambientais em que uma planta C_3 típica cresça melhor que o milho.

8 – As figuras seguintes referem-se às duas principais enzimas responsáveis pelas reacções de carboxilação numa folha de milho.

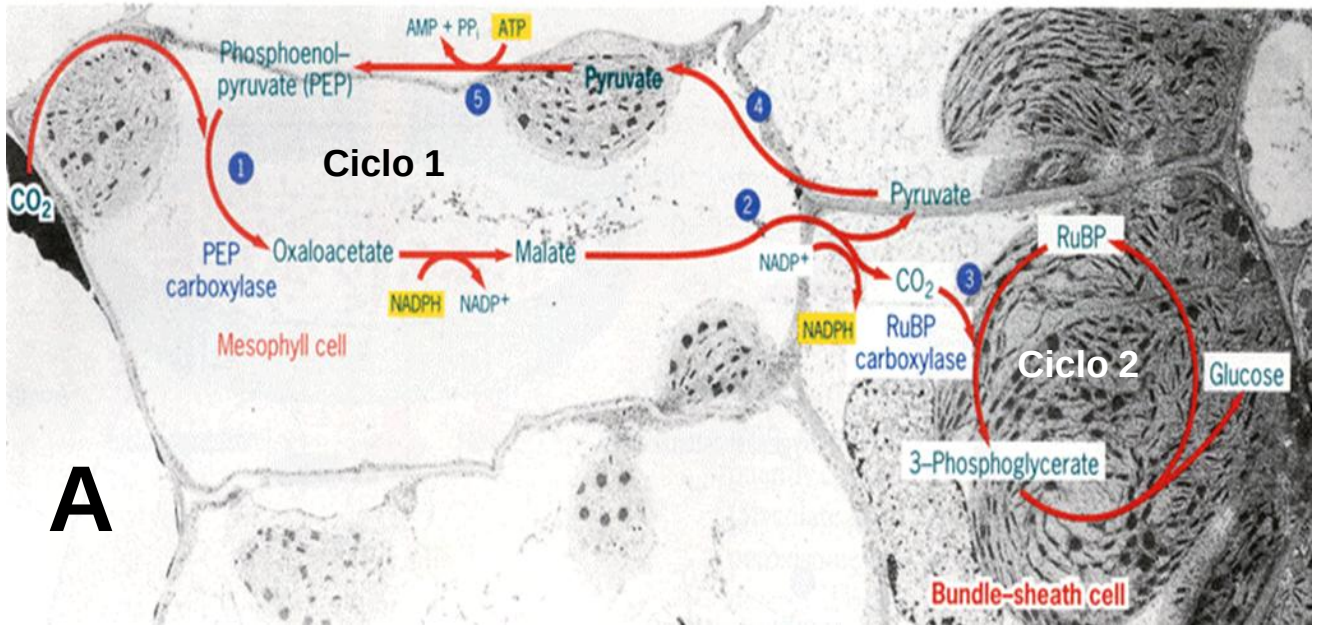
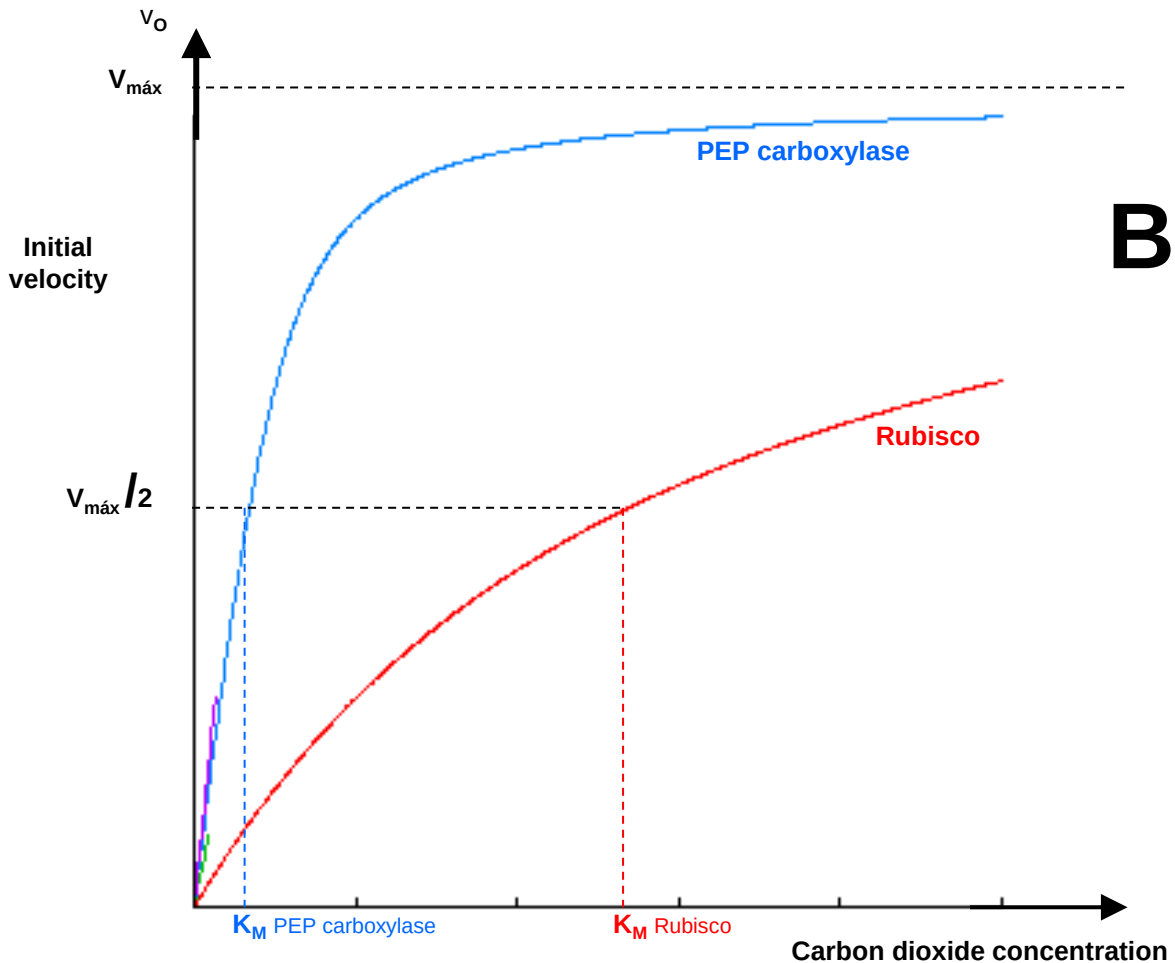


Figura extraída da apresentação do grupo 14.



- Indique o nome dos dois ciclos metabólicos 1 e 2 representados em A.
- Identifique os dois locais principais de consumo de ATP e de NADPH em A.
- Com base nas respostas anteriores, explique porque é que as plantas C4 apresentam pontos de compensação para a luz mais elevados do que os das plantas C3.
- Explique detalhadamente (sem descrever a cadeia de transporte de electrões) porque é necessária luz para a fosforilação do ADP e para a redução do NADP⁺ na cadeia de transporte de electrões do cloroplasto?
- Descreva as duas funções básicas do ciclo 1 representado em A.
- Com base em B e na resposta à alínea anterior, explique o melhor desempenho das plantas C4 relativamente às C3 em condições não limitantes de luz e de disponibilidade hídrica.
- Com base em B, explique porque é que as plantas C4 apresentam pontos de compensação para o CO₂ muito inferiores aos das C3.
- Com base em A e B, explique porque uma planta de milho não liberta CO₂ mesmo quando exposta à luz numa atmosfera desprovida de CO₂.

9 - As plantas com metabolismo fotossintético do tipo C4 são subdivididas de acordo com a enzima descarboxilativa que utilizam na fase de descarboxilação. Responda sucintamente às seguintes questões:

- Quais os nomes dos grupos em que se subdividem as plantas C4 e quais as respectivas enzimas descarboxilativas?
- Qual a função das enzimas descarboxilativas?
- Considere uma planta de trigo, uma de milho e um mutante de milho que expresse uma actividade muito baixa da enzima descarboxilativa. **Justificando**, compare estas três plantas em termos de (i) crescimento global e de (ii) ponto de compensação para o CO₂.

10 - Considere uma planta de trigo e uma planta de milho colocadas lado a lado numa câmara de crescimento de plantas onde pode controlar rigorosamente a iluminação, temperatura, disponibilidade geral em água (no solo e no ar circundante, bem como o vento) e concentração de CO₂.

- Preencha a tabela seguinte de modo a definir um conjunto de condições que permitam ao milho sintetizar hidratos de carbono à custa de compostos orgânicos de carbono do trigo.

	Iluminação (Muita luz, pouca luz ou escuro)	Temperatura (°C)	Disponibilidade hídrica (Sem falta de água, défice hídrico moderado ou défice hídrico severo)	Concentração de CO ₂ (ppm)
Condições				

- Justifique.