

FISIOLOGIA VEGETAL

2013-2014

Ricardo Boavida Ferreira

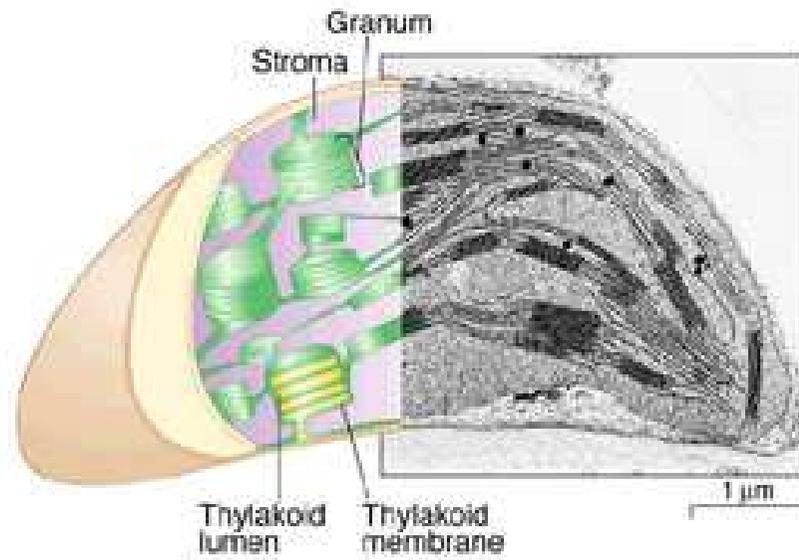
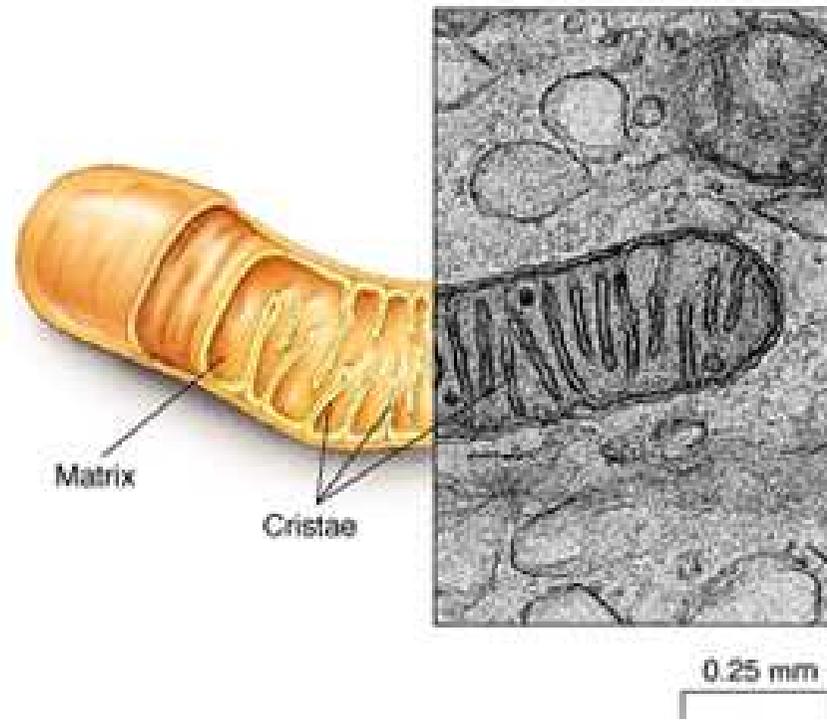
Aulas T-24, T-25 e T-26

Cap. II - METABOLISMO DO CARBONO

Respiração nas plantas

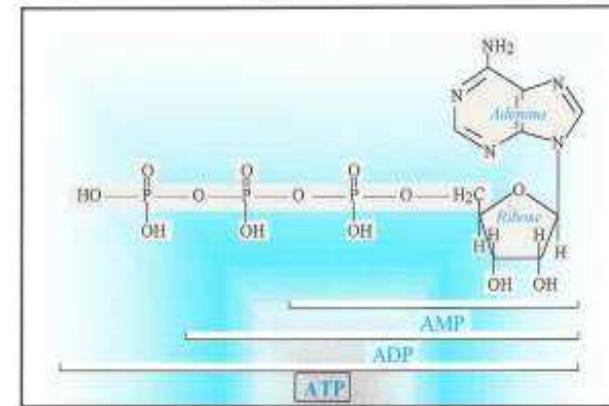
Aula T-25

A cadeia respiratória dos mitocôndrios vegetais: as vias alternativas de transporte de electrões do NADH e do FADH₂ ao O₂ e a oxidase terminal insensível ao cianeto. Possíveis funções das vias alternativas não fosforilativas.



Há três vias diferentes para a formação de ATP na natureza

- Fosforilação a nível do substrato (glicólise e ciclo do ácido cítrico)



- Fosforilação oxidativa (transferência de electrões ao longo da cadeia respiratória das células aeróbias), em que o *OXIGÉNIO* é aceitador final de electrões – cadeia de transporte de electrões - **CTE (mitocôndrios)**
- Reacções fotoquímicas da fotossíntese (conversão da energia luminosa em energia química) – **fotofosforilação (cloroplastos)**

ATP yield during respiration

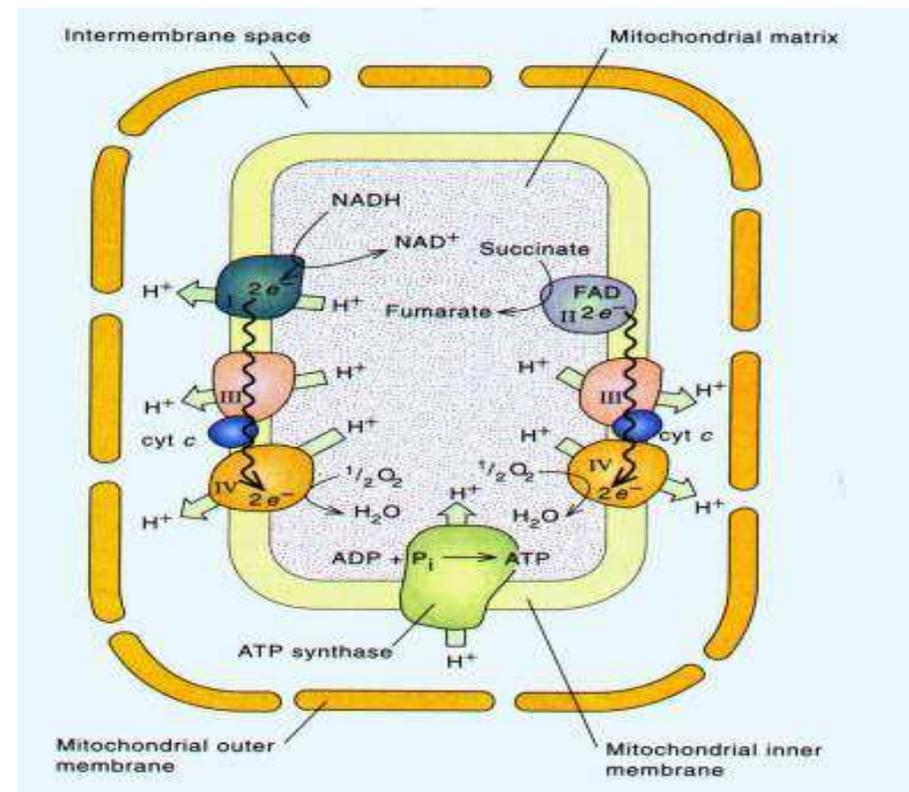
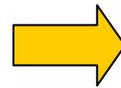
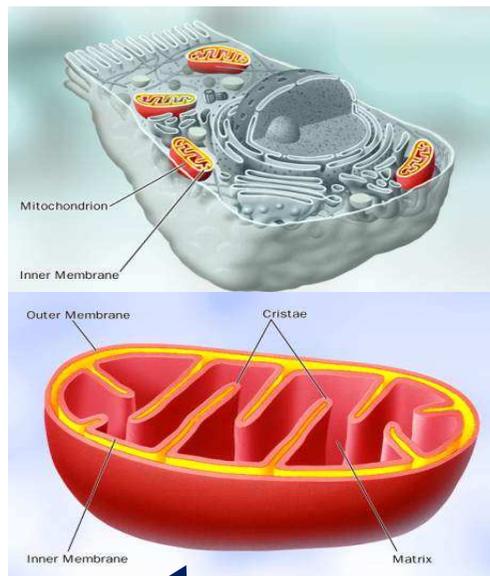
- **Total ATP molecules from respiration of one molecule sucrose = 60**

About 52% of energy is released from one sucrose molecule by oxidation

Only about 4% from the fermentation process

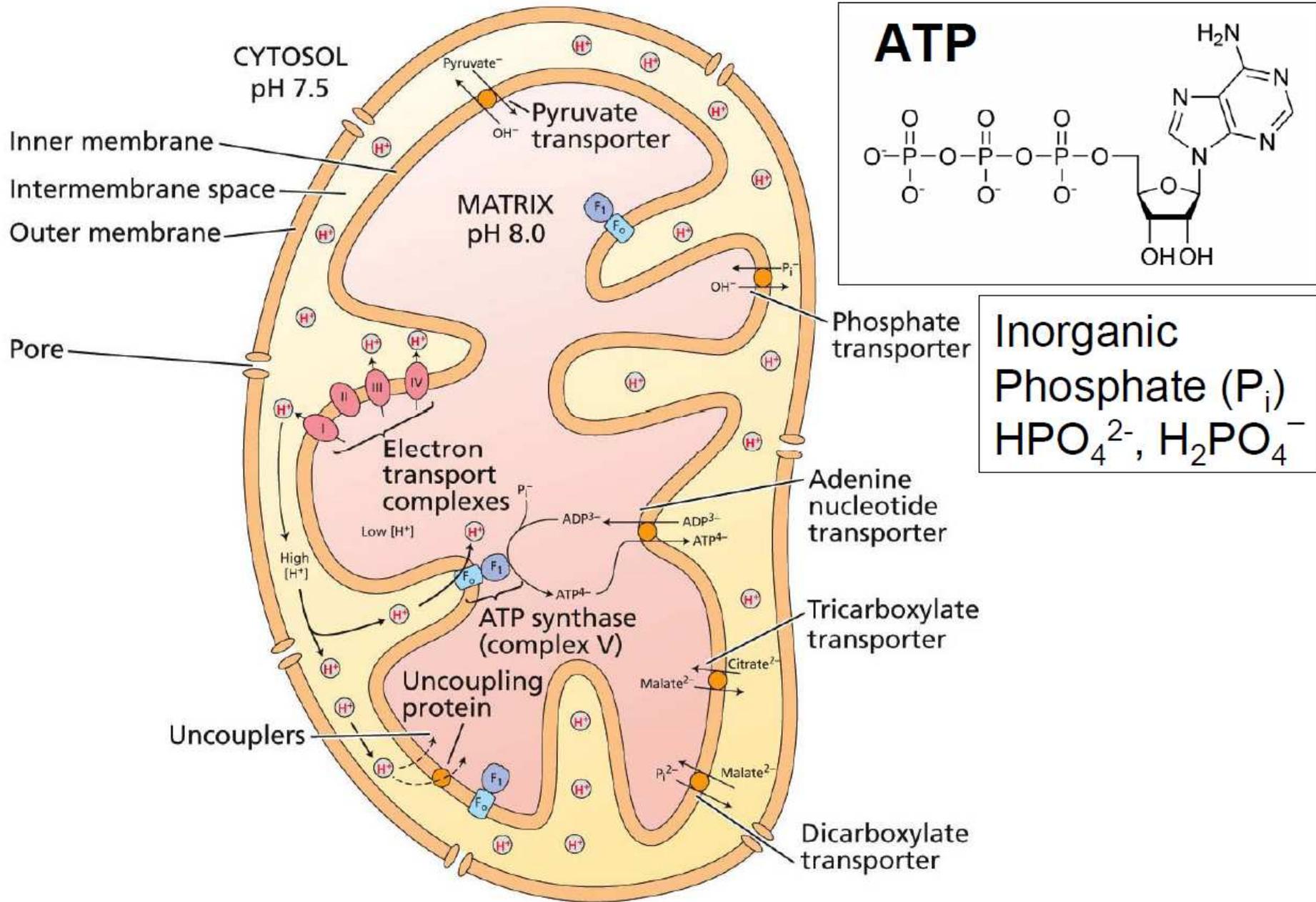
Localização da cadeia de transporte de electrões (CTE) nas células eucariotas

A CTE está localizado na **membrana interna** dos mitocôndrios:



mitocôndrio

Transmembrane transport in plant mitochondria



Na cadeia mitocondrial de transporte de electrões, um fluxo de electrões está acoplado à síntese de ATP – **Teoria quimiosmótica**.

A respiração celular é um processo essencialmente oxidativo devido ao destino dos substratos respiratórios, quer sejam hidratos de carbono, proteínas ou lípidos.

Mas a oxidação de qualquer substrato está obrigatoriamente associada à redução simultânea de outra substância.

Durante o funcionamento da glicólise e do ciclo do ácido cítrico, as reacções de oxidação-redução transferem electrões dos substratos para o NAD^+ e o FAD , ficando os primeiros oxidados e os últimos reduzidos a NADH e a FADH_2 , respectivamente.

Na cadeia mitocondrial de transporte de electrões, o transporte dos electrões do NADH e do FADH_2 para o oxigénio molecular tem duas funções principais:

- Regenerar o NAD^+ e o FAD necessários ao funcionamento continuado da glicólise e do ciclo do ácido cítrico;
- Armazenar parte da energia libertada sob a forma de ATP.

O processo de síntese do ATP que decorre durante o transporte dos electrões do NADH ou do FADH_2 para o O_2 denomina-se **fosforilação oxidativa**.

Constitui a principal fonte de ATP nos organismos aeróbios heterotróficos.

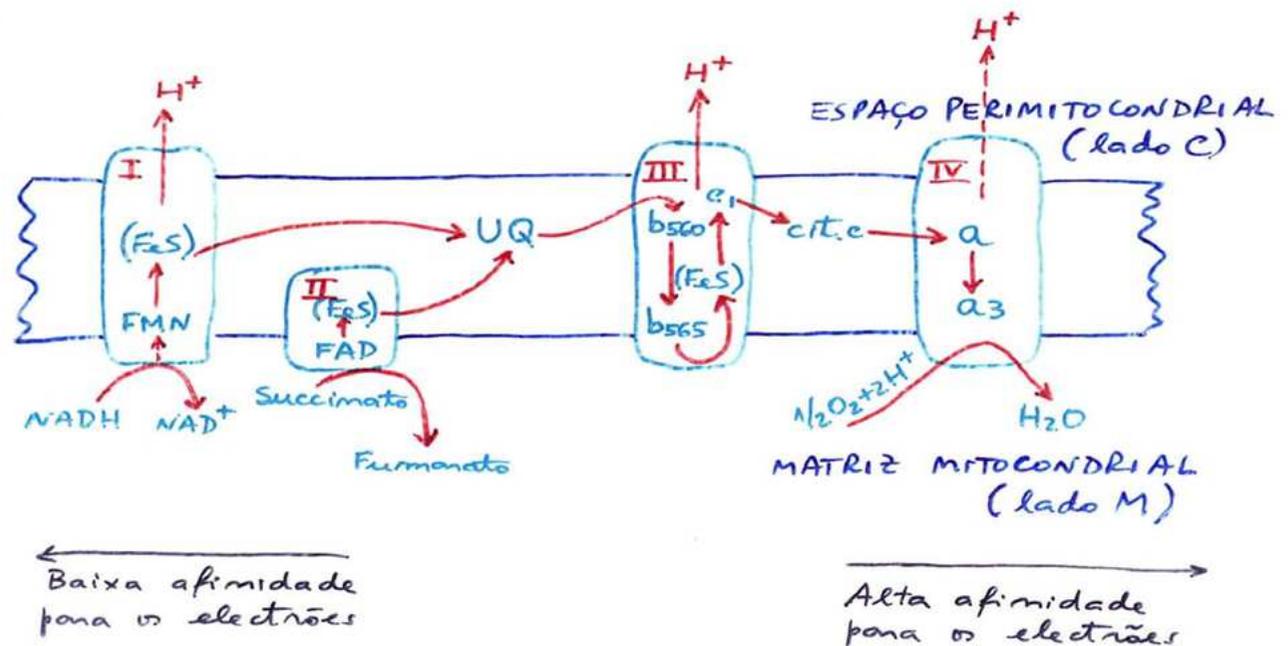
Das 30 a 36 moléculas de ATP formadas por oxidação completa de uma molécula de glucose a CO_2 e H_2O , 26 a 32, respectivamente, são formadas por fosforilação oxidativa.

A cadeia mitocondrial de transporte de electrões ou cadeia respiratória das células vegetais é mais complexa do que a das células animais.

Podemos, assim, considerar:

- A via principal de transporte de electrões, que ocorre nos mitocôndrios vegetais e animais, dita via citocrómica ou via sensível ao cianeto;**
- As vias alternativas de transporte de electrões, que ocorrem exclusivamente nos mitocôndrios vegetais.**

A via principal de transporte de electrões, via citocrómica ou via sensível ao cianeto



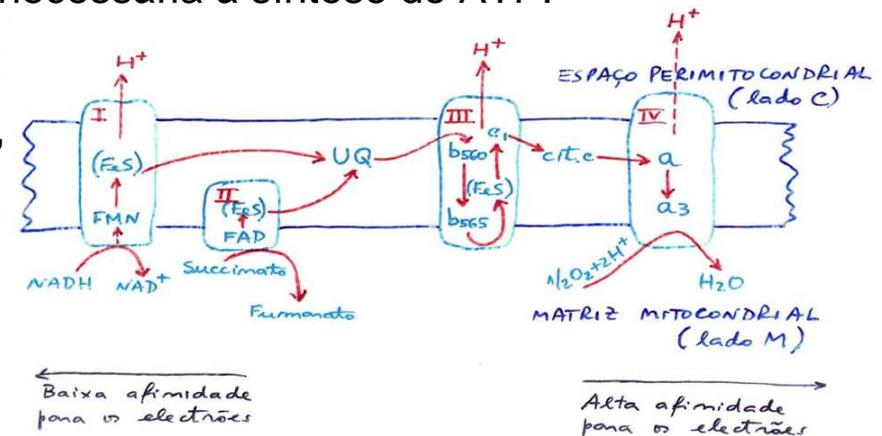
A cadeia respiratória é composta por um grupo de proteínas transportadoras de electrões, localizadas nas membranas internas dos mitocôndrios.

O arranjo vectorial destes transportadores permite que os electrões do NADH e FADH₂ sejam transferidos para o O₂ ao longo de transportadores cujos potenciais redox vão sendo sucessivamente mais positivos.

O transporte de electrões está acoplado à síntese de ATP, porque a passagem dos electrões origina uma tgranslocação de protões (da matriz para o espaço perimitocondrial), o qual cria um potencial electroquímico que constitui a força motriz necessária à síntese do ATP.

A cadeia respiratória está organizada em 4 complexos proteicos supramoleculares (complexos I, II, III e IV), os quais estão ligados entre si por transportadores móveis:

- A ubiquinona (UQ) ou coenzima Q (CoQ) liga os complexos I e II ao III;
- O citocromo c liga o complexo III ao complexo IV.



A maioria das moléculas transportadoras contém Fe, o qual, oscilando entre a sua forma reduzida (Fe²⁺) e a forma oxidada (Fe³⁺), permite o transporte de electrões. São exemplos os citocromos e as ferrossulfoproteínas (FeS).

Os transportadores assumem um arranjo vectorial no interior da membrana, sequenciando-se de acordo com a sua afinidade para os electrões. Assim, os electrões passam rapidamente dos transportadores de menor afinidade para os de maior afinidade.

O último transportador da cadeia, o citocromo a₃ (um constituinte do complexo IV, a oxidase terminal da cadeia respiratória, conhecida por citocromo oxidase), tem uma afinidade para os electrões que só é ultrapassada pela do aceitador final dos electrões, o oxigénio.

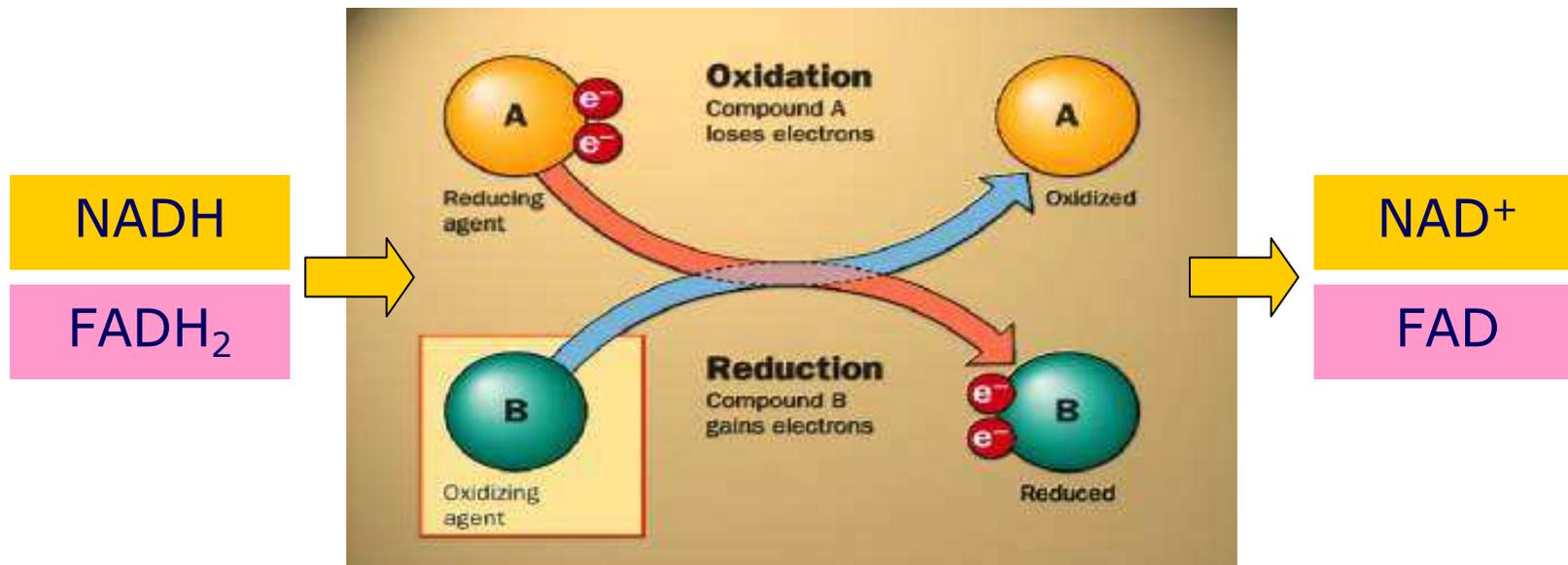
$$\Delta G'^0 = -n F \Delta E'_0$$

Electron transport chain

- **Catalyzes a flow of electrons from NADH to O₂**
- **Electron transport is coupled with formation of proton gradient → used for ATP synthesis**
- **Consists of 5 complexes:**
 - Complex I (NADH dehydrogenase)
 - Complex II (Succinate dehydrogenase)
 - Complex III (Cytochrome bc₁ complex)
 - Complex IV (Cytochrome c oxidase)
 - Complex V (ATP synthase)

O transporte de electrões na CTE consiste numa sucessão de reacções de oxidação-redução

Inicia-se por transferência dos electrões transportados pelas coenzimas reduzidas NADH e FADH₂



O NADH e a FADH₂ são moléculas ricas em energia, porque cada uma delas possui um par de electrões com um elevado potencial de transferência:



Têm, por isso, potenciais de redução negativos, ao passo que o O₂ tem um potencial de redução fortemente positivo ($E'_0 = +0,82 \text{ V}$).

Como o NADH tem um potencial de redução mais negativo que o FADH₂, a sua oxidação pelo O₂ liberta mais energia do que a do FADH₂:



Por este motivo, na cadeia de transporte de electrões, a oxidação de uma molécula de NADH dá origem à síntese de 2,5 a 3 moléculas de ATP, enquanto que a oxidação de uma molécula de FADH₂ fornece apenas 1,5 a 2 moléculas de ATP.

Os electrões do NADH e a FADH₂ não são transferidos directamente para o O₂. Eles são transferidos através de uma série de moléculas transportadoras, cujos potenciais de redução vão aumentando sucessivamente até ao O₂.

Isto permite libertar a energia em pequenas porções, tornando termodinamicamente mais eficiente a sua conservação sob a forma de ATP.

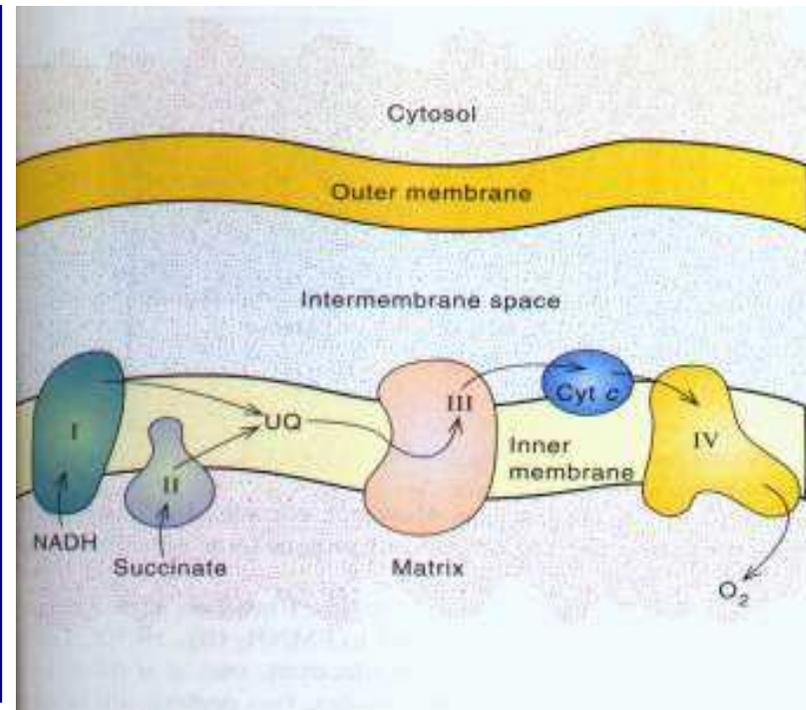
Transportadores de electrões na CTE

Dá-se por etapas, envolvendo **transportadores de electrões** específicos, desde o NADH ou FADH₂ até ao oxigénio molecular (aceitador final)

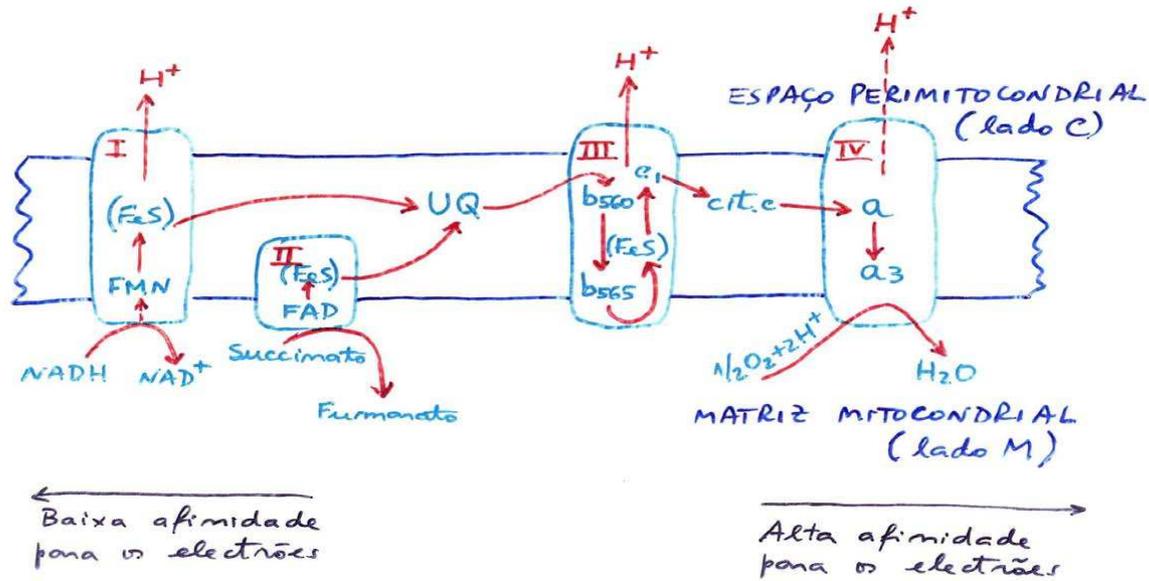
Os transportadores de electrões ocorrem em **4 complexos proteicos supramoleculares**, dispostos numa sequência bem definida:

Complexos I, II, III e IV

- São estruturalmente diferentes, constituídos por várias proteínas: Flavoproteínas, Complexos proteicos de Fe-Cu e Fe-S, Ubiquinona (UQ ou coenzima Q), Citocromos



VIA PRINCIPAL DE TRANSPORTE DE ELECTRÕES DOS MITOCÔNDRIOS VEGETAIS (DO NADH AO O₂), MOSTRANDO OS COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES I, II, III e IV.



cadeias de transporte de electrões

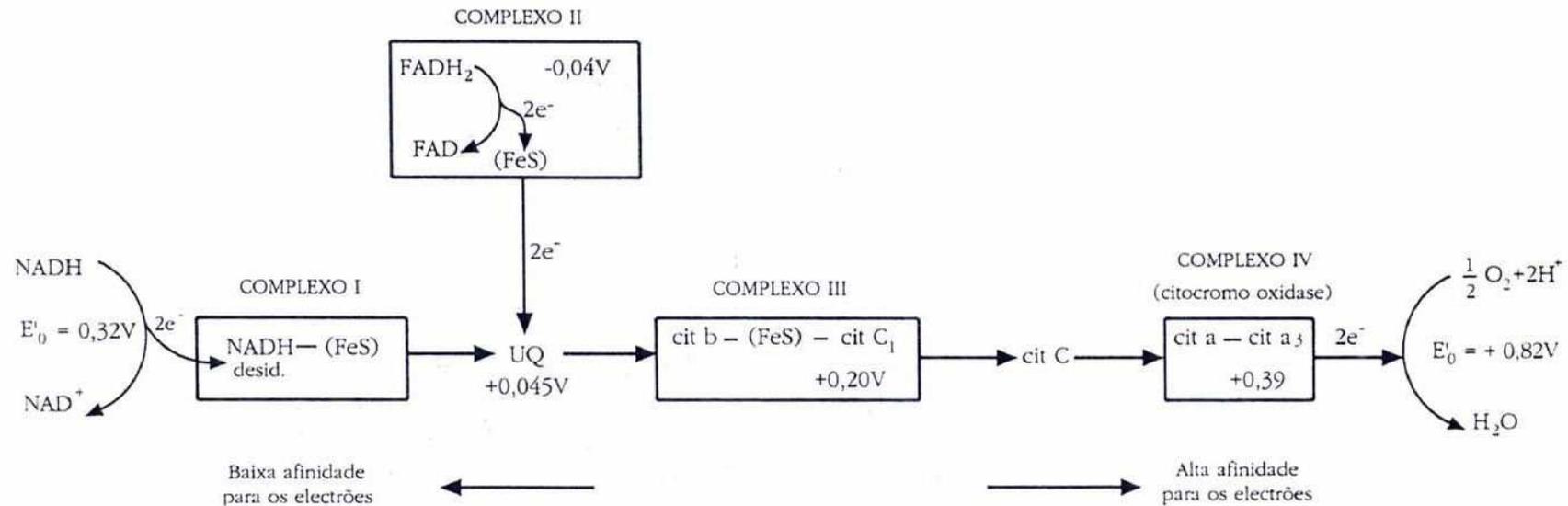


Fig. 1 — Esquema da sequência linear dos transportadores de electrões da cadeia respiratória. Os rectângulos representam complexos proteicos supramoleculares cujos constituintes permanecem agregados após fragmentação parcial da membrana mitocondrial. NADH, NADH*, nicotinamida adenina dinucleótido reduzida e oxidada; FADH₂, FAD, flavina adenina dinucleótido reduzida e oxidada; FeS, ferrossulfoproteína; cit, citocromo; UQ, ubiquinona; A UQ e o cit C são transportadores móveis na fase lipídica da membrana.

- A cadeia respiratória está organizada em 4 complexos proteicos supramoleculares (complexos I, II, III e IV), os quais estão ligados entre si por transportadores móveis:
- A ubiquinona (UQ) ou coenzima Q (CoQ) liga os complexos I e II ao III;
 - O citocromo c₁ liga o complexo III ao complexo IV.

O complexo I é uma NADH desidrogenase que transporta os elétrons do NADH à ubiquinona (UQ):

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{UQ} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{UQH}_2$$

É constituído por flavina mononucleótido (FMN) e por 3 ou 4 centros de ferrossulfoproteína (Fe-S)

O complexo II é uma succinato: ubiquinona oxidoreductase:

$$\text{Succinato} + \text{UQ} \rightarrow \text{fumarato} + \text{UQH}_2$$

A succinato desidrogenase do ciclo do ácido cítrico é parte integrante do complexo II, o qual possui flavina ademais dinucleótido (FAD) e 3 centros Fe-S

O complexo III é uma ubiquinol: ferricitocromo c₁ oxidoreductase:

$$\text{UQH}_2 + 2 \text{cit. c} (\text{Fe}^{3+}) \rightarrow \text{UQ} + 2 \text{cit. c} (\text{Fe}^{2+}) + 2 \text{H}^+$$

Transfere os elétrons de UQ reduzida (ubiquinol) ao citocromo c₁, através de 2 citocromos do tipo b, de um centro Fe-S e do citocromo c₁

O complexo IV é uma ferricitocromo c₁: oxigénio oxidoreductase:

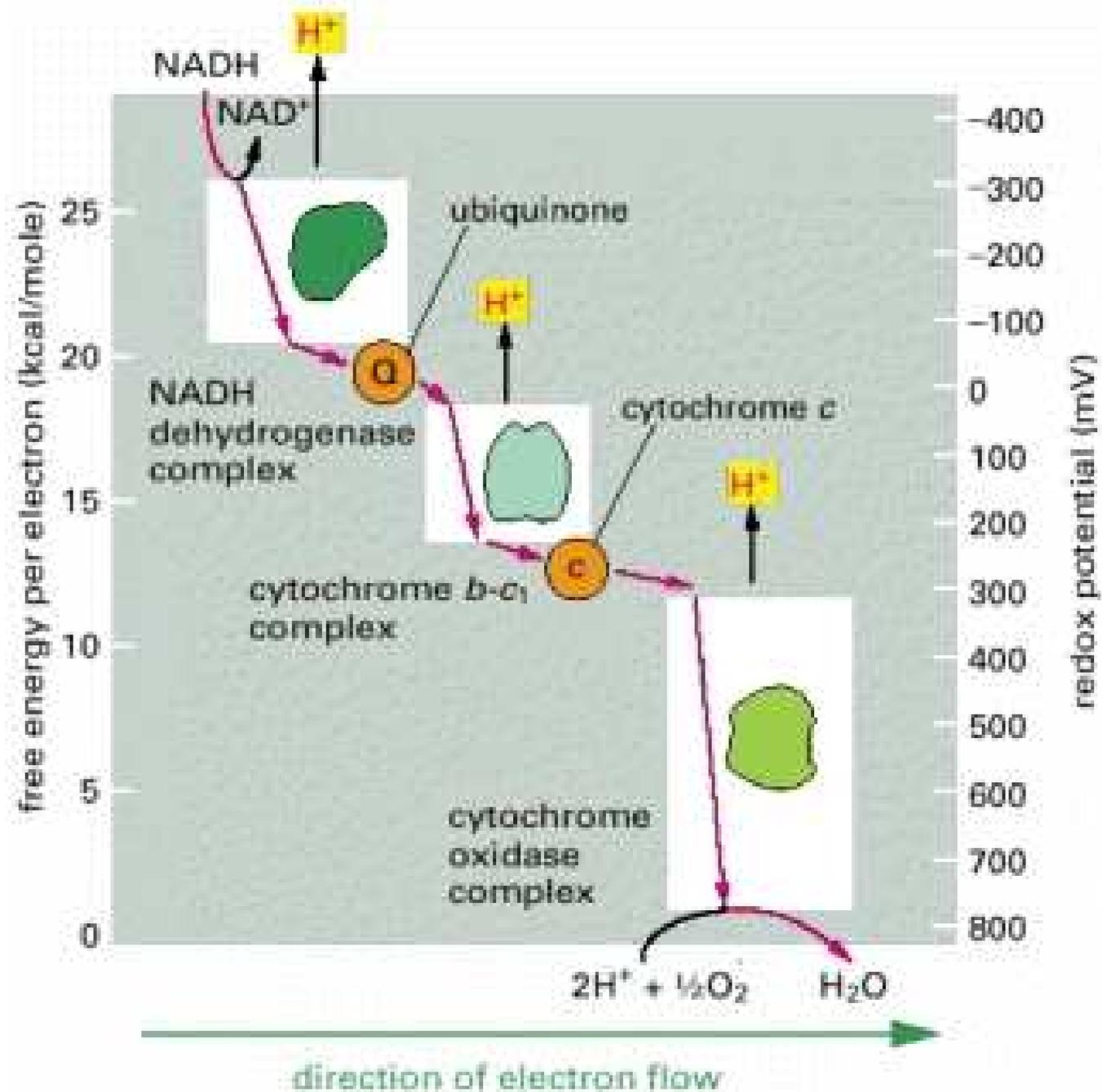
$$4 \text{cit. c} (\text{Fe}^{2+}) + \text{O}_2 \rightarrow 4 \text{cit. c} (\text{Fe}^{3+}) + \text{H}_2\text{O}$$

É a oxidase terminal da cadeia respiratória, sendo convenientemente designada por citocromo oxidase. Contém dois citocromos do tipo a (a e a₃) e 2 átomos de cobre.

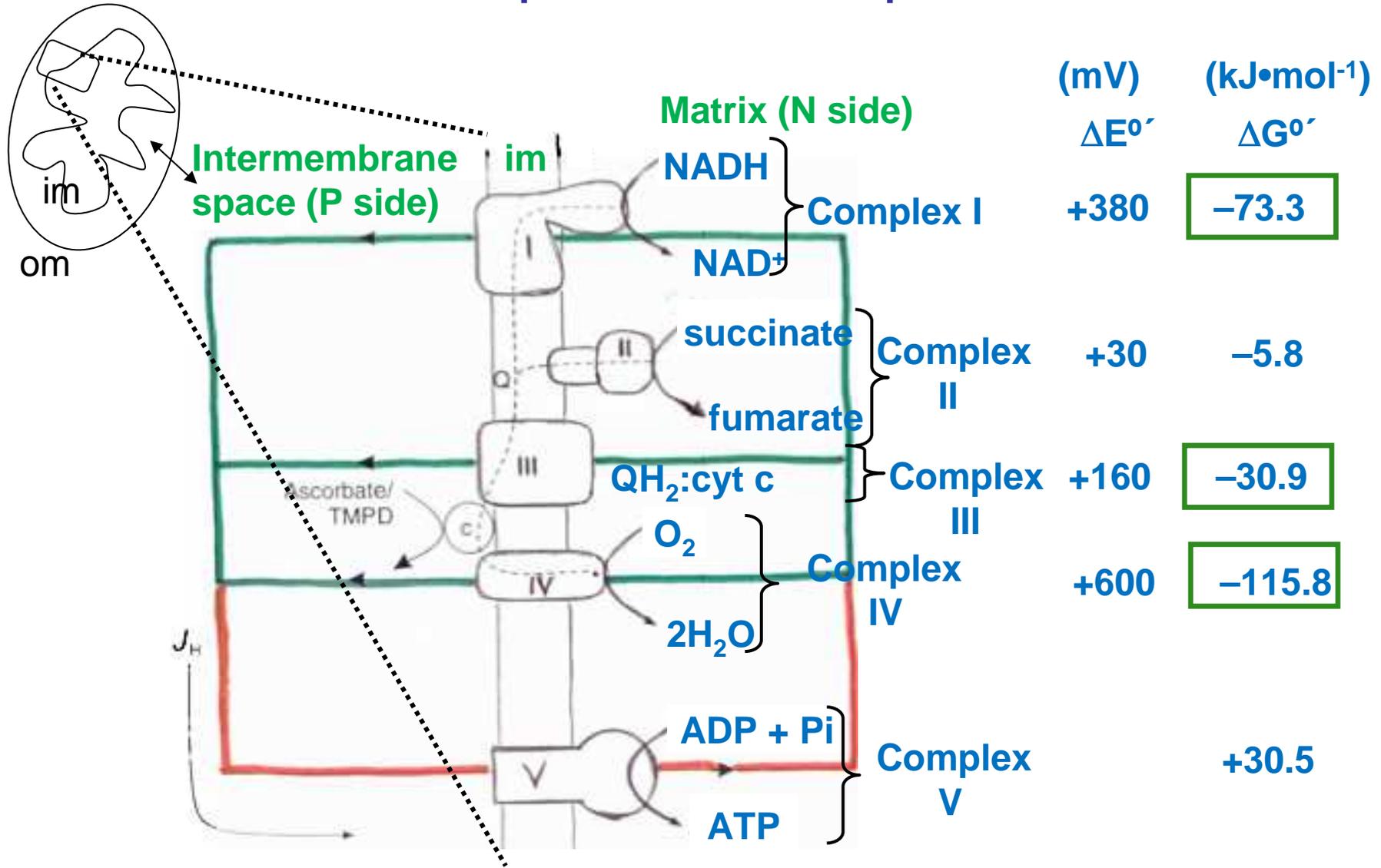
Table 18–2 Standard reduction potentials for respiratory chain and related electron carriers

Redox reaction (half-reaction)	E_0' (V)
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow$ $\text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2\text{)}$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b \text{ (Fe}^{3+}\text{)} + \text{e}^- \longrightarrow \text{cytochrome } b \text{ (Fe}^{2+}\text{)}$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 \text{ (Fe}^{3+}\text{)} + \text{e}^- \longrightarrow \text{cytochrome } c_1 \text{ (Fe}^{2+}\text{)}$	0.22
$\text{Cytochrome } c \text{ (Fe}^{3+}\text{)} + \text{e}^- \longrightarrow \text{cytochrome } c \text{ (Fe}^{2+}\text{)}$	0.254
$\text{Cytochrome } a \text{ (Fe}^{3+}\text{)} + \text{e}^- \longrightarrow \text{cytochrome } a \text{ (Fe}^{2+}\text{)}$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 \text{ (Fe}^{3+}\text{)} + \text{e}^- \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 \text{ (Fe}^{2+}\text{)}$	0.55
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816

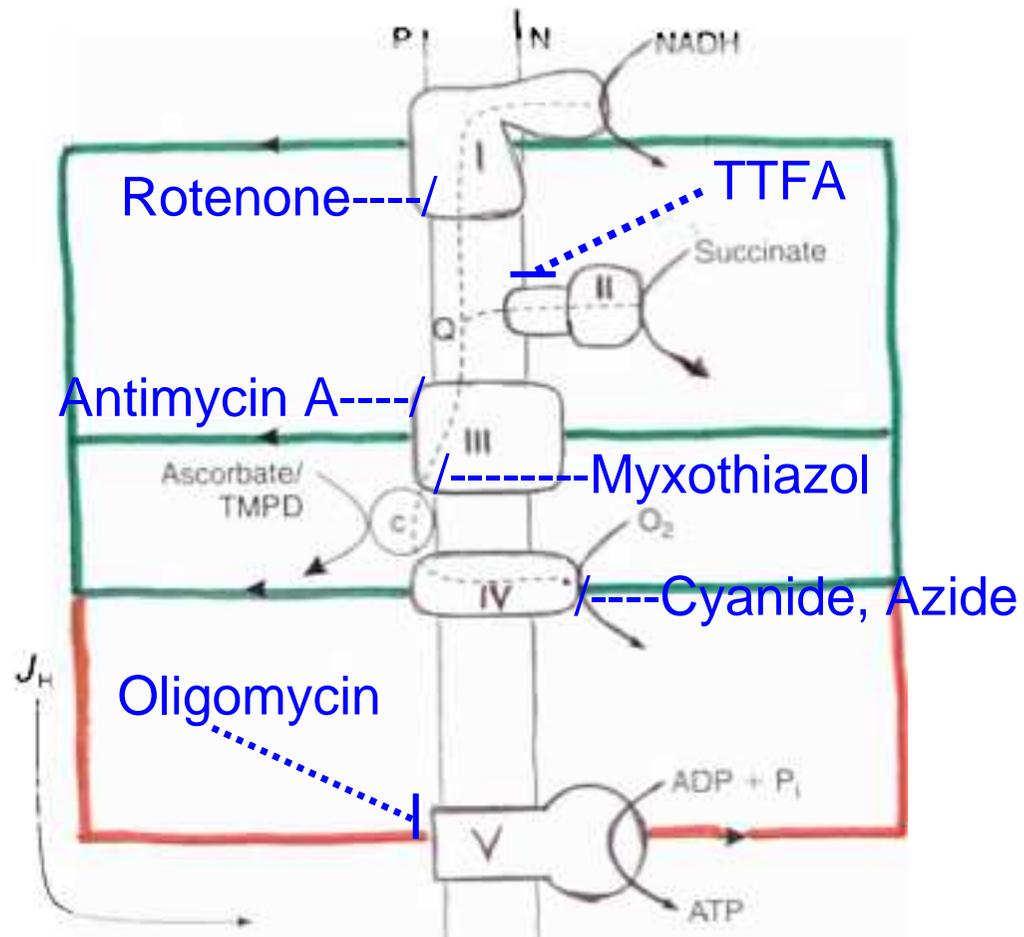
Bioenergética da cadeia mitocondrial de transporte de electrões



The e⁻ transport chain and the proton circuit



The e⁻ transport chain and the proton circuit - INHIBITORS



Electrochemical Gradients

X (OUT)

X (IN)

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2.3 R T \text{ Log } \frac{[X(\text{OUT})]}{[X(\text{IN})]}$$

$$\Delta G = 0 + 5.7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \text{ Log } \frac{[X(\text{OUT})]}{[X(\text{IN})]}$$

ΔG 5.7
kJ \cdot mol $^{-1}$

$\frac{[X(\text{OUT})]}{[X(\text{IN})]}$

0

1

5.7

10

11.4

10²

22.8

10⁴

34.3

10⁶

**Big enough to drive
ATP Synthesis!**

**Pump X out and couple its
transport back in to ATP
synthesis**

Ion electrochemical Gradient = $\Delta\mu_{X_{m+}}$

H⁺ (P)

H⁺(N)

$\Delta\Psi = \text{P phase} - \text{N phase}$
= membrane potential

$$\Delta G = -n F \Delta\Psi + 2.3 R T \text{Log} \frac{[X(\text{OUT})]}{[X(\text{IN})]}$$

$\Delta\mu_{X_{m+}}$

Proton electro-
chemical gradient =

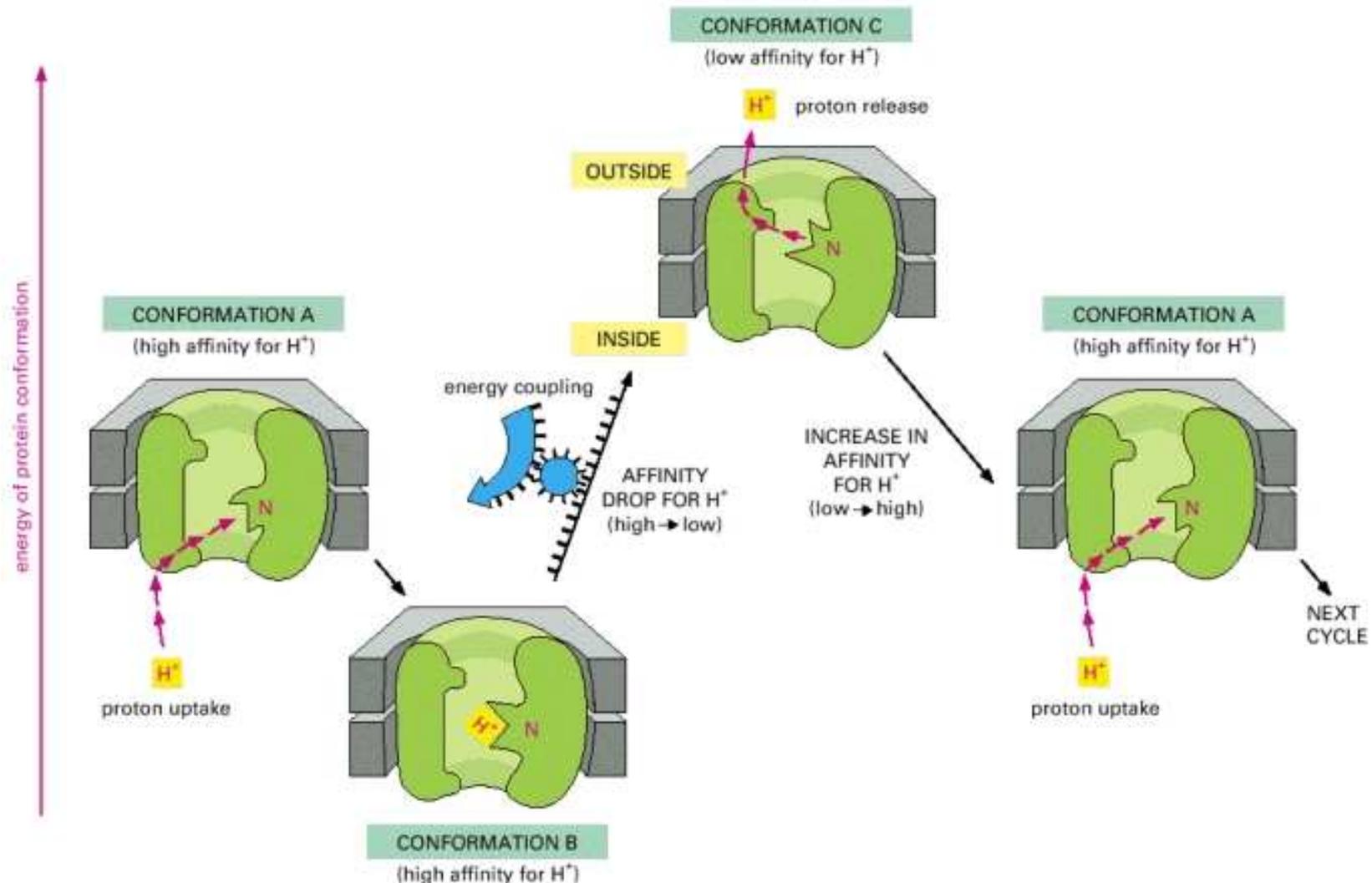
$$\Delta\mu_{H^+} = -F \Delta\Psi + 2.3 R T \Delta\text{pH}$$

Concentration gradient for H⁺ in respiring mitochondria is usually negative because low pH (acidic) on P side (P phase – N phase)

$$\text{Proton Motive Force} = \Delta p = \frac{-\Delta\mu_{H^+}}{F} = \Delta\Psi - \frac{2.3 R T \Delta\text{pH}}{F}$$

$$\Delta p \text{ (mV)} = \Delta\Psi - 60 \Delta\text{pH}$$

Modelo proposto para o funcionamento acoplado da translocação de prótons / cadeia de transporte de electrões



As alterações de conformação A→B e C→A ocorrem com $\Delta G < 0$ e, por isso, espontaneamente. As mudanças de conformação B→C são endergónicas ($\Delta G > 0$), requerendo, por isso, o fornecimento de energia para funcionarem de modo espontâneo. Essa energia é libertada e fornecida pelo transporte de electrões ao longo da CTE. O funcionamento do ciclo global A→B→C→A ... ocorre com $\Delta G < 0$, o que faz com que os prótons sejam

Organization of mitochondrial electron transport chain

NADH Dehydrogenase (complex I)

- oxidizes NADH
- transfers e^- to Ubiquinone (UQ)
- pumps $1H^+$ per e^-

Succinate Dehydrogenase (complex II)

- oxidation of succinate (from citric acid cycle)
- e^- are transferred via $FADH_2$
- does not pump protons

Cytochrome bc_1 complex (complex III)

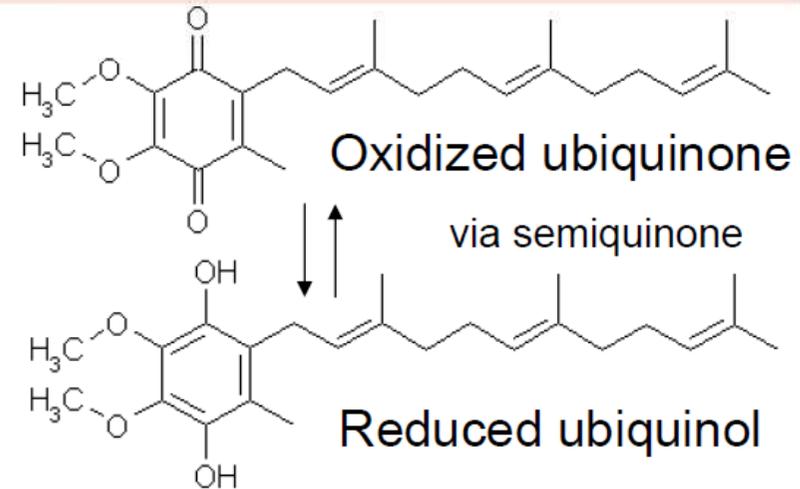
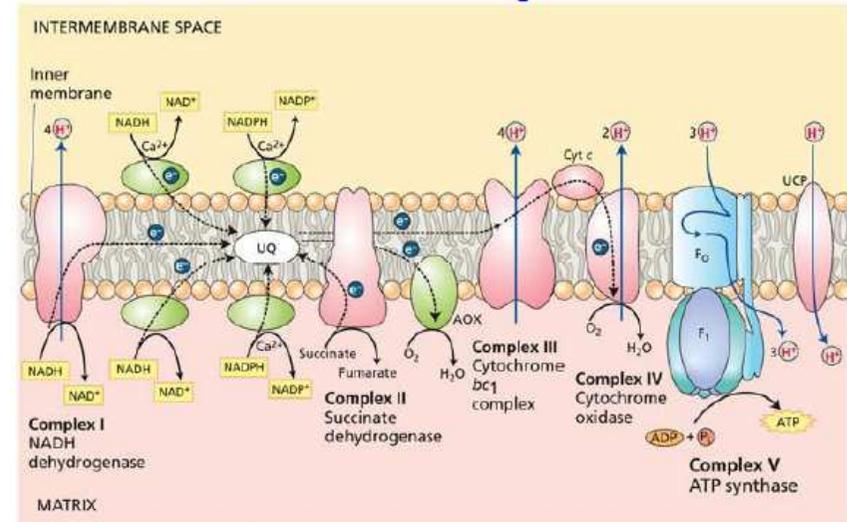
- oxidizes reduced UQ (= ubiquinol)
- pumps $1H^+$ per e^-

Cytochrome c oxidase (complex IV)

- reduces O_2 to H_2O
- pumps $1H^+$ per e^-

ATP synthase (complex V)

- uses electrochemical proton gradient to synthesize ATP



Uncoupling Proteins

An **uncoupling protein** (**thermogenin**) is produced in brown adipose tissue of newborn mammals and hibernating mammals.

This protein of the inner mitochondrial membrane functions as a **H⁺ carrier**.

The uncoupling protein blocks development of a H⁺ electrochemical gradient, thereby stimulating respiration. ΔG of respiration is dissipated as heat.

This "**non-shivering thermogenesis**" is costly in terms of respiratory energy unavailable for ATP synthesis, but provides valuable warming of the organism.

Natural Uncouplers Convert the Mitochondria in Brown Fat into Heat-generating Machines

In some specialized fat cells, mitochondrial respiration is normally uncoupled from ATP synthesis. In these cells, known as brown fat cells, most of the energy of oxidation is dissipated as heat rather than being converted into ATP. The inner membranes of the large mitochondria in these cells contain a special transport protein that allows protons to move down their electrochemical gradient, by-passing ATP synthase. As a result, the cells oxidize their fat stores at a rapid rate and produce more heat than ATP. Tissues containing brown fat serve as “heating pads,” helping to revive hibernating animals and to protect sensitive areas of newborn human babies from the cold.

The mitochondrial uncoupling-protein homologues

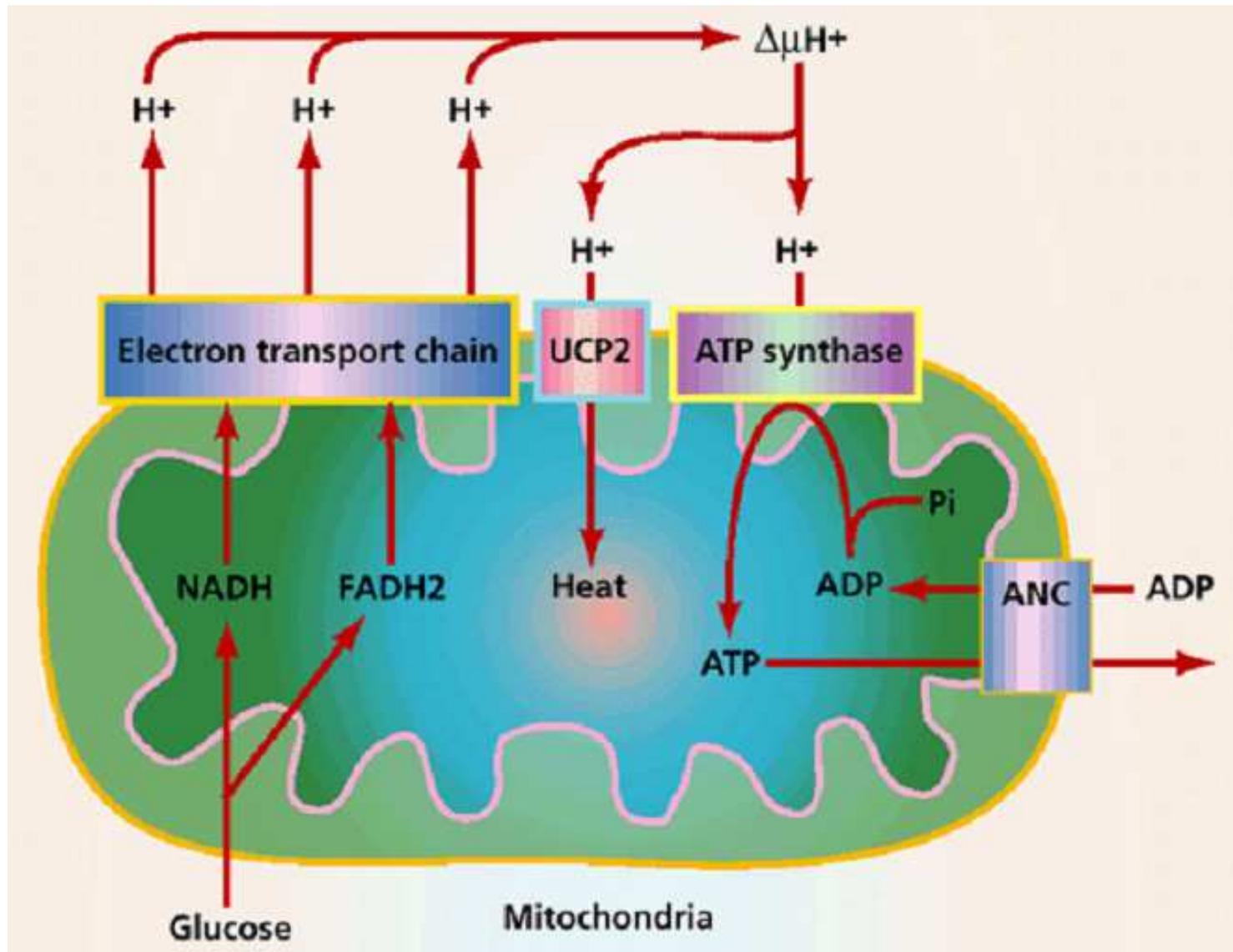
Uncoupling protein 1 (UCP-1) is an integral membrane protein that is located in the mitochondrial inner membrane of brown adipocytes. Its physiological role is to mediate a regulated, thermogenic proton leak.

UCP-2 and UCP-3 are recently identified UCP-1 homologues.

They also mediate regulated proton leak, and might function to control the production of superoxide and other downstream reactive oxygen species.

However, their role in normal physiology has remained unknown. Recent studies have shown that UCP-2, as possibly UCP-3, has an important part in the pathogenesis of type-2 diabetes.

Increased UCP-2 expression has been associated with impaired insulin secretion, whereas UCP-3 protein levels are decreased in the skeleton muscle of type-2 diabetic subjects.



Brown-Fat Mitochondria Contain an Uncoupler of Oxidative Phosphorylation

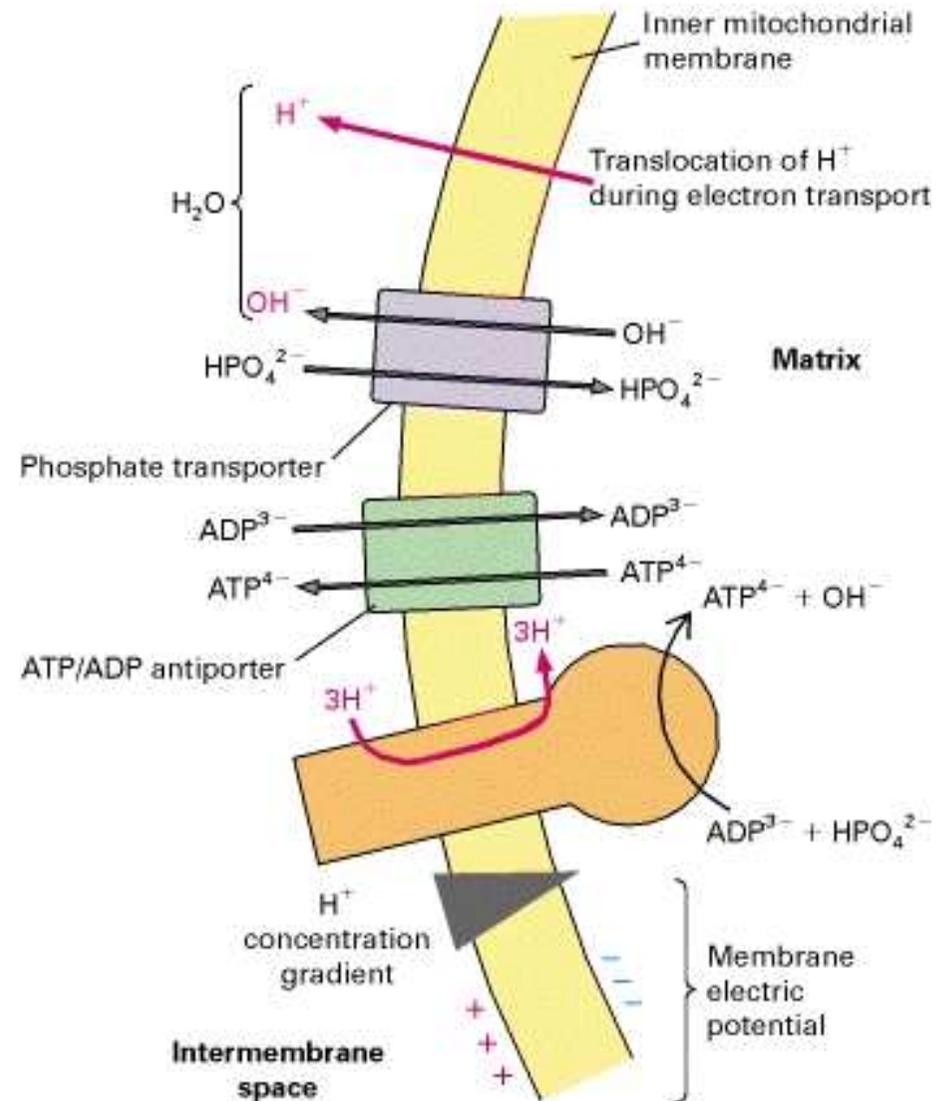
Brown-fat tissue, whose colour is due to the presence of abundant mitochondria, is specialized for the generation of heat. In contrast, white-fat tissue is specialized for the storage of fat and contains relatively few mitochondria.

In the inner [membrane](#) of brown-fat mitochondria, a 33 kDa inner-[membrane protein](#) called **thermogenin** functions as a natural [uncoupler](#) of [oxidative phosphorylation](#). Thermogenin does not form a proton channel like the F_0 complex and typical channel [proteins](#). Rather, thermogenin is a proton transporter whose [amino acid](#) sequence is similar to that of the mitochondrial ATP/ADP antiporter .

it functions at a rate that is characteristic of transporters, but is 1-million-fold slower than typical channel [proteins](#). Like other [uncouplers](#), thermogenin dissipates the [proton-motive force](#) across the inner mitochondrial [membrane](#), converting energy released by NADH [oxidation](#) to heat.

The amount of thermogenin is regulated depending on environmental conditions. For instance, during the adaptation of rats to cold, the ability of their tissues to generate heat (thermogenesis) is increased by the [induction](#) of thermogenin synthesis. In cold-adapted animals, thermogenin may constitute up to 15 percent of the total [protein](#) in the inner mitochondrial [membrane](#).

Adult humans have little brown fat, but human infants have a great deal. In the newborn, thermogenesis by brown-fat mitochondria is vital to survival, as it also is in hibernating mammals. In fur seals and other animals naturally acclimated to the cold, muscle-cell mitochondria contain thermogenin; as a result, much of the [proton-motive force](#) is used for generating heat, thereby maintaining body temperature.



Uncoupling Proteins (UCPs) in Plants

In plants heat production may be associated with uncoupling proteins (UCPs).

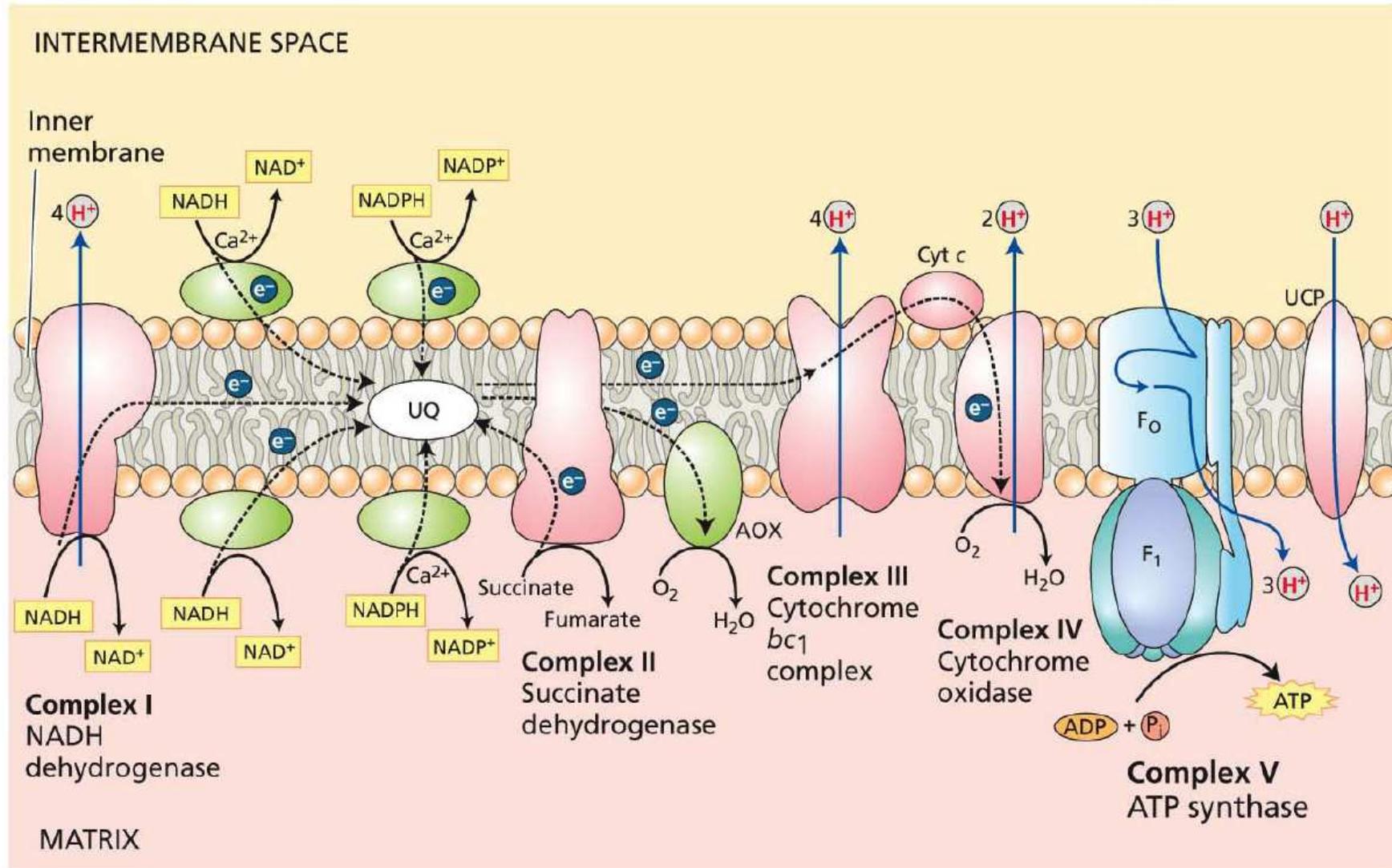
For example, in Brazil, the inflorescence of *Philodendron selloum* is capable of warming to over 40°C at air temperatures close to freezing. In lipid-burning *P. selloum*, however, heat production may be associated with uncoupling proteins (UCPs). These also exist on the inner mitochondrial membrane and permit influx of protons without phosphorylation, the energy ending up as heat. Interestingly, a similar kind of UCP (the 5 transmembrane-spanning variant UCP1) is used by mammals, particularly hibernating species, which generates heat by burning lipid in brown adipose tissue.

Electron transport chain

<http://vcell.ndsu.nodak.edu/animations/etc/movie.htm>

As vias alternativas de transporte de electrões dos mitocôndrios vegetais

Organization of mitochondrial electron transport chain



Plant mitochondria contain additional enzymes (in green), which do not pump protons

NADH desidrogenase da face exterior de membrana mitocondrial interna (lado C)

- Transfere os electrões do NADH extra mitocondrial directamente a "pool" de ubiquinoma, ultrapassando o complexo I
- Por isso, esta oxidação do NADH exógeno
 - não é reversível a notemoma;
 - tem uma razão ATP/2e⁻ de cerca de 2;
 - é inibido pela platametrina, um composto fero-líco isolado dos gomos do plátano.

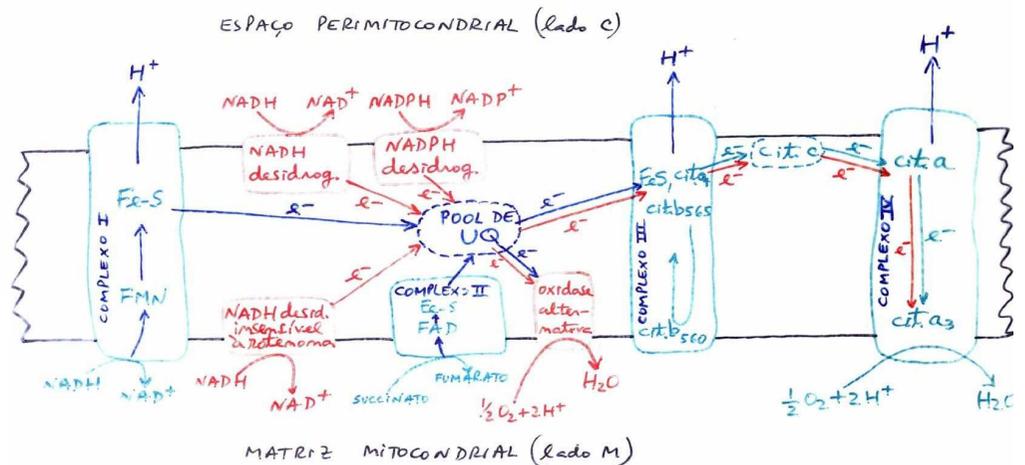
NADH desidrogenase da face interior de membrana mitocondrial interna (lado M)

Os mitocôndrios vegetais possuem duas NADH desidrogenases na face interior da membrana interna, capazes de oxidar o NADH intramitocondrial:

- A NADH desidrogenase do complexo I de cadeia principal:
 - É reversível a notemoma;
 - Exibe uma razão ATP/2e⁻ próxima de 3;
 - Tem uma alta afinidade para o NADH (K_m = 8 μM).
- A segunda NADH desidrogenase:
 - É insensível a notemoma;
 - Deveria exibir uma razão ATP/2e⁻ próxima de 2, mas frequentemente a razão é próxima de zero, o que sugere que transfere os electrões a oxidase alternativa insensível ao cianeto; (K_m = 80 μM).

NADPH desidrogenase da face exterior de membrana mitocondrial interna (lado C)

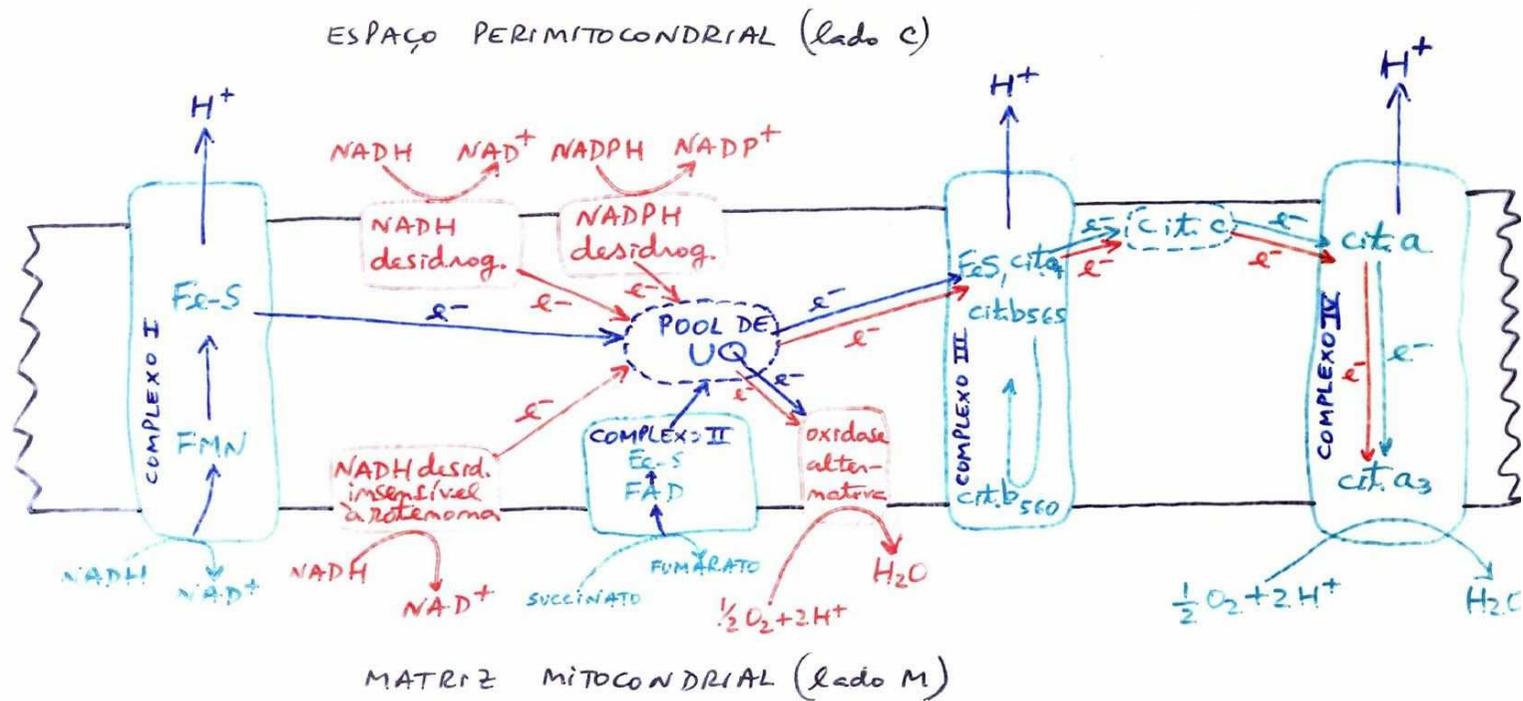
- A NADH e a NADPH desidrogenases da face exterior de membrana interna do mitocôndrio vegetal exibem algumas características semelhantes:
- valores de ATP/2e⁻ próximos de 2
 - insensibilidade a notemoma
- mas outras características que são diferentes:
- diferentes afinidades para o substrato
 - diferentes respostas a
 - efeitos do pH
 - cegatas quelantes
 - reagentes de grupo sulfidrílico



VIAS DE TRANSPORTE DE ELECTRÕES DOS MITOCÔNDRIOS VEGETAIS :

- Complexos I a IV de cadeia normal
- 2 complexos de NADH desidrogenases
- 1 complexo NADPH desidrogenase
- A oxidase alternativa é insensível ao cianeto

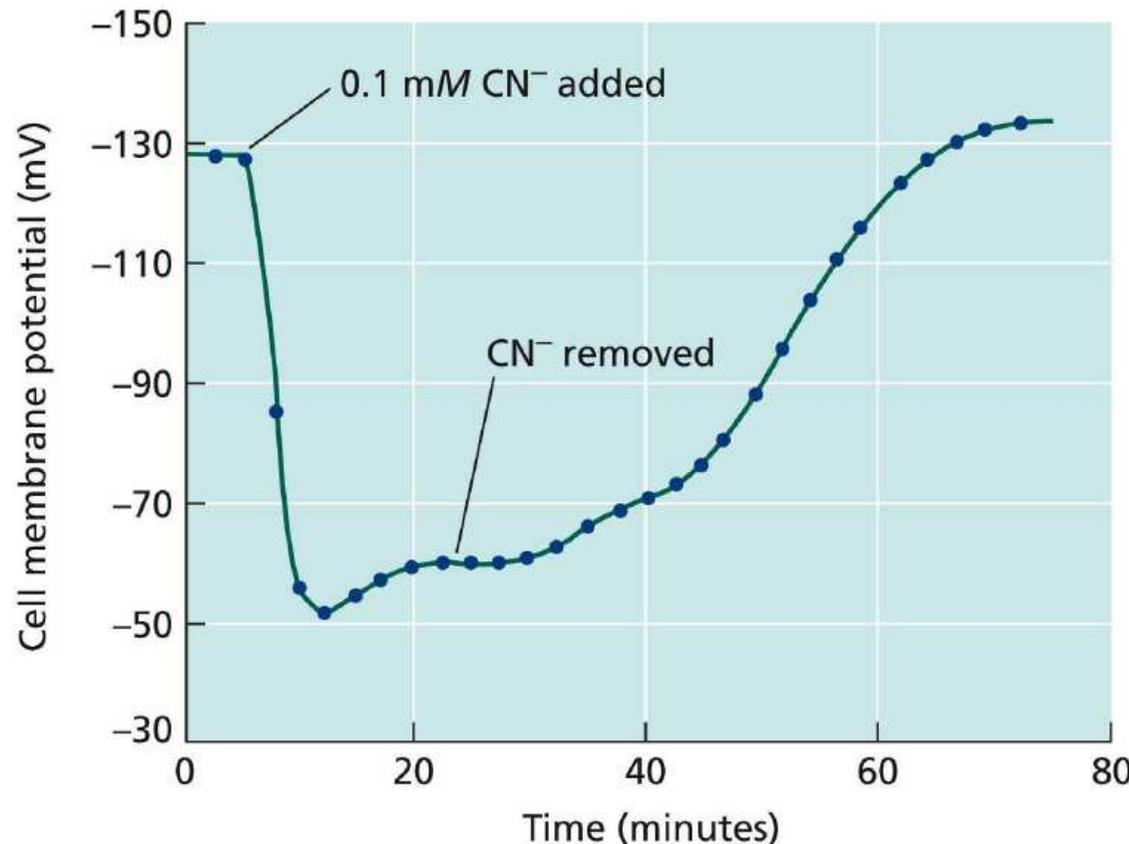
Os 3 centros de conservação de energia estão representados por setas verticais, referen-
tas à extrusão de prótons



Mechanisms of plants to lower ATP yield – The role of the Alternative Oxidase and the Uncoupling Protein

Alternative oxidase

Membrane potential of a pea cell collapses when CN^- is added to the external solution



Energy required for active transport through ATP hydrolysis

Study effect of CN^- on membrane potential

CN^- poisons mitochondria, blocks ATP production, because

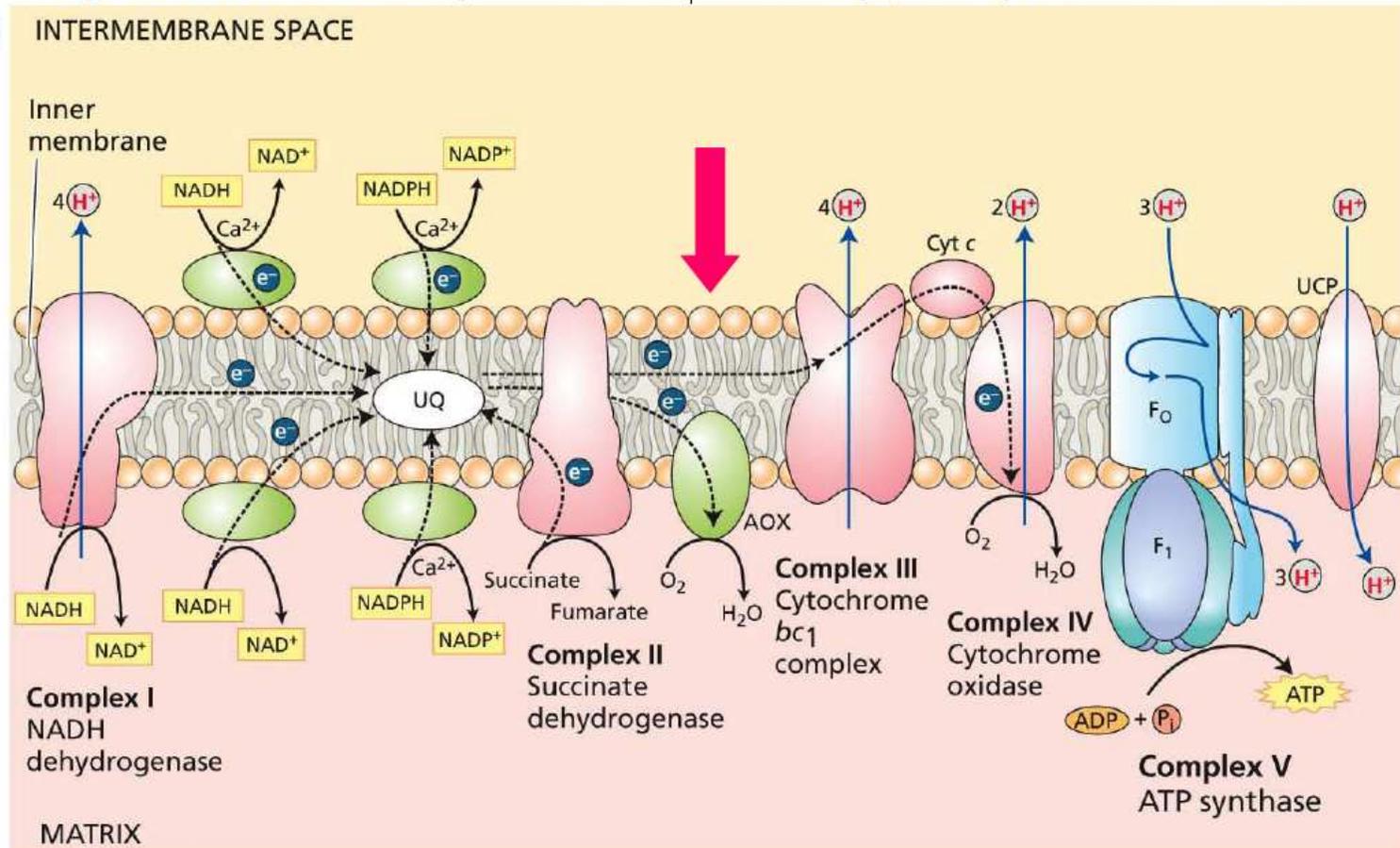
CN^- inhibits cytochrome c oxidase

Mechanisms of plants to lower ATP yield –

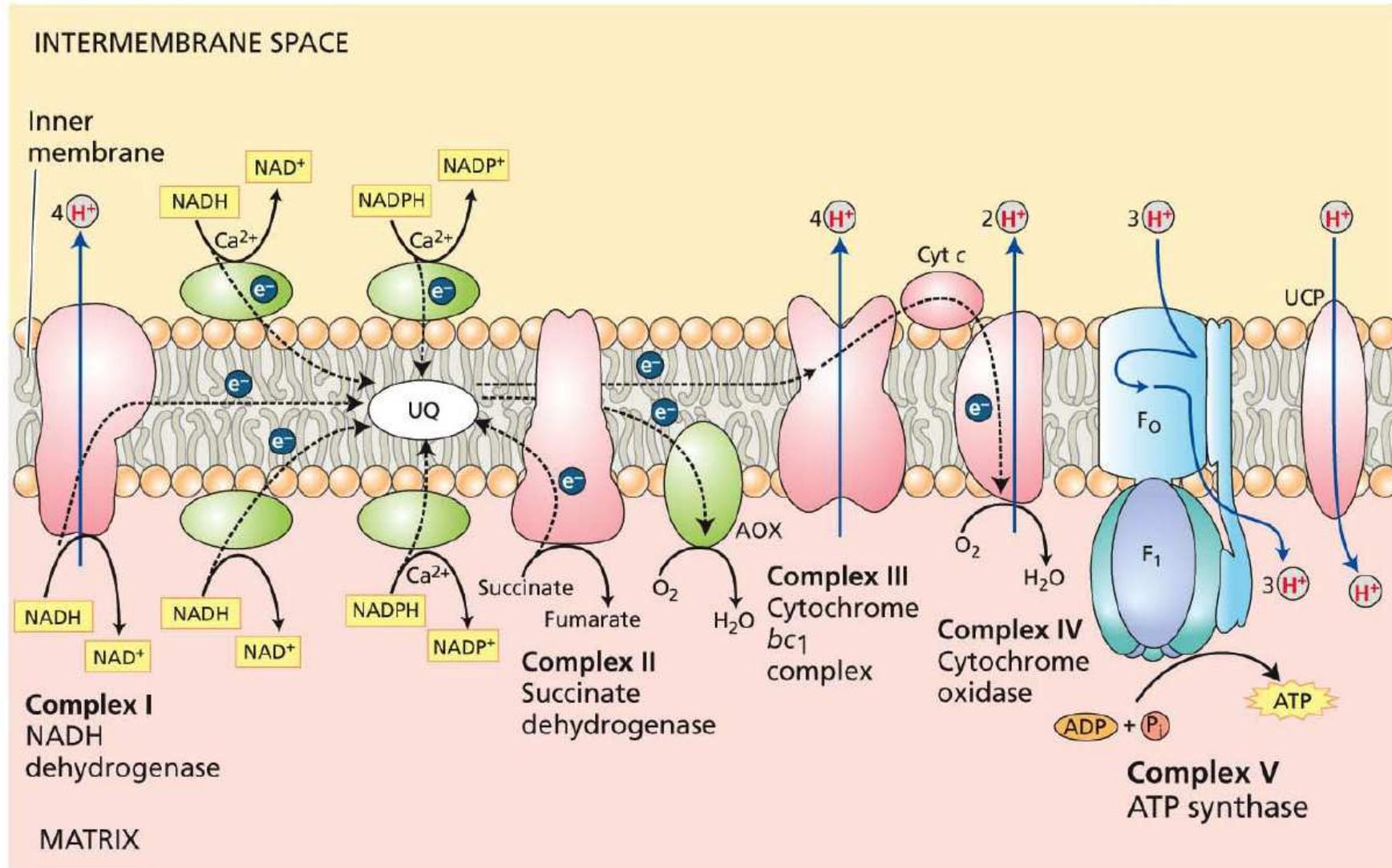
The role of the Alternative Oxidase and the Uncoupling Protein

Alternative oxidase

- some plants have cyanide-resistant respiration; can be 10-25%, even up to 100% of uninhibited control rate
- enzyme responsible for this cyanide-resistant oxygen uptake → Alternative oxidase

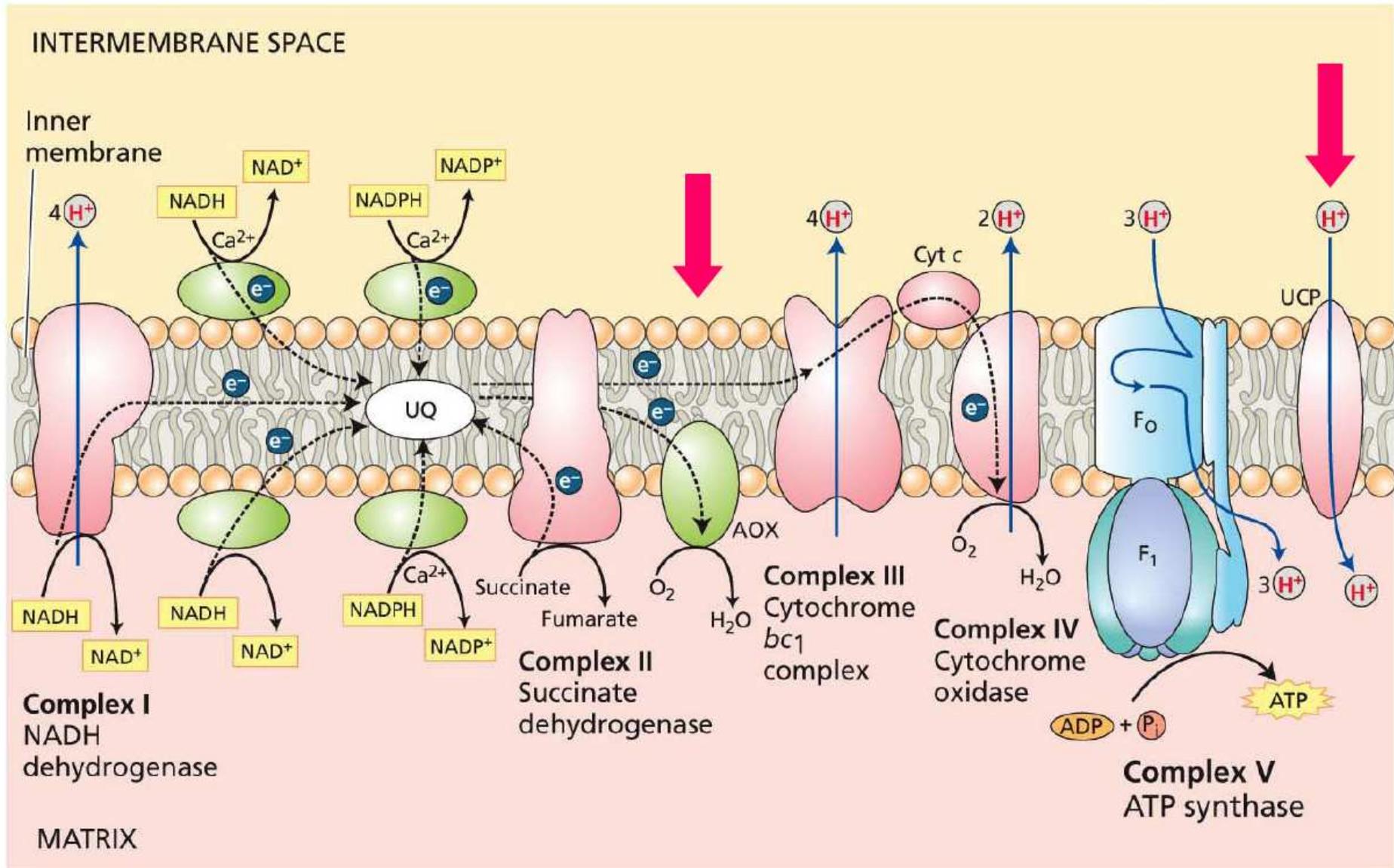


Organization of mitochondrial electron transport chain



Plant mitochondria contain additional enzymes (in green), which do not pump protons

Organization of mitochondrial electron transport chain



Plant mitochondria contain additional enzymes (in green), which do not pump protons

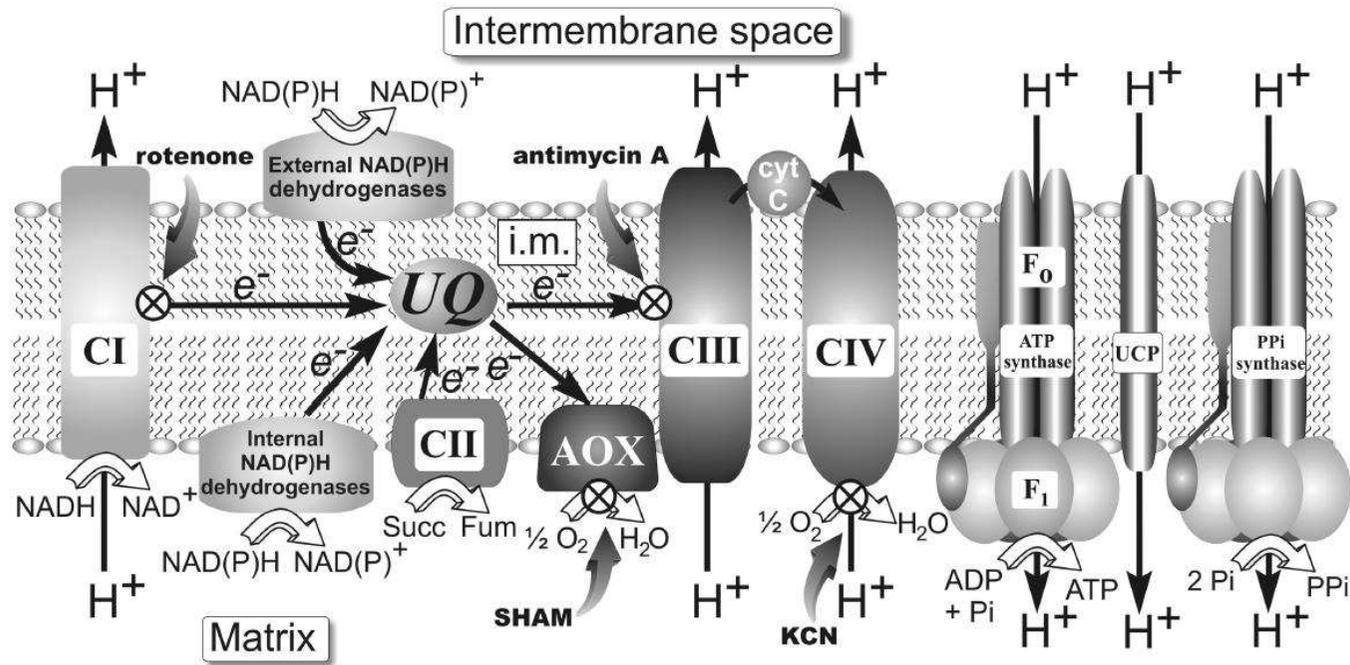


FIG. 3. Organization of the electron transport processes occurring within the i.m. of plant mitochondria. The illustration provides detail of the cytochrome pathway (electrons flow to complex IV), which generates the electromotive force for ATP synthesis, and the non-energy conserving pathway (electrons pass directly to O_2 through AOX). Abbreviations are as defined in the text and as follows: CI, complex I or NADH dehydrogenase; CII, complex II or succinate dehydrogenase; CIII, complex III or cytochrome bc_1 complex; CIV, complex IV or cytochrome oxidase. Crosses inside circles indicate sites of inhibition for different inhibitors of the miETC.

Thermogenesis

Thermogenesis is often used by plants to

- Enhance the production and dispersal of floral scents that make the plants more attractive;
- Prevent freezing of the plant;
- Be a reward to insects by keeping them warm in floral chambers where they remain overnight.

The respiratory rates of some thermogenic flowers are the highest among plants, and in fact, exceed even those of warm-blooded animals.

For example, some species, such as the arum lilies, are so intensely thermogenic that their flowers can increase up to 35 °C above the surroundings.

Skunk cabbage, *Symplocarpus foetidus*, in North America and Japan, can maintain temperatures above 15 °C when the air temperature drops to -15 °C, and it often melts the snow around it.

Large scarab beetles congregate in the evening and remain for about 24 hours inside the floral chamber of *Philodendron solimoesense* which is kept 4 °C warmer than the outside air to allow intense insect activity throughout the night.

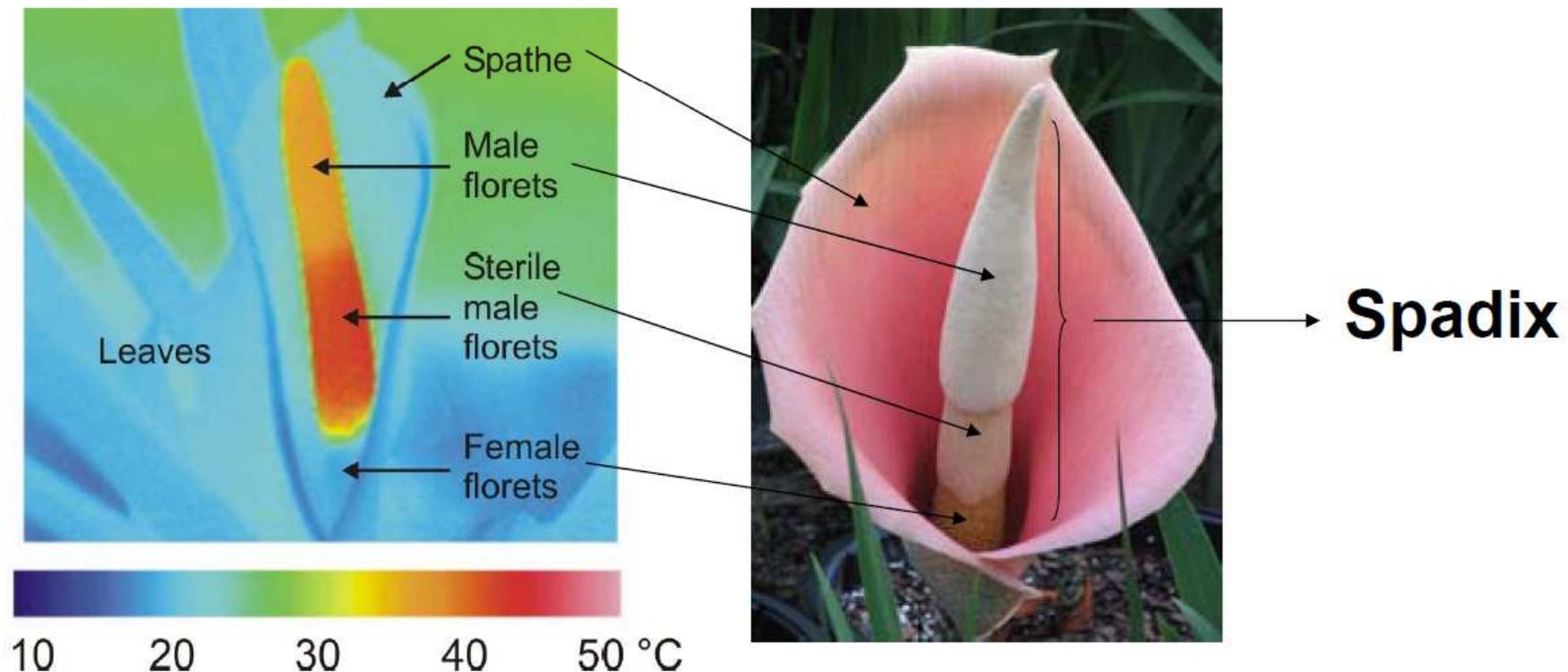
Mechanisms of plants to lower ATP yield –

The role of the Alternative Oxidase and the Uncoupling Protein

Alternative oxidase

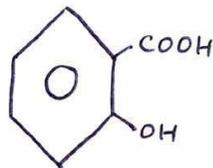
How can this energetically wasteful process be of importance for plant metabolism?

Example: floral development in some members of the Araceae (arum family), e.g. voodoo lily (*Sauromatum guttatum*) → Thermogenesis

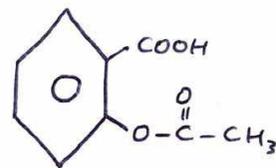


A CRISE RESPIRATÓRIA DAS ARÁCEAS

- Lamarck (1778) Descoberta de termogênese em plantas do género Arum.
- Garreau (1851) Associação do aumento da temperatura do espádice à subida simultânea da taxa respiratória.
- Okumuki (1932) Descobriu que a respiração do pólen de Lilium auratum era insensível ao cianeto e ao monóxido de carbono.
- Hent (1934) Atribuiu a resistência ao cianeto a "ausência" de citocromo oxidase, a qual estaria substituída por uma flavoproteína auto-oxidável.
- A descoberta mais recente (1989) foi a de que o agente responsável pela produção de calor no espádice das Aráceas é o ácido salicílico.



Ácido salicílico



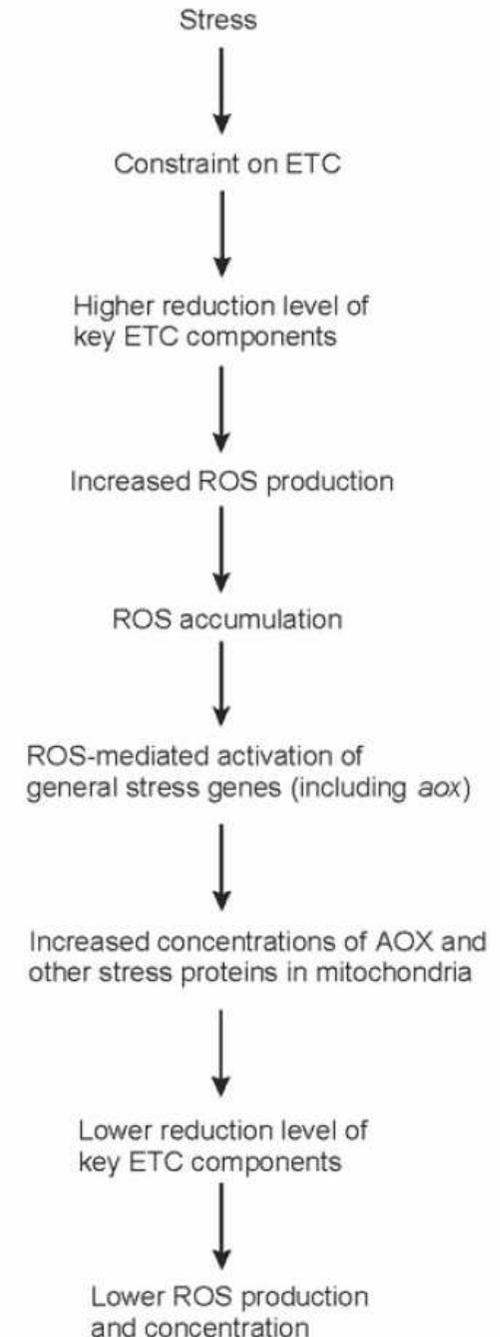
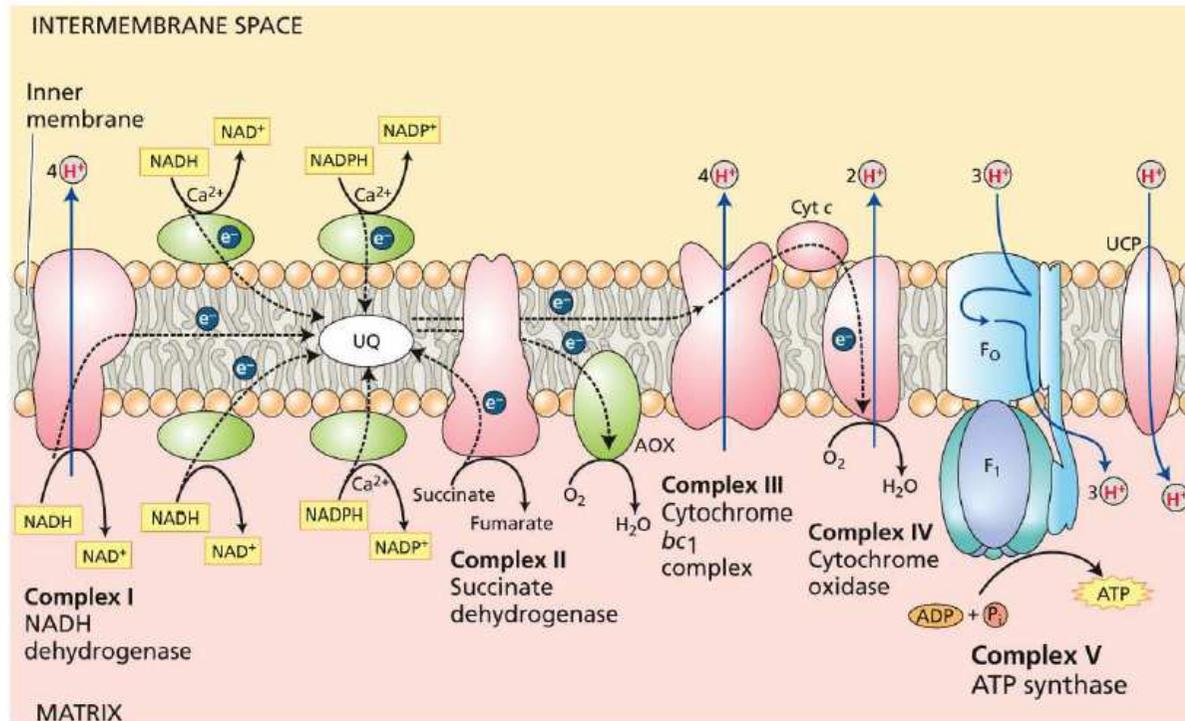
Aspirina
(ácido acetil-salicílico)

Alternative oxidase pathway

- Only in plant mitochondria
- No ATP synthesis, so heat is generated

Role of alternative oxidase pathway

1. Heat generation
2. Regulation of ATP synthesis
3. Regulation of metabolite synthesis
4. Helps overcome environmental stresses

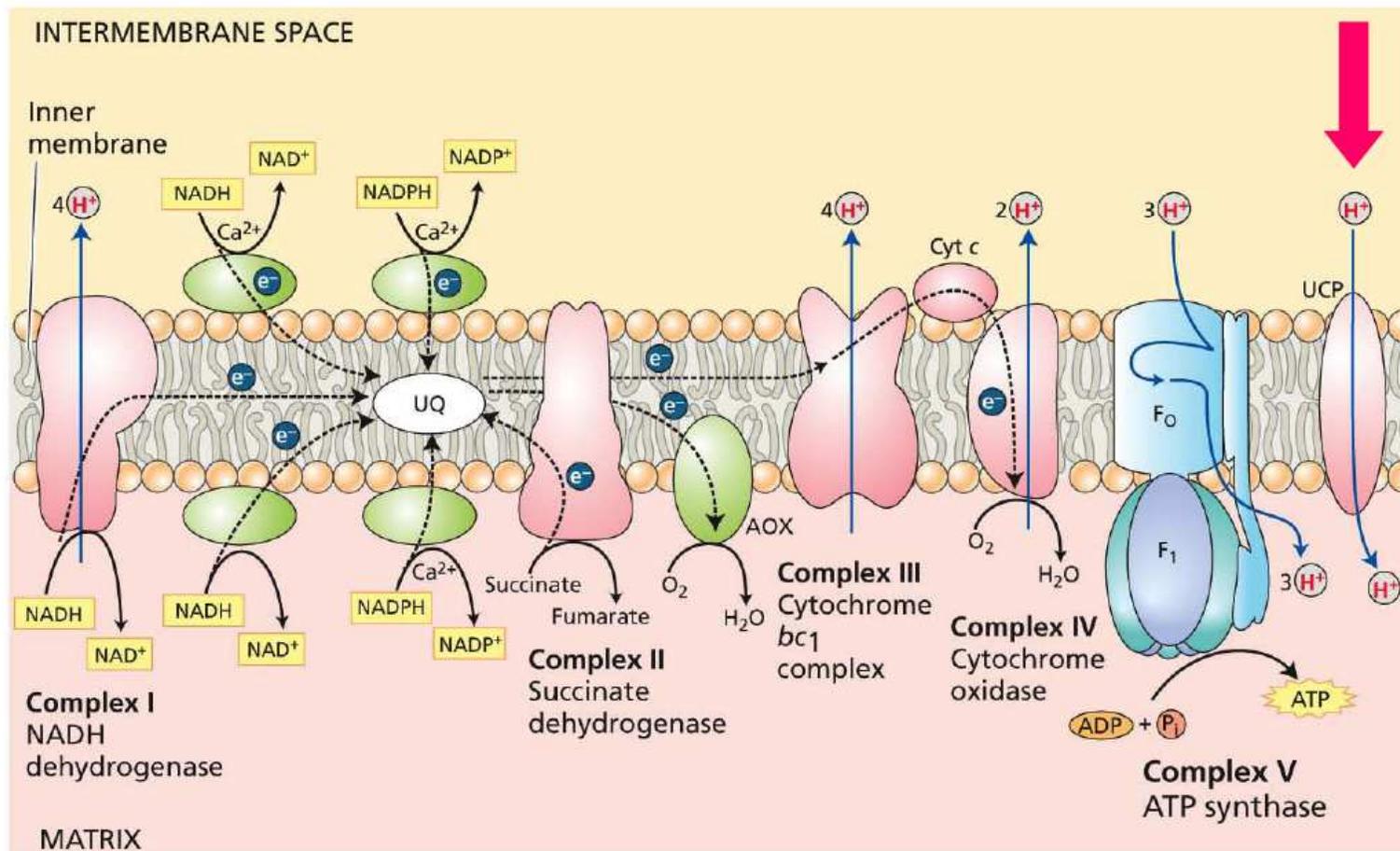


Mechanisms of plants to lower ATP yield –

The role of the Alternative Oxidase and the Uncoupling Protein

Uncoupling protein

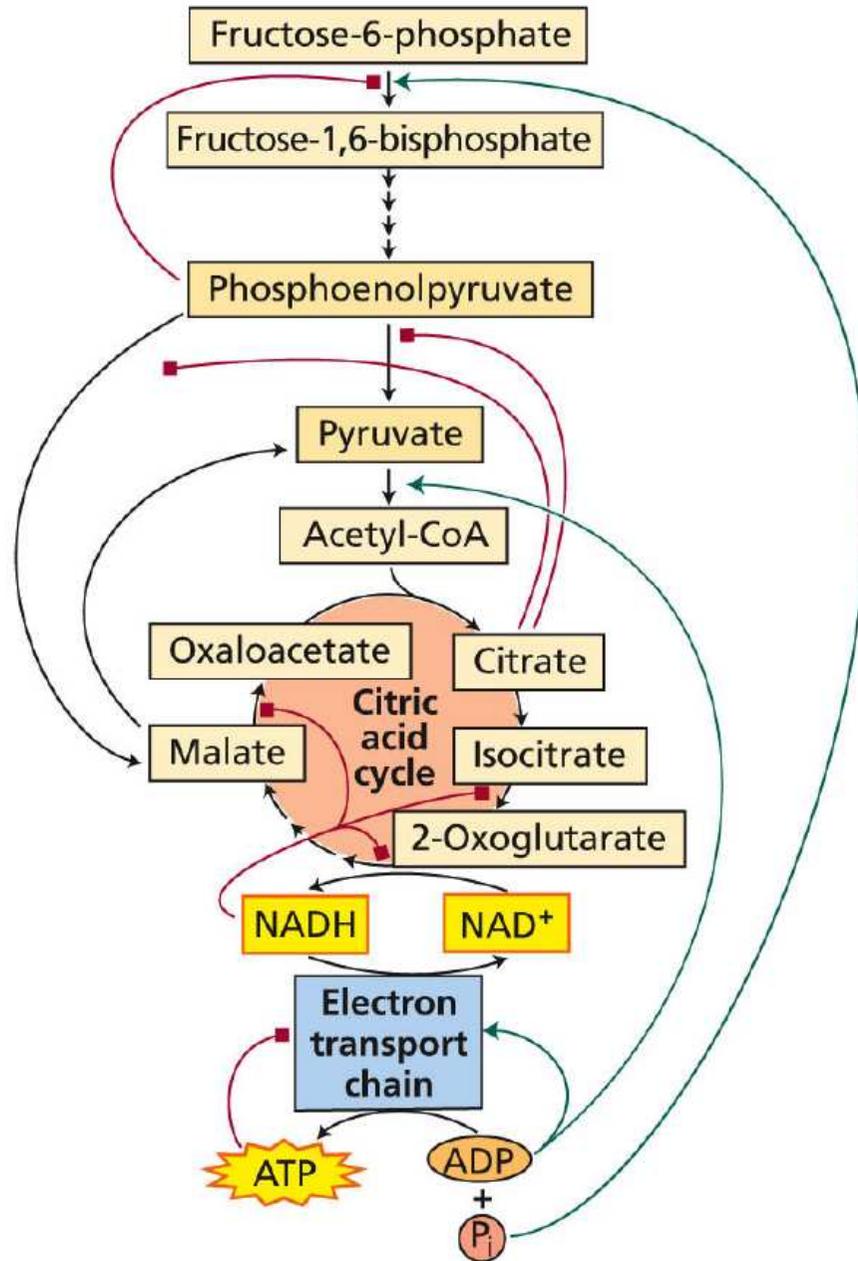
- Increases proton permeability of inner mitochondrial membrane
- acts as an uncoupler → less ATP, more heat is produced
- main function in mammalian cells



Uncoupling proteins (UCP) belong to the mitochondrial anion carrier family of proteins, which are localized in the inner membrane; they partially uncouple respiration from ATP synthesis by catalysing proton leakage. All of these carriers have a molecular mass close to 33 kDa and consist of three tandemly repeated homologous domains, each with two hydrophobic stretches.

In cold-adapted brown adipose tissue (BAT), UCP1 levels can reach up to about 5% of total mitochondrial proteins and it plays a key role in non-shivering thermogenesis. However, the recent findings that **plant uncoupling proteins** are expressed in nonthermogenic tissues bring into question their involvement in thermogenesis. These results suggest that plant UCPs are involved in the regulation of energy metabolism or in the reduction of reactive oxygen species in mitochondria. Recently it was also shown, by using a knockout mutant, that UCP1 in *Arabidopsis* leaves is related to photosynthetic metabolism.

Concept of bottom-up regulation of plant respiration



Inhibition = red squares
E.g. ATP, NADH,
Citrate, PEP

Activation = green arrows
E.g. ADP, P_i

This regulation allows respiration to adjust to demands for biosynthetic building blocks.

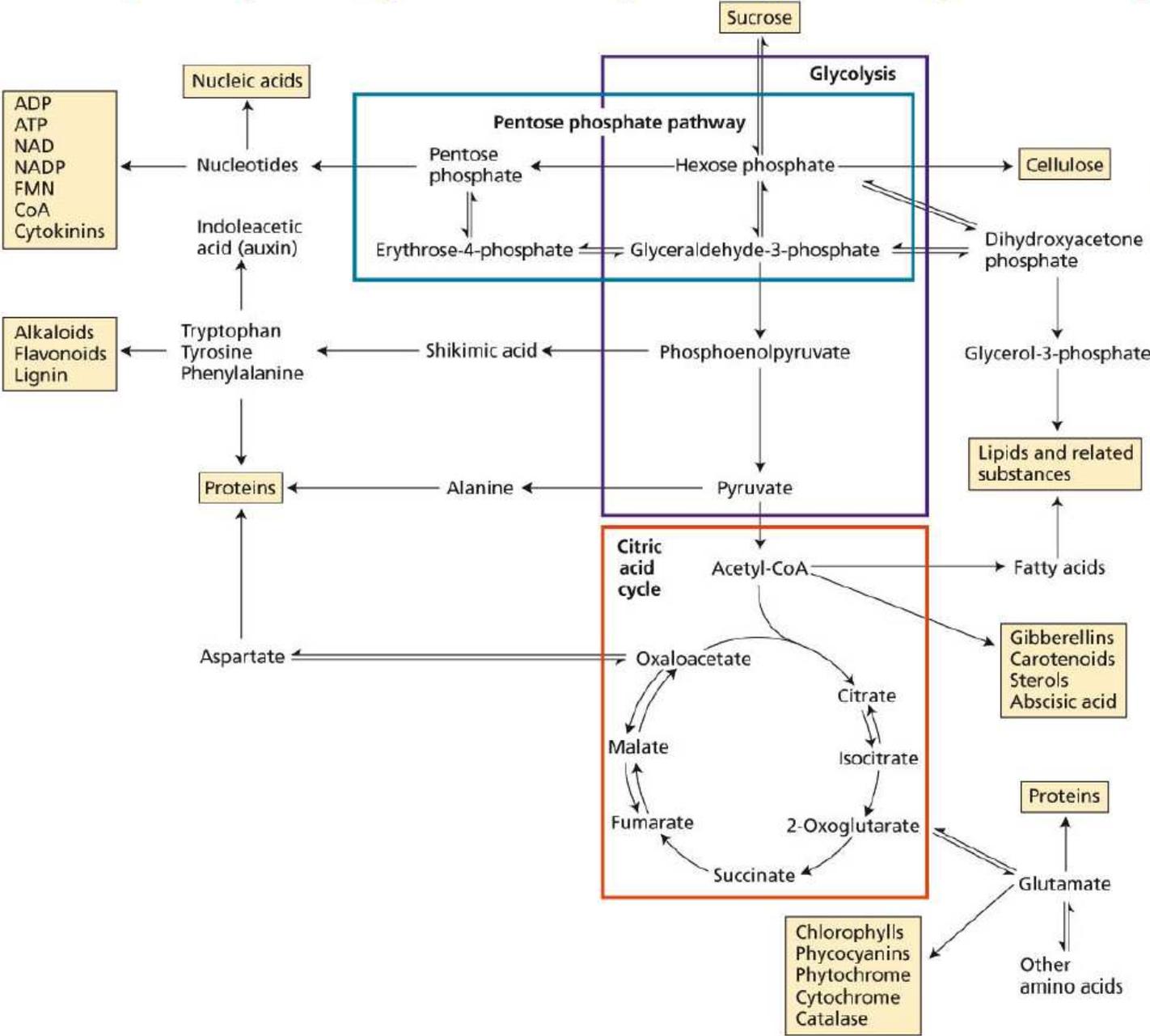
Respiration is tightly coupled to other pathways

Biosynthesis of:

- Nucleotides
- Proteins
- Lipids
- Cell wall components
- Phytohormones
- Plant pigments

Glycolysis, pentose phosphate pathway, and citric acid cycle contribute precursors

acid cycle
contribute
precursors



Algumas questões:

1 - Considere os dois componentes principais da cadeia de transporte de electrões dos mitocôndrios vegetais.

a) Qual a função primária da via principal de transporte de electrões, dita via citocrómica ou via sensível ao cianeto?

b) Identifique os quatro elementos adicionais que permitem às plantas ter vias alternativas de transportar os electrões;

c) Considerando as plantas em geral, qual a função atribuída às vias alternativas de transporte de electrões dos mitocôndrios vegetais?

d) Qual a função destas vias durante a termogénese nas plantas da família das Aráceas?

2 – Com uma boa aproximação, a acumulação de biomassa pelas plantas pode considerar-se como o balanço entre quatro processos: a actividade carboxilásica da Rubisco, a respiração, a fotorrespiração e a libertação de VOCs. Indique:

a) Os três objectivos básicos da respiração;

b) A principal função atribuída às vias alternativas de transporte de electrões dos mitocôndrios vegetais;

c) A actividade oxigenásica da Rubisco forma, inevitavelmente, um composto tóxico no estroma dos cloroplastos; indique:

(i) O seu nome;

(ii) Como se forma;

(iii) O nome da via metabólica a que dá origem;

(iv) As duas funções principais dessa via metabólica;

(v) Uma função secundária que essa via pode desempenhar num dia quente.