

PROFITO - Laboratório de Fitoplâncton e Produção Primária

O processo de produção-
estruturas celulares:
pigmentos no fitoplâncton marinho

Profa. Sônia m. F. Giancesella

Assuntos da aula

- Estruturas fotossintéticas:
- Cromatoplasma e plastos
- Cloroplastos: estrutura e composição bioquímica
- Pigmentos: clorofilas, carotenóides e ficobilinas; bacterioclorofila; estrutura e composição bioquímica;
- Pigmentos: espectro de absorção e ação
- Biogênese dos cloroplastos (autonomia genética parcial) e Hipótese da evolução endossimbiótica

A coloração verde das plantas →testemunha da molécula chave para a captura da luz, as clorofilas.



Igualmente importante na fotossíntese → o carotenóide.

Nas plantas verdes → coloração mascarada pela clorofila

coloração vermelha ou amarelada quando não há clorofila.



As moléculas de clorofila -> estruturas químicas ligeiramente diferentes → clorofila-a, b, c₁, c₂, c₃, d, etc.
Moléculas que absorvem luz e fornecem cor
→ pigmentos .



O sítio da fotossíntese

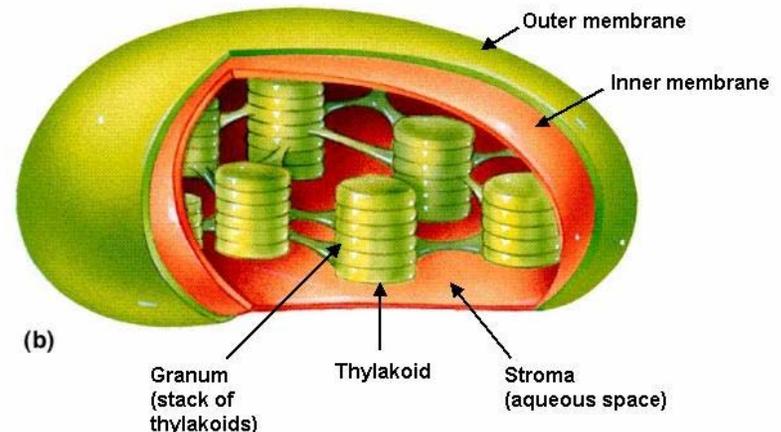
- Onde ocorre a fotossíntese?
- Em locais distintos, dependendo se organismo é eucarioto ou pró-carioto.
-
- Eucariotos: cloroplastos

O cloroplasto

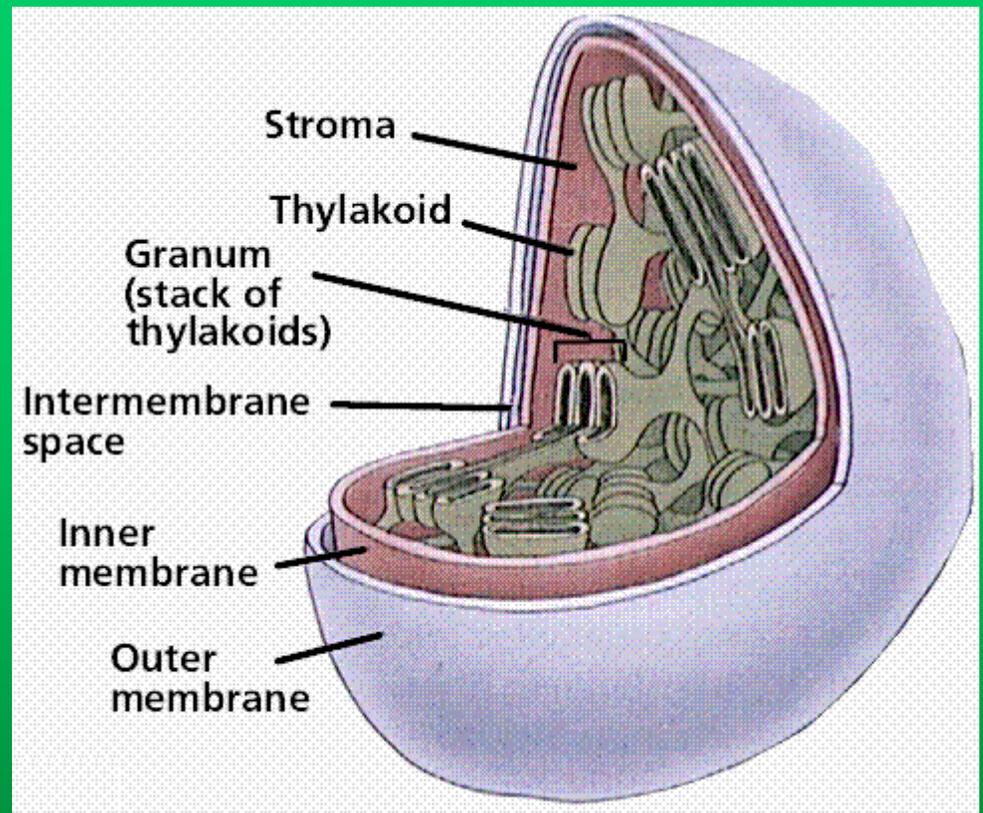
- Cloroplasto algal: isoladas do citoplasma por uma *membrana externa*.
- Membrana é *dupla* em vegetais superiores e clorofíceas.
- *Simples* nas demais algas.
- Apresentam muitas formas e tamanhos
- Interior: Sistema de vesículas achatadas (tilacóides), arranjadas em pilhas (grana)

Randy Moore, Dennis Clark, and Darrell Vodopich, Botany Visual Resource Library © 1998 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Three-dimensional Model of Chloroplast Membranes



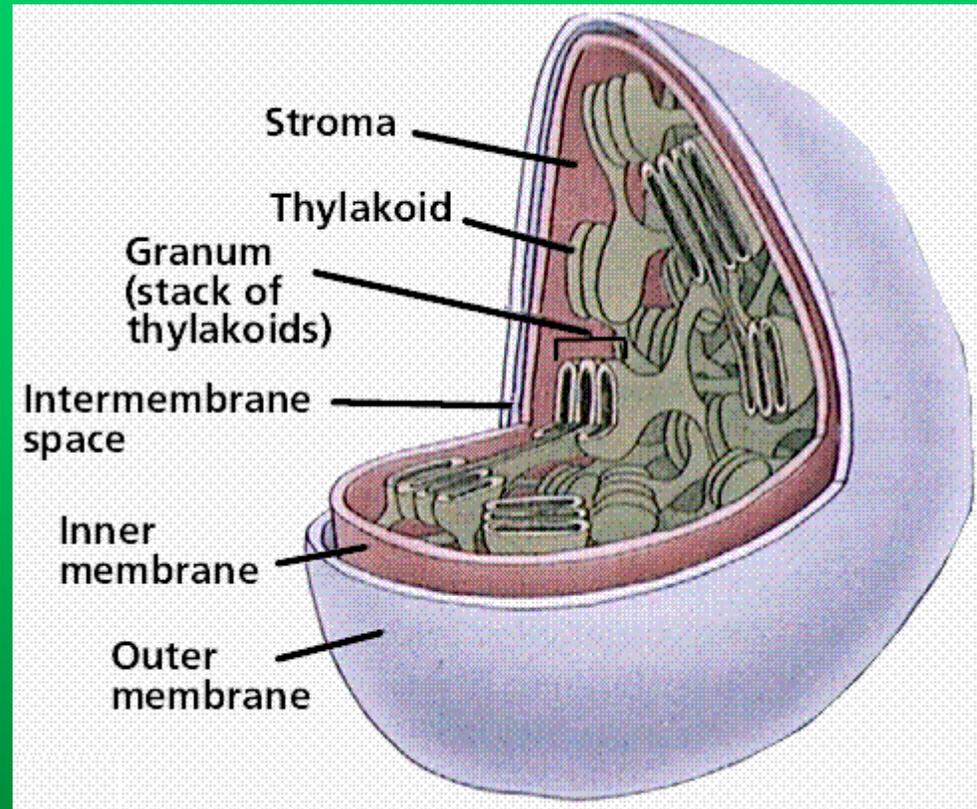
O cloroplasto



- Membrana → controla o fluxo de moléculas orgânicas. A água, CO_2 , O_2 → passam livremente
- Estroma → matriz
- Tilacoides → pigmentos fotossintéticos na membrana

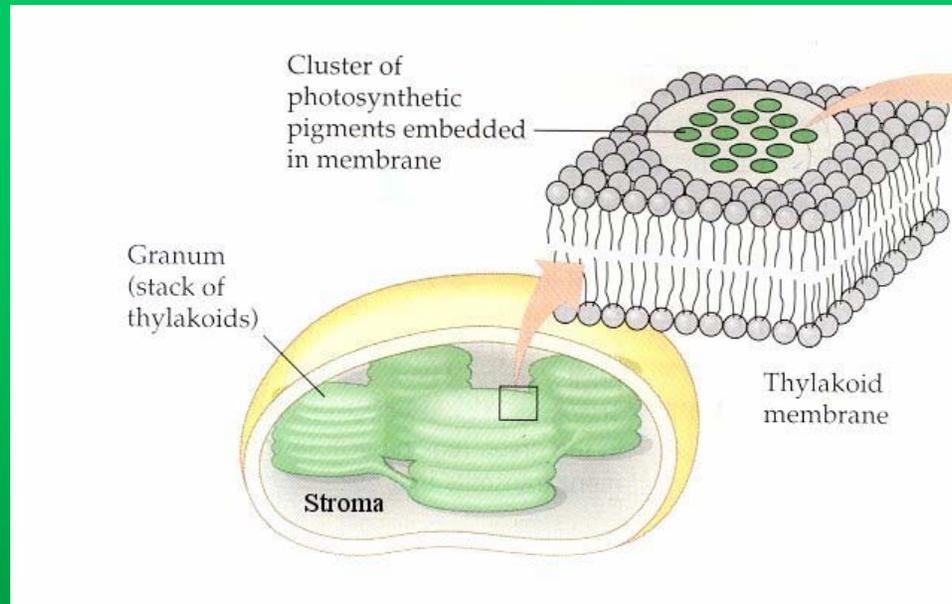
O cloroplasto

- *Estroma*: contém enzimas para as reações de escuro, onde ocorre a redução do CO_2 .



- DNA *c/ autonomia* do núcleo
- Outras estruturas não fotossintéticas presentes no cloroplasto: *RNA, ribossomas, pirenóides*.

Membranas tilacóides

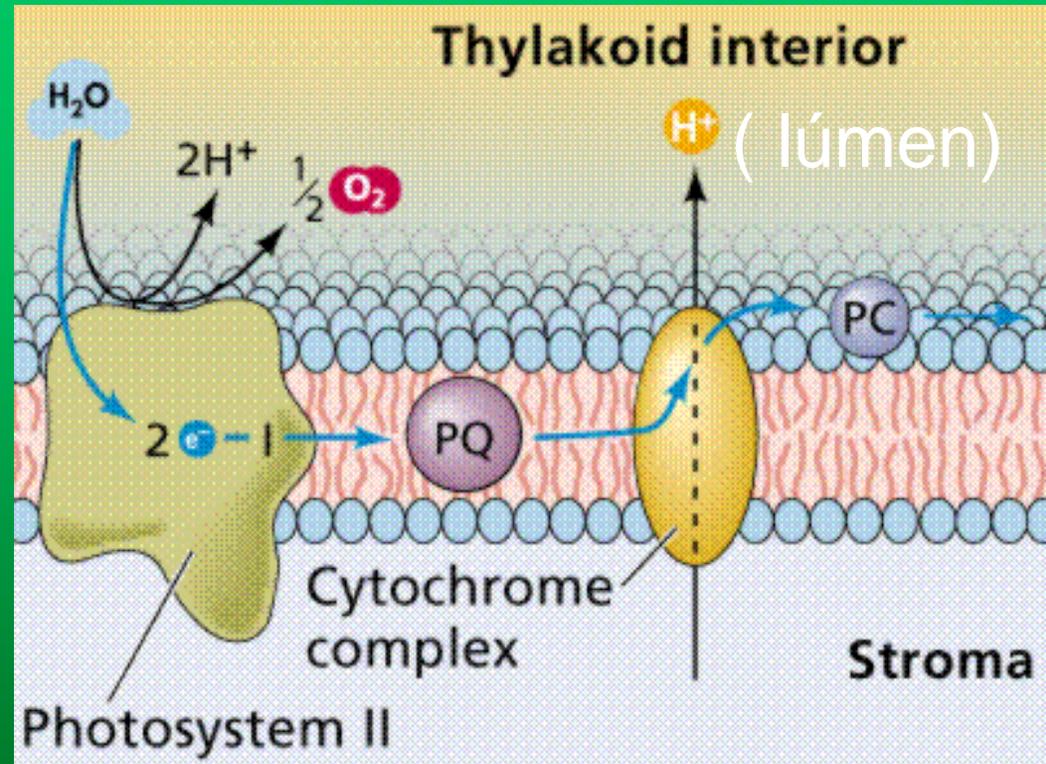


kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/thylakoid.jpg

- todos os pigmentos fotossintetizantes do e todas as enzimas necessárias às reações de luz.
- Compostas principal/ por lipídios de glicerol e proteínas.

Membranas tilacóides

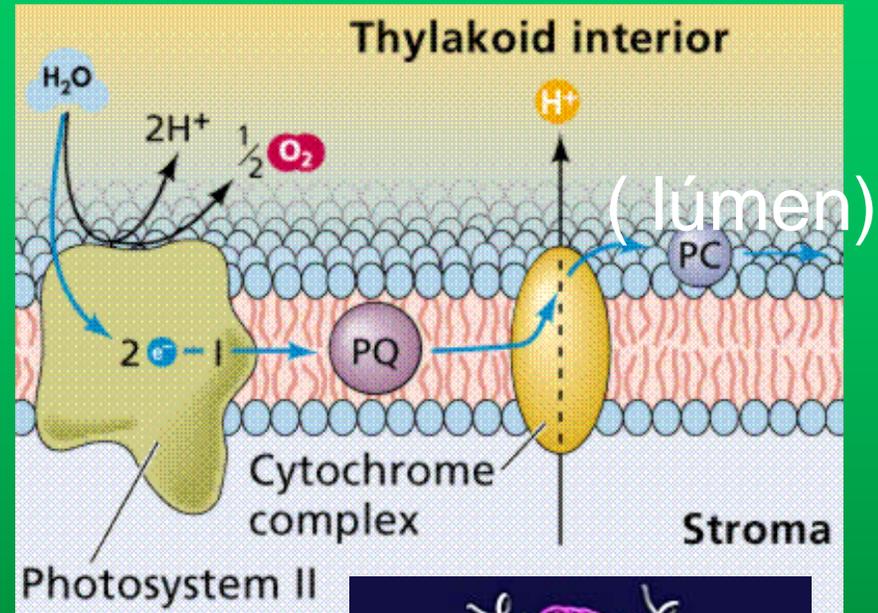
- Lipídios com um grupo polar (cabeça) que é hidrofílico e duas cadeias de ácidos graxos que são hidrofóbicos.



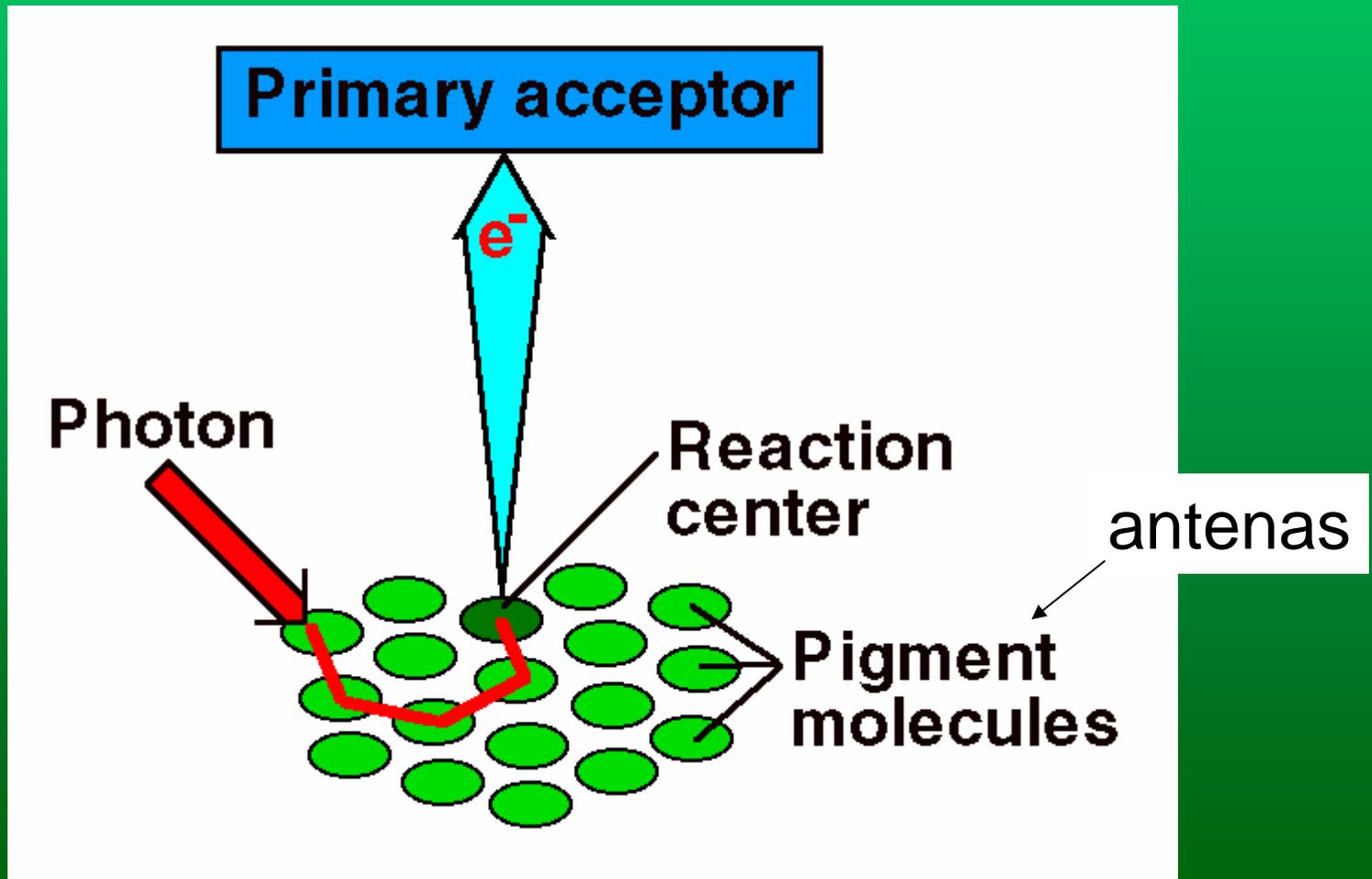
- Moléculas lipídicas ->arranjo em bicamada.
- O espaço interno das vesículas é denominado **lúmen**.

Membranas tilacóides

- Complexos pigmentos proteína:
- Fotossistemas
- Fotossistema: Dois tipos de complexos pigmento-proteína: Centros de Reação e Antena



Centro de Reação + Antenas → Unidade Fotossintética
Antenas → capturam a E luminosa de todo o espectro e transferem aos Centros de Reação para o processo redox foto-induzido.

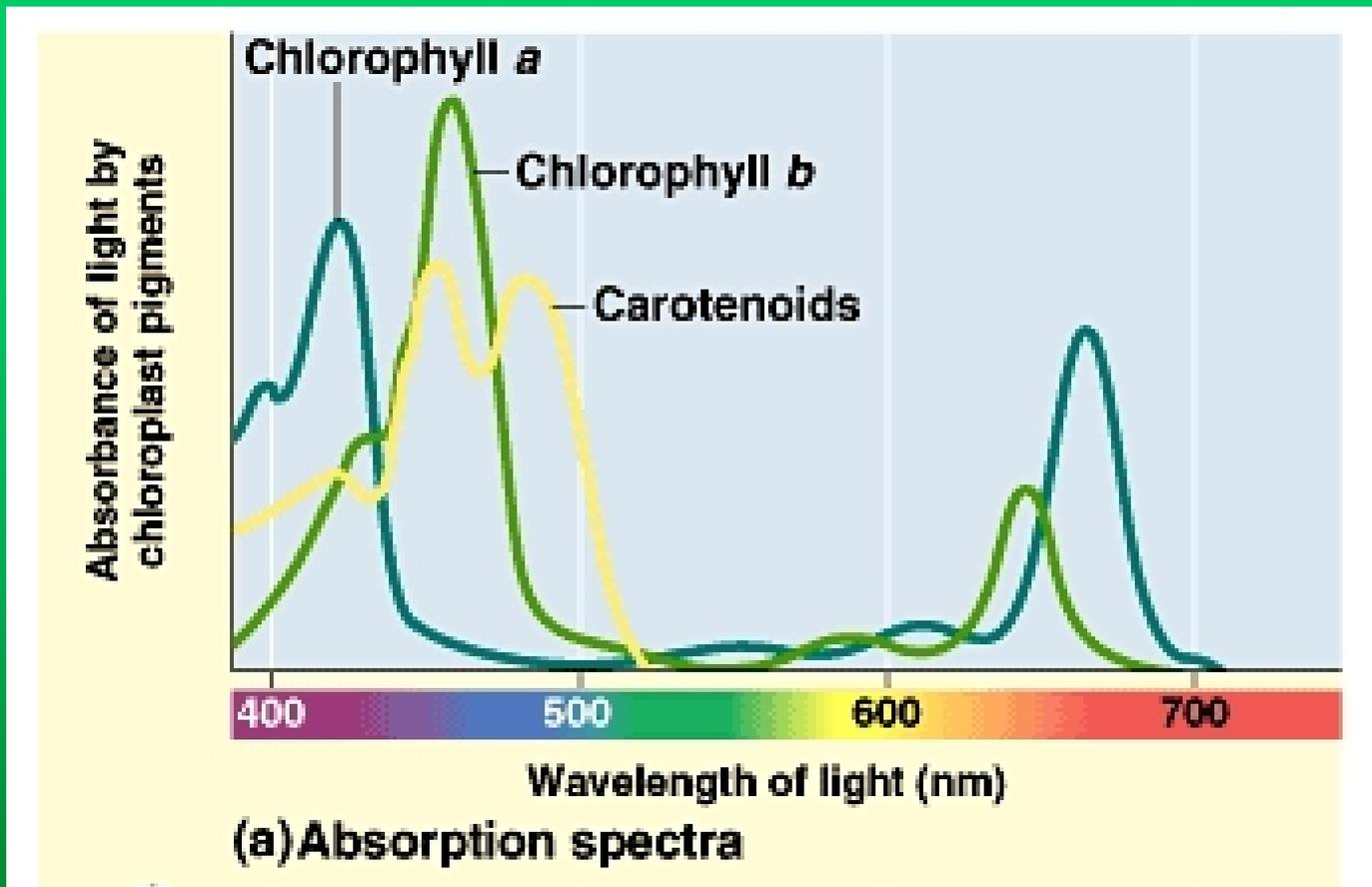


Pigmentos Antena (LH)

- Absorvem λ específicos e refletem outros \rightarrow "coloridos".
- λ absorvidos são transferidos aos CR \rightarrow cadeia de aceptores de e^- .
- Três classes de pigmentos fotossintéticos: clorofilas, carotenoides e ficobilinas (apenas cianobactérias).

Pigmentos fotossintéticos

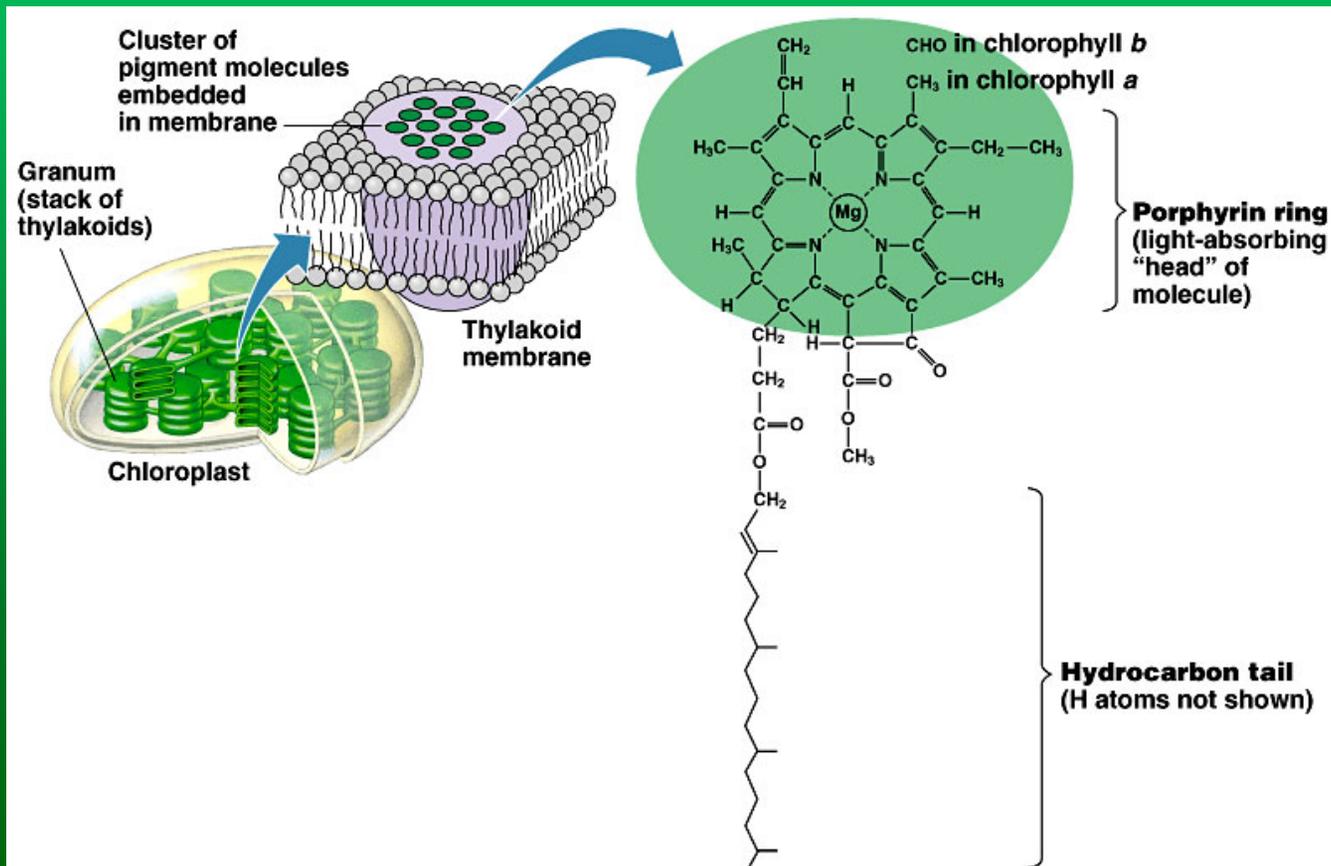
- Clorofila-a : único essencial para ocorrer a fotossíntese → presente no CR.
- Demais pigmentos : LH p/ a clorofila: expandem a faixa espectral de luz absorvida no cloroplasto e dirigida aos CR da fotossíntese.



• Diferentes grupos de algas c/ composição diferencial dos pigmentos → propriedades de absorção específicas, portanto, possibilidade de ocupar diferentes nichos ecológicos (\neq níveis da coluna de água e ambientes com \neq propriedades óticas).

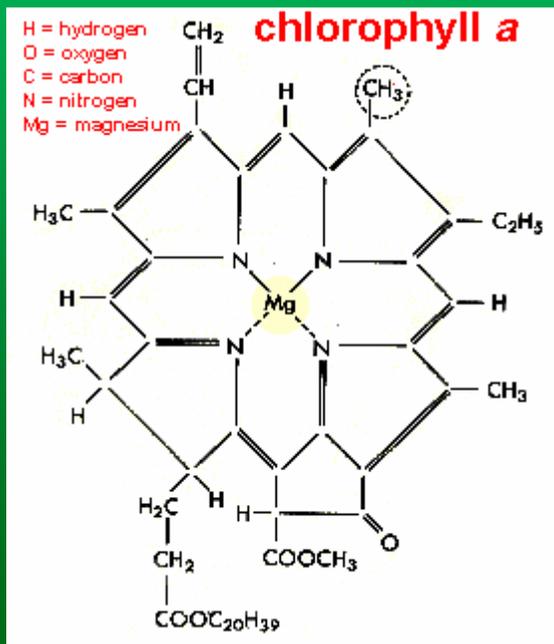
Clorofila-a

- Complexo de proteína e Mg^{2+}
- Anel porfirínico + fitol

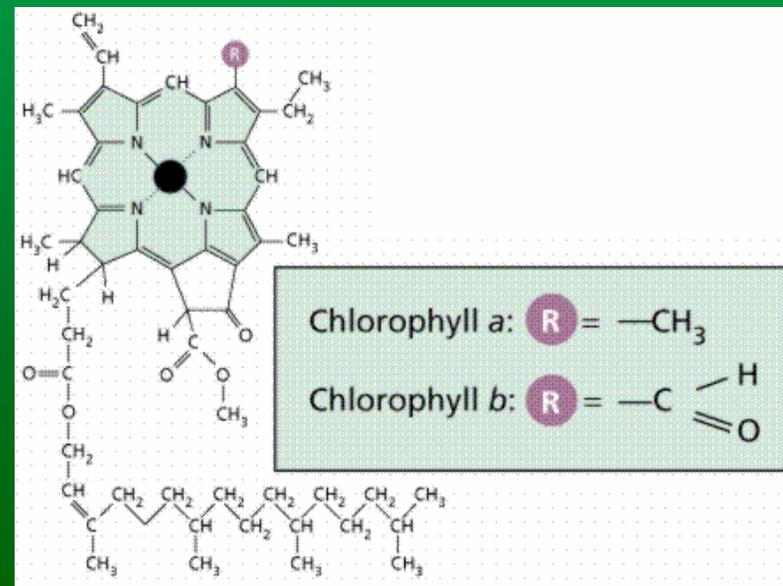


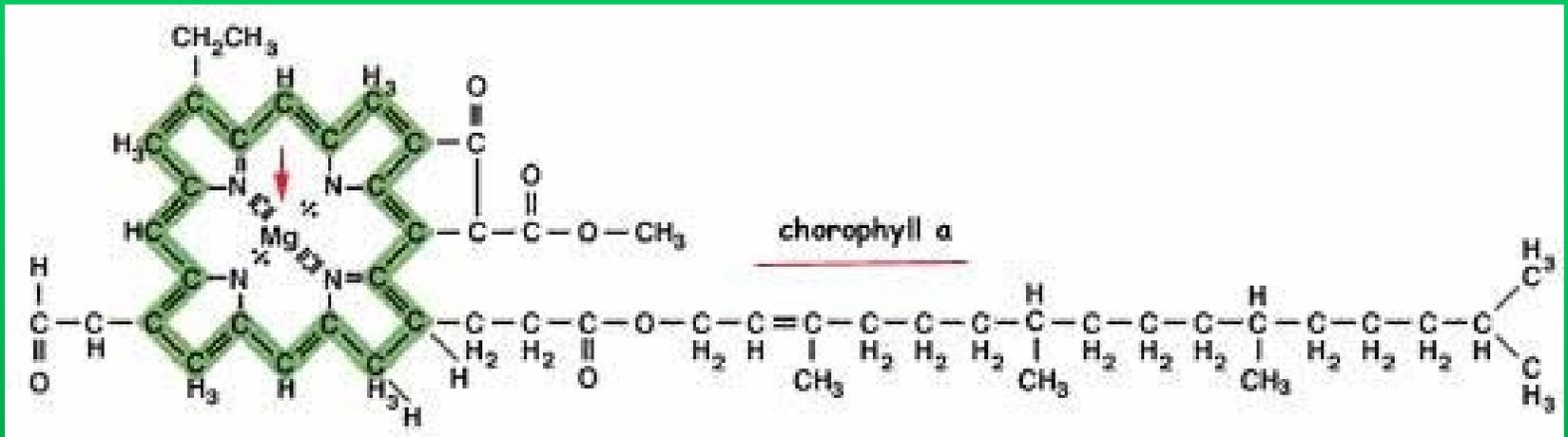
Características

- **Anel porfirínico** com Mg^{2+} quelado no centro por quatro N pirrólicos; um quinto anel não é pirrólico:



- radicais diferentes ligados aos anéis pirrólicos determinam se a clorofila é a, b, c1, c2, etc.





Anel pode ganhar ou perder e- facilmente, fornecendo esses e- para outras moléculas (aceptores).

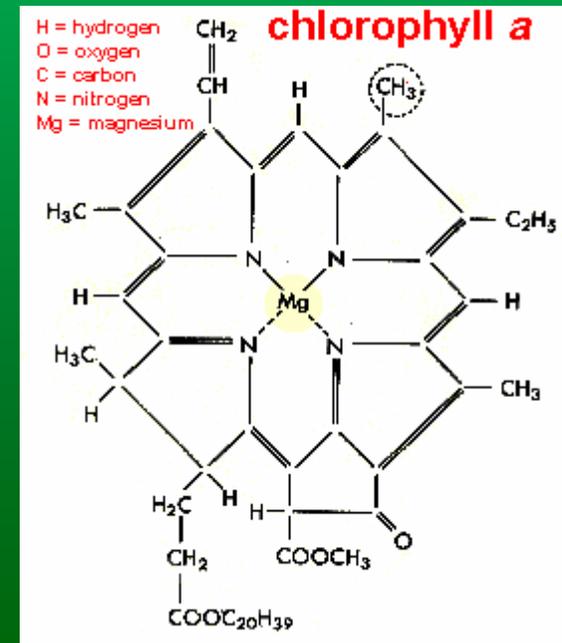
Permite a excitação de e- sob ação da luz.

Processo fundamental pelo qual a clorofila "captura" energia da luz solar.

Anel porfirínico não é exclusivo das clorofilas: presente em todos os organismos vivos.

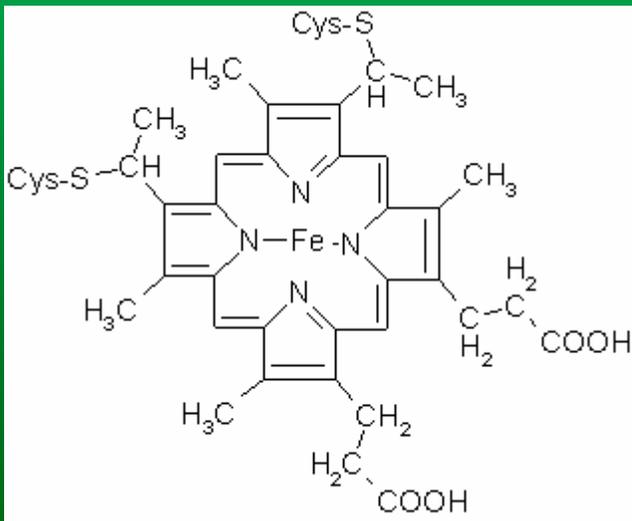
Nos organismos aeróbicos → presente nos citocromos (cadeia respiratória de transporte de e-). Também na hemoglobina

Nos organismos anaeróbicos → auxiliar no bombeamento de íons H⁺ para fora da célula, crucial para organismos que habitam ambientes com baixos pHs.



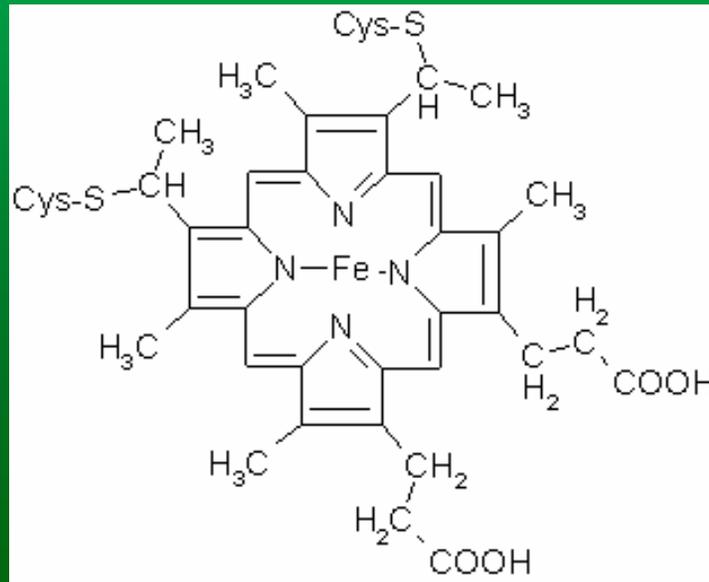
Citocromos são pigmentos, portanto também podem absorver luz.

Hipótese → Clorofilas podem ter se originado de citocromos que bombeavam íons (Dyar e Obar, 1994)



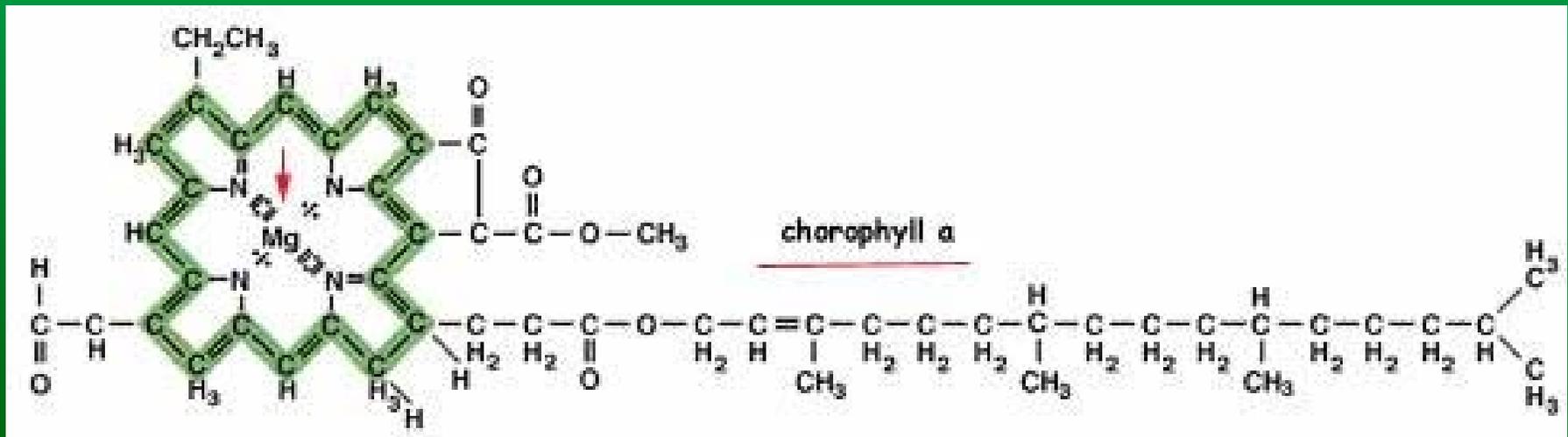
Citocromo → Fe em lugar de Mg

Hipótese → organismo mutante, num ambiente redutor, c/ aproveitamento da E da luz absorvida, antes dela ser perdida como calor → tremendo insumo de E → mais competitivo entre heterótrofos → citocromo deu origem à clorofila → autótrofos.

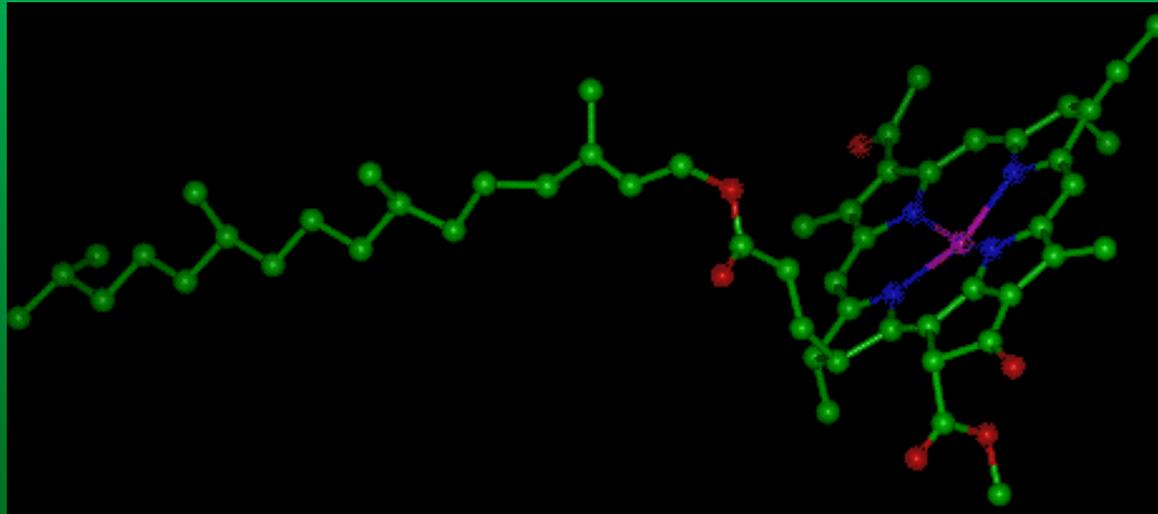


Fitol: características

- cadeia de polipeptídeos. Função do grupo lipofílico: inserção do pigmento na membrana do tilacóide e direcionamento na membrana.



- São componentes estruturais das reações luminosas: disposição espacial da molécula é condição *sine qua non* para funcionamento do pigmento na fotossíntese.

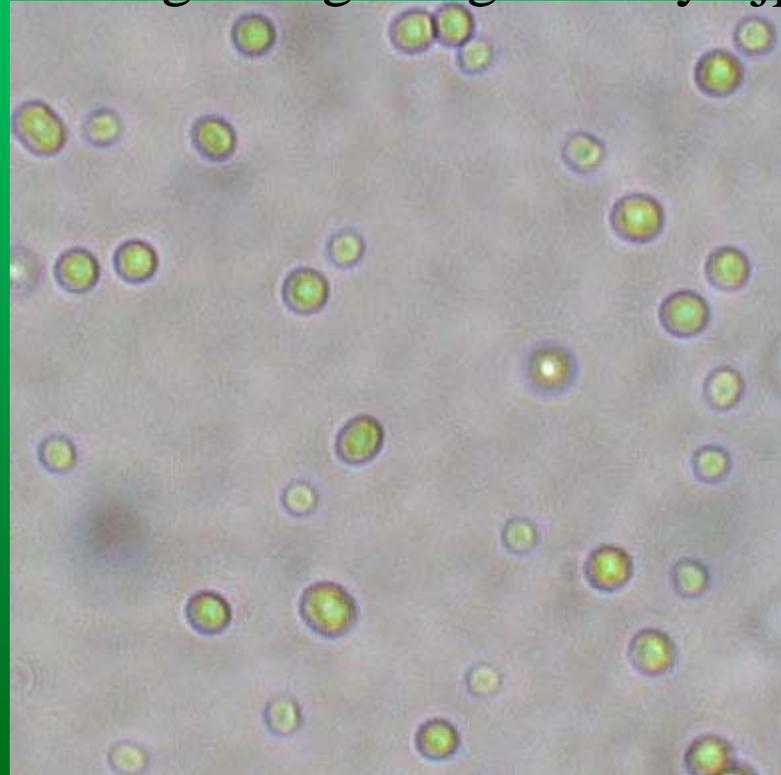


Ocorrência

- Todas as plantas, algas, cianobactérias e bactérias sulfurosas verdes contêm clorofila-a
- Clorofila-b: somente em proclorofitas, algas verdes e plantas.
- Clorofila-c, d, e, etc, : demais eucariotos: Cromistas, dinoflagelados, etc.
- A diferença entre as clorofilas destes grandes grupos foi uma das primeiras dicas de que eles não eram tão relacionados como se pensava anteriormente.

- Único organismo que possui Cl-d como principal pigmento fotossintético → *Acaryochloris marina* (cianobactéria)

genomes.tgen.org/images/acaryo.jpg



Acaryochloris marina

Propriedades de absorção das clorofilas

- absorção das clorofilas livres (em extratos) são \neq daquelas complexadas a proteínas e inseridas nos tilacóides.
- *in vivo* \rightarrow deslocamento para a região do vermelho de 5 a 40 nm do seu pico na faixa mais longa (deslocamento de Stoke).
- Além disso, *in vivo* englobam diversos tipos de complexos cl-a / proteína, com diferentes picos de absorção.
- Em extrato, esta organização é destruída pelo solvente orgânico.

- 4 tipos (no mínimo) de formas universais de clorofila-a *in vivo*: com máximos 662, 670, 677 e 684m.

- A existência de mais de uma forma espectral para as clorofilas b e d não foi ainda detectada.

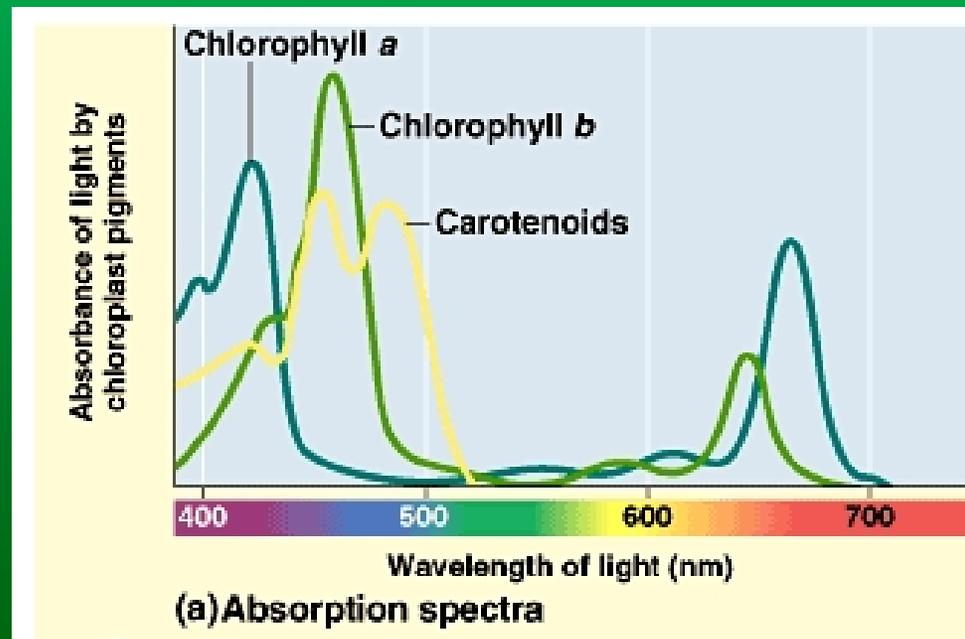
- Clorofila c: c_1, c_2, c_3

- Principal componente de captação de luz em plantas superiores (LH): associação cl-a/cl-b/ proteína.
- Fitoplâncton marinho: cl-a/cl-c/ proteína.
- Barret & Anderson, 1977, isolaram o complexo cl-a/cl-c em dinoflagelados. Clorofila-c contribui para a capacidade de absorção da luz azul.

Pigmentos acessórios

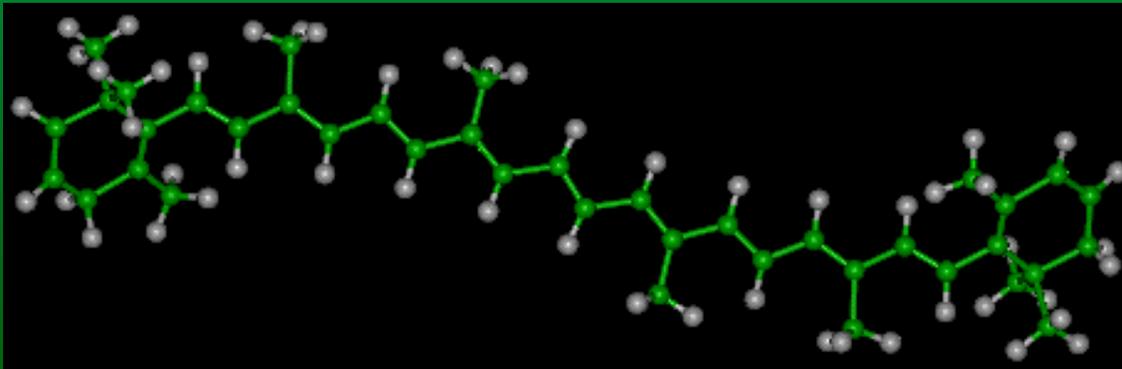
- Pigmentos secundários, que absorvem luz em comprimentos de onda distintos daqueles da clorofila. Eles não conseguem transferir a energia da luz solar diretamente para a via fotossintética, e devem passar sua energia absorvida para a clorofila-a.

Função: ampliar espectro de absorção, proteção e estabilização para o fotossistema.



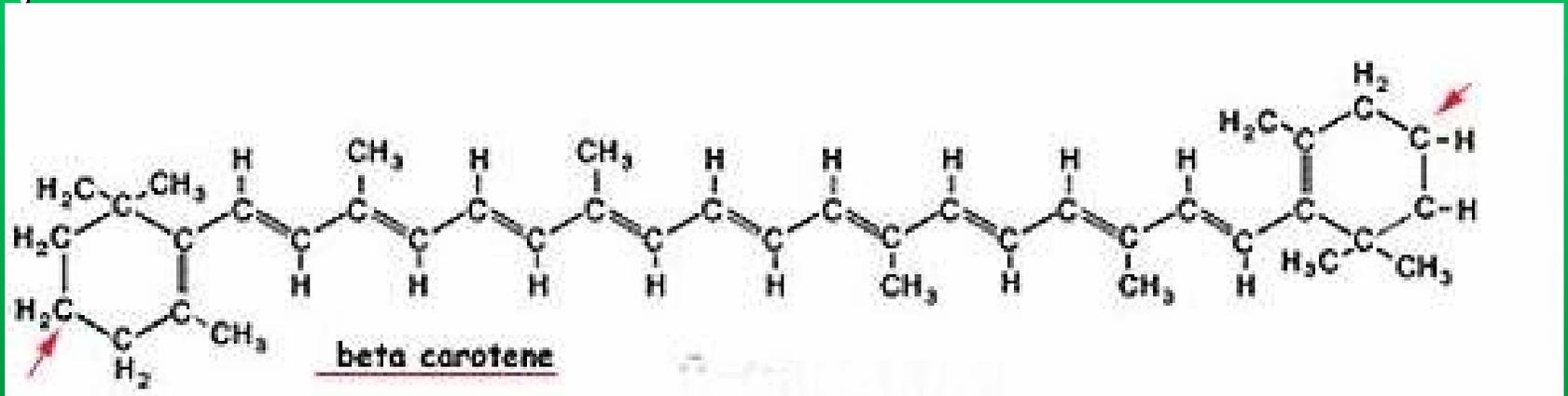
Carotenóides

- Amarelos, vermelhos e púrpura.
- Presentes em todos os organismos fotossintéticos.
- longas cadeias (dois pequenos anéis de seis carbonos conectados por uma cadeia de carbono).
não se dissolvem em água (são lipossolúveis) e devem estar ligados à membranas dentro da célula.
- 2 grupos: carotenos (hidrocarbonetos)
xantofilas (contém oxigênio)



Carotenóides

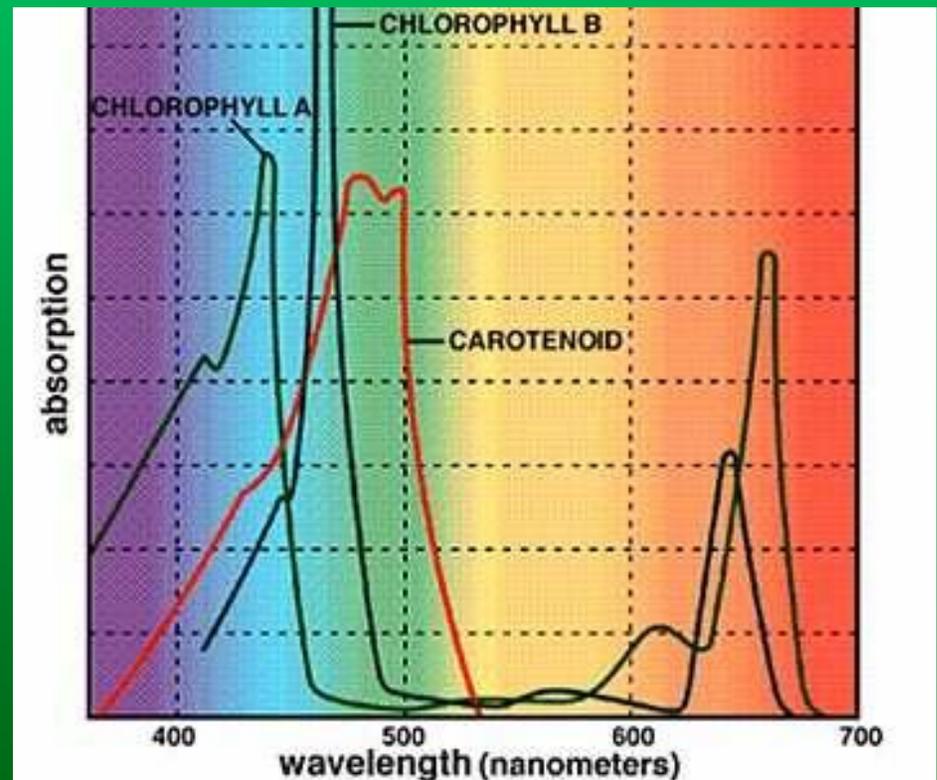
- O mais importante é o β -caroteno, vermelho, precursor da vitamina A nos animais.



- Xantofila, amarelo, segundo mais importante.
- Podem ser sintetizados "de novo" apenas por vegetais e bactérias fotossintetizantes. Animais \rightarrow carotenóides por herbivoria e alteram sua composição pela ação oxidante de enzimas digestivas.

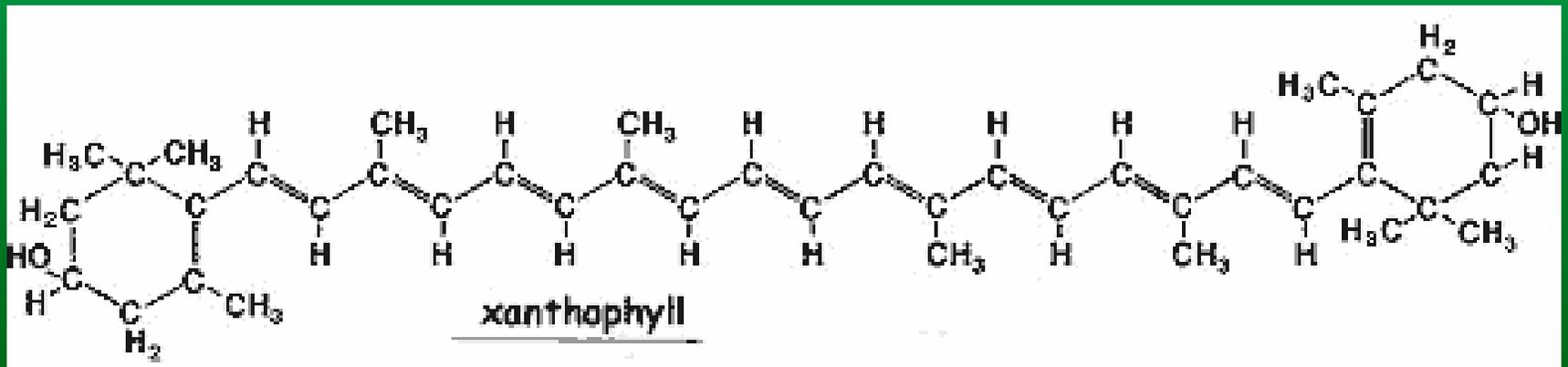
•No fitoplâncton, principais carotenóides: fucoxantina (marrom) e peridina, presentes em diatomáceas, dinoflagelados, crisofíceas, em quantidades maiores que cl-a ou cl-c.

•Excelentes fotorreceptores para luz verde-azul que penetra no oceano.



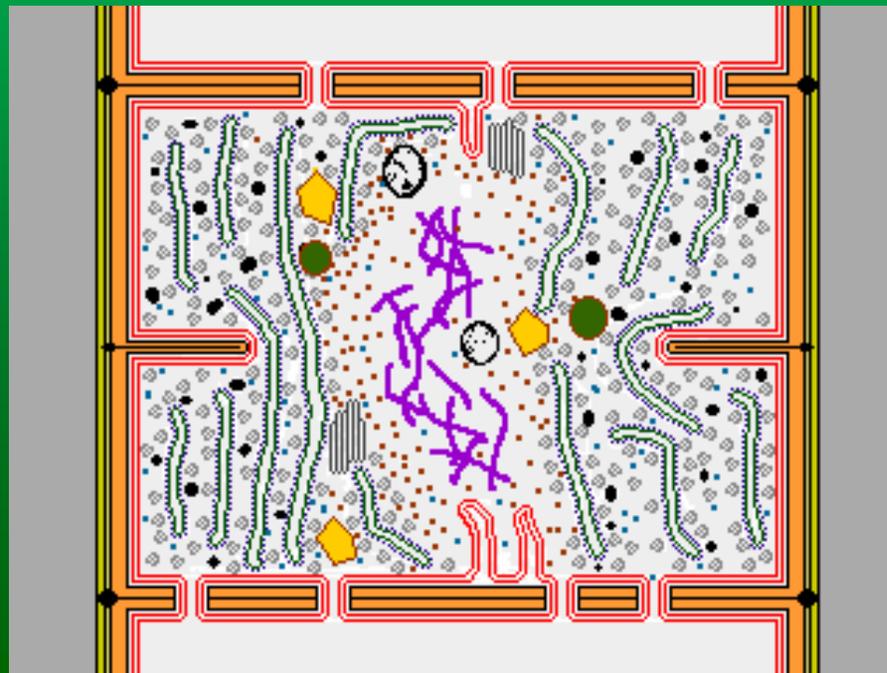
- Outra função igualmente importante dos carotenóides: ligada à proteção contra radicais livres produzidos pela radiação UV e outras radiações.
- Radicais livres: apresentam um e- extra que ataca ligações de outras moléculas.

• **Xantofilas** são carotenóides oxidados (com oxigênio na molécula) e não absorvem tão bem como carotenóides.

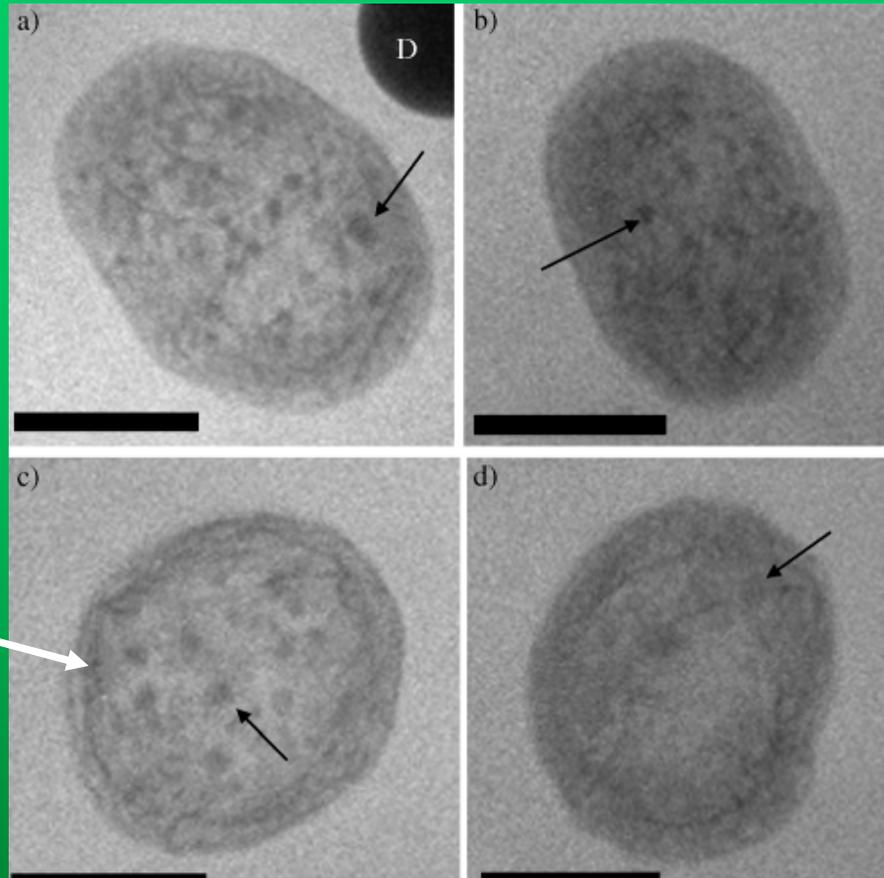


Sítio da Fotossíntese nos prócariotos.

- Cianobactérias → Invaginações da membrana celular na próximo à parede celular -> tilacóides -> cromatoplasma



cromatoplasma

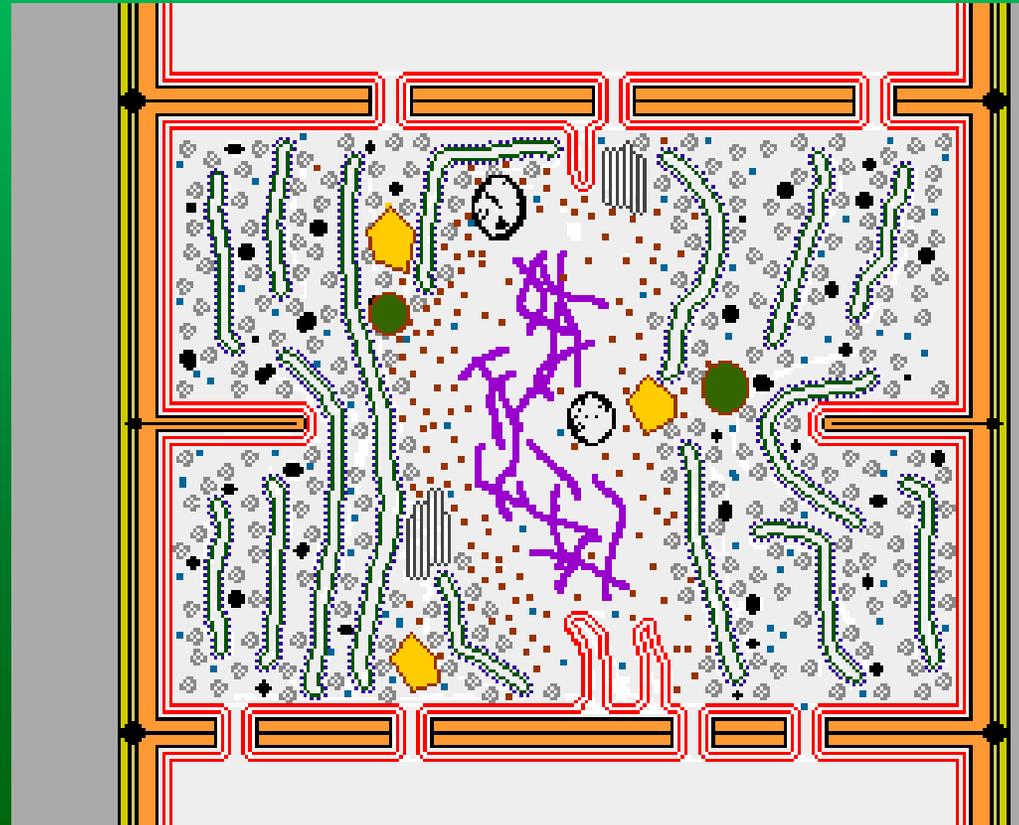


Exemplo de cromatoplasma em *Microcystis aeruginosa*.

JEARANA KUN & J. V. ABRAHAM-PESKIR *Journal of Microscopy*
218 (2) Página 185 - Maio 2005

Membranas (tilacoides) → Além da Cl-a, outros pigmentos antena, como b-caroteno, xantofilas, etc. Os tilacóides também apresentam um espaço intratilacoidal, que tem importante função durante a fotossíntese.

Presos à face citosol do tilacóide estão os ficobilissomos. Estas partículas (cinza no diagrama) também atuam como antenas



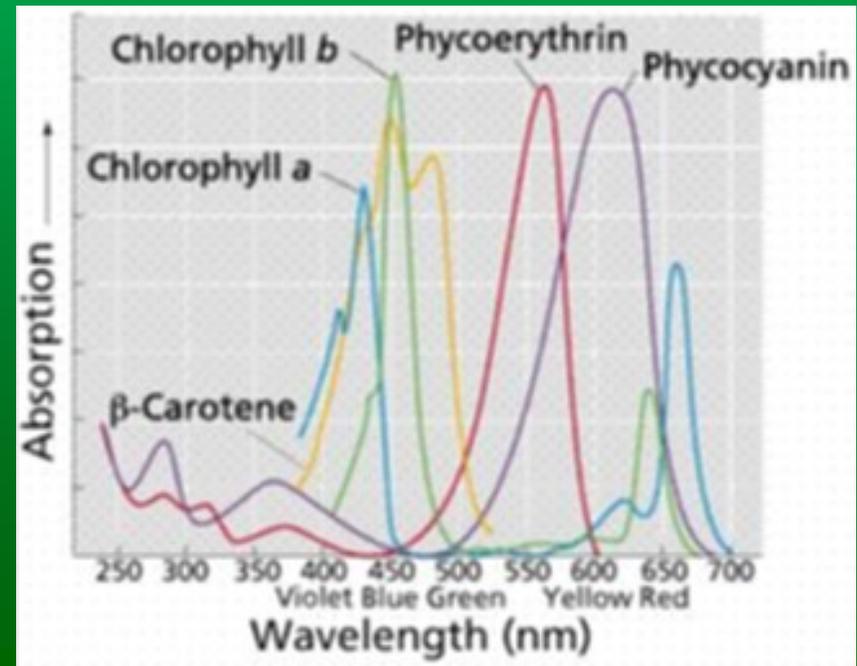
Os ficobilissomos consistem de ficobilinas (pigmentos) incluindo ficocianina (azuis) e ficoeritrina (vermelhos) que também atuam como pigmentos antena.

Enquanto muitas eubactérias apresentam apenas fotossistema I para oxidar H_2S (por exemplo) (fotossíntese anaeróbica), apenas as cianobactérias, microalgas e vegetais superiores têm fotossistema I e II.

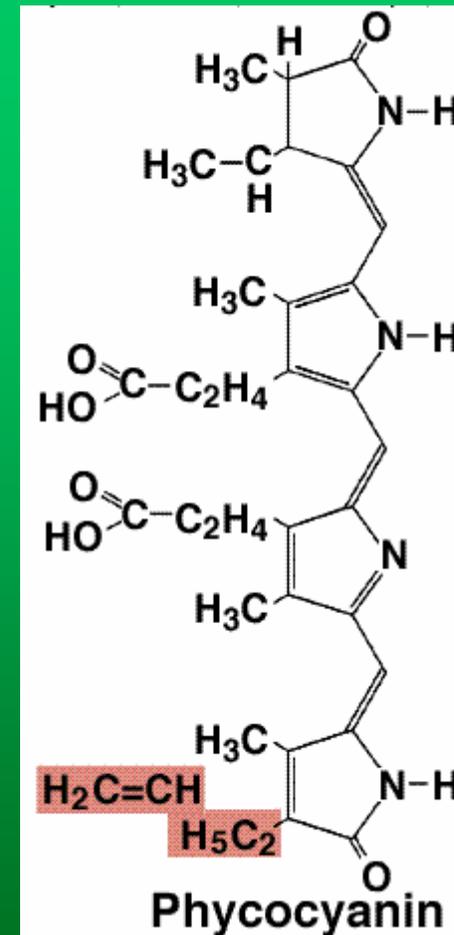
O fotossistema II permite utilizar a H_2O para reduzir o CO_2 .

Ficobilinas

- Pigmentos acessórios somente das rodofíceas e cianobactérias. Facilmente isoláveis (hidrossolúveis)
- Ficoeritrina (vermelha)- 500-570nm.
- Ficocianina(azul)550-650nm
- Aloficocianina (púrpura)
- máximo centrado em 650nm.



- Algas vermelhas: predomínio de ficoeritrinas
- Algas azuis: ficocianinas
 - Criptomonas: nunca aloficocianina.
- Características do espectro de absorção variam amplamente.



www2.mcdaniel.edu/.../photo/p3igments.html

Eubactérias não têm clorofila-a ->
bacterioclorofila.

propriedades de absorção luminosa distintas
da Clorofila: maior absorção no vermelho
termal fora do visível).

Para que?

Para que?

Recentes descobertas (Nisbet et al, 1995. Nature):
Útil para bactérias termofílicas móveis, (auxílio na busca da fonte de calor): termotactismo.

Fontes termais com \neq temperaturas apresentam bacterioclorofilas com espectros de absorção ajustados às diferentes temperaturas.

Assim como temos diversos tipos de clorofila (a, b, c1, c2, d, e etc..) temos também diversos tipos de bacterioclorofila (a, b, c...)

• Proclorófitas:

- como nas cianobactérias, maquinário fotossintético em invaginações da membrana celular (preserva o *espaço intratilacoidal* mas estroma não existe). Apresentam clorofila-a e b .



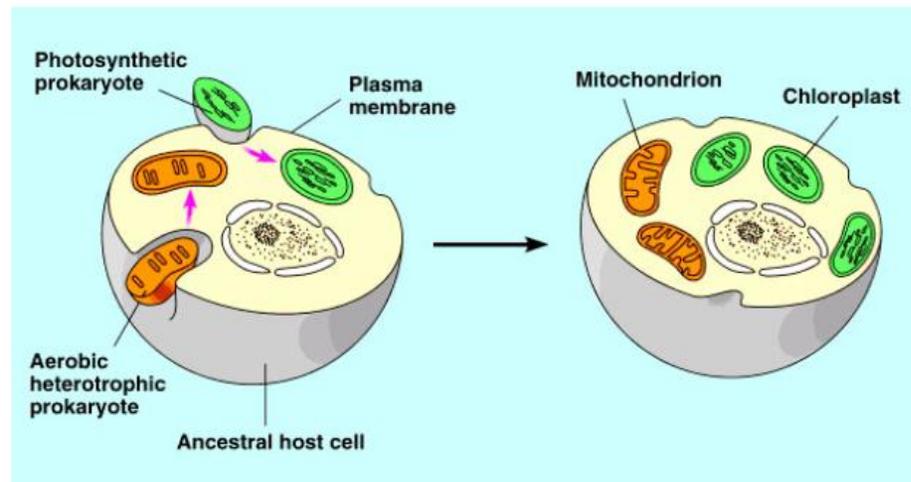
Proclorófitas

Biogênese dos cloroplastos: Hipótese da evolução endossimbiótica

- Evidências de que, evolutivamente, os cloroplastos eram bactérias livres (provavelmente cianobactérias, ou talvez, bactérias verdes não sulfurosas) → endossimbiose com organismos não fotossintéticos.
- **Quais seriam essas evidências?**
- 1- Cloroplastos só surgem a partir de outros cloroplastos. O núcleo produz algumas substâncias necessárias à sua duplicação mas a maior parte do genoma encontra-se no DNA contido no próprio cloroplasto. Núcleo apenas controla a produção

- 2- Cloroplasto e mitocôndrias → genomas mais \approx aos de prócariotos e não aos de eucariotos, consistindo de uma única molécula de DNA circular.

Endosymbiotic Hypothesis for the Origin of Mitochondria and Chloroplasts



3-Não existem histonas associadas ao DNA destas organelas.

4- síntese de proteínas destas organelas se parece mais com das bactérias do que com de eucariotos

5-a tradução pelo RNAt no ribossomo se inicia sempre pela fMet, metionina modificada (amino-ácido), produzida apenas por bactérias. A Met (metionina) é sempre produzido em eucariotos.

6-antibióticos que bloqueiam a síntese de proteínas em bactérias (p. ex. estreptomicina), bloqueiam estas organelas e não interferem na síntese no citoplasma dos eucariotos.

7-inversamente, inibidores da síntese proteica específicos de eucariotos, não interferem na síntese de bactérias e também na dos cloroplastos e mitocôndrias.

8- a rifampicina, antibiótico que inibe a RNA -polimerase de eucariotos, não inibe a de bactérias nem a de cloroplastos e mitocôndrias.

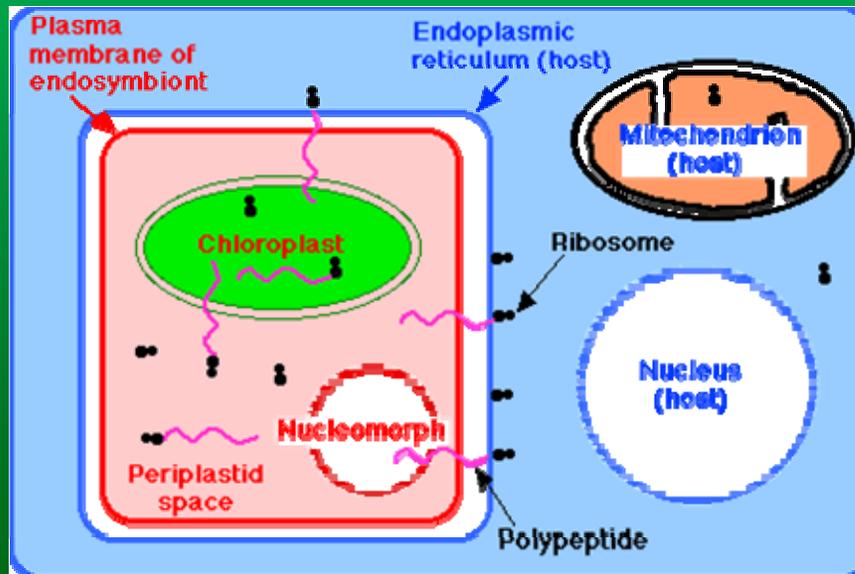
Os genes produzidos no cloroplasto geralmente estão associados às proteínas e enzimas dos fotossistemas.

Alguns genes estão contidos no DNA do núcleo. ex: RUBISCO- Ribulose bi-fosfato, (enzima que adiciona CO_2 no ciclo de Calvin) : duas sub-unidades: a maior é produzida no cloroplasto e a menor, no citoplasma e posteriormente importada pelo cloroplasto.

Endossimbiose secundária:

Após o desenvolvimento dos autótrofos eucariotos, inúmeros heterótrofos continuam vivendo em simbiose com esses organismos. Quando a história de simbiose ocorre há muito tempo, não é mais possível para os organismos viverem independentemente

Em dois grupos, criptomonas e clorarachnofíceas, é possível identificar vestígios de um núcleo eucariótico.



criptomonas:
protozoário que
engolfou uma alga
vermelha
Clorarachnofíceas:
protozoário que
engolfou alga verde.

Endossimbiose secundária ainda pode ocorrer?

Provavelmente. Cientistas japoneses (Okamoto, N. & Inouye, I., *Science*, 310:287, 14 Oct 2005) descobriram flagelado heterotrófico que engolfa uma alga verde unicelular que vive livre no ambiente.

Uma vez dentro da célula a alga perde o flagelo e o citoesqueleto

O hospedeiro perde seu aparato de alimentação, deixa de ser heterótrofo e passa a autótrofo e apresenta fototaxia.



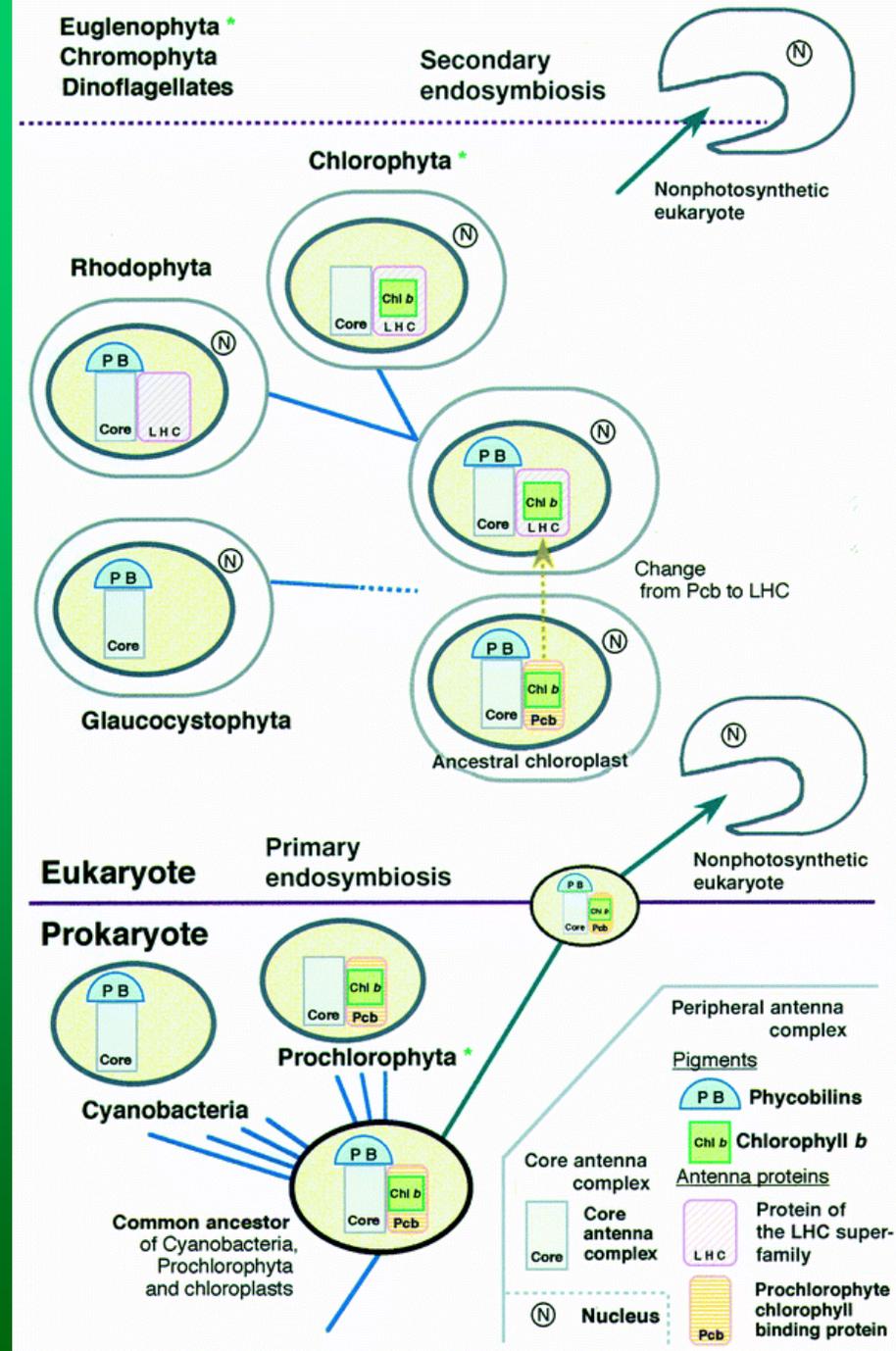
Hatena sp

: quando o organismo se divide: um autótrofo e um heterótrofo

Mixotrófico: autótrofo que pode viver em ambiente sem luz de modo heterotrófico → inúmeros grupos do fitoplâncton. Ex: dinoflagelados, algumas navículas (diatomáceas), etc

Muitas vezes spp ≠ do mesmo gênero

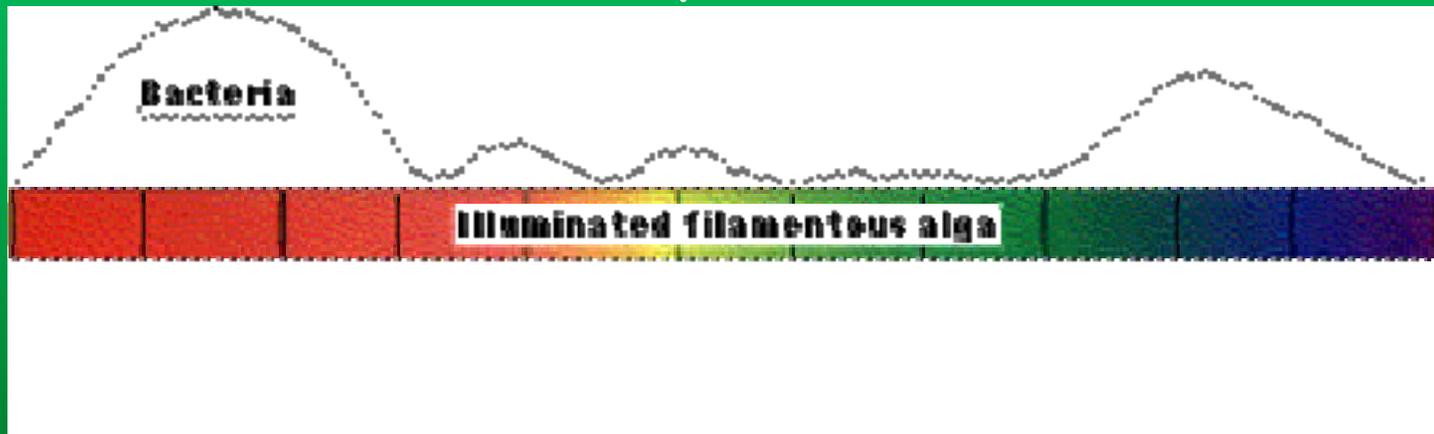
Endosimbiose primária e secundária



<http://www.nature.com/nature/journal/v400/n6740/images/400159ac.tif.2.gif>

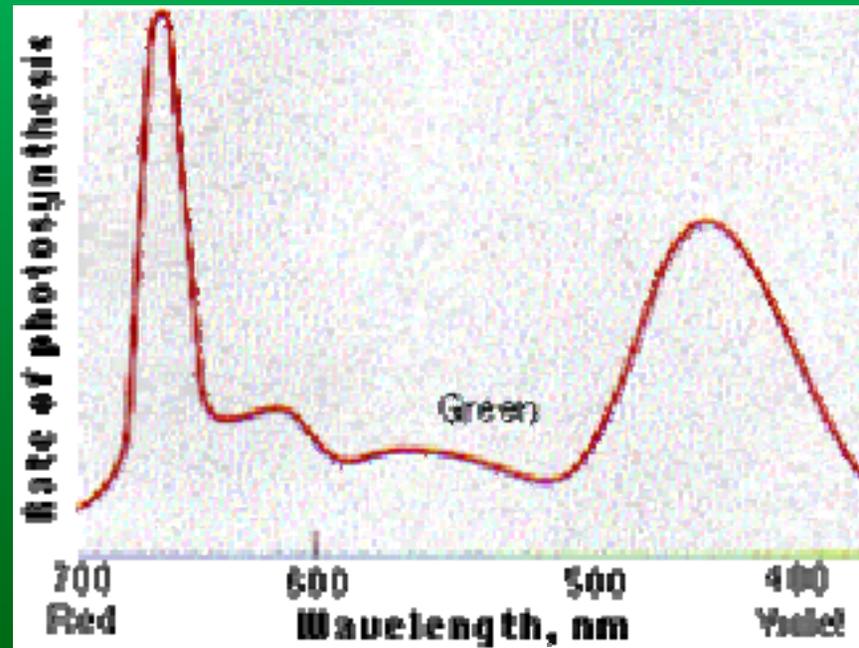
Espectro de ação X espectro de absorção

Espectro de ação é a taxa da atividade biológica em função de cada comprimentos de onda de luz.



Experimento de Engelmann, 1881, com alga verde filamentosa e delicado espectro de luz: após alguns minutos, bactérias aeróbicas móveis no meio agregadas em pontos específicos.

Assumi que bactérias procuravam regiões com mais O_2 , concluiu que luzes azul e vermelha eram mais efetivas para a fotossíntese.
Atualmente, com instrumentos mais modernos obtém-se figura como abaixo:

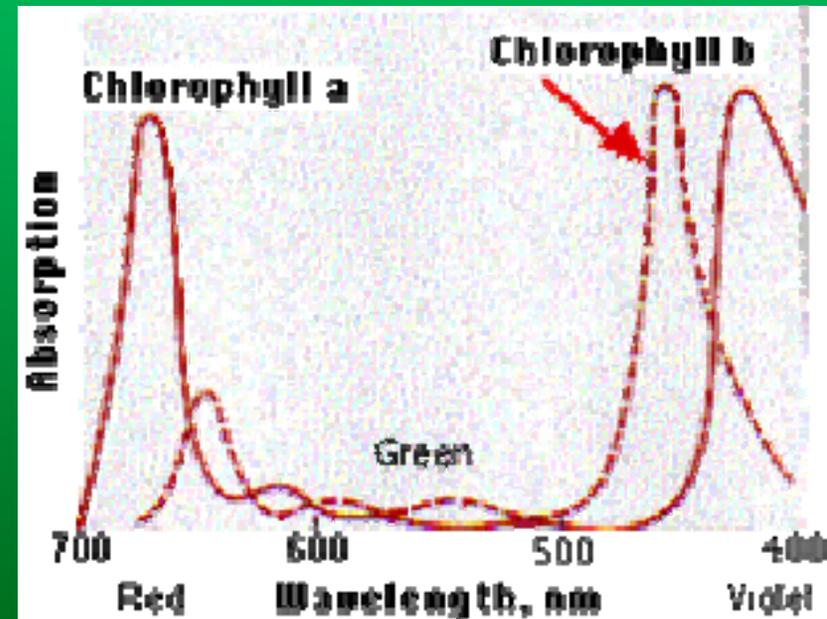


Espectro de absorção

Espectro de absorção é a intensidade de energia luminosa absorvido por uma determinada substância submetida a todos os comprimentos de onda

Medido com espectrofotômetro:

- Produz feixe monocromático ("cor única") que pode variar progressivamente de comprimento de onda;
- Passa o feixe por uma solução da substância, e mede a radiação que atravessa.



Clorofilas a e b absorvem fortemente na faixa do azul violeta e vermelho e menos no verde.

A similaridade entre o espectro de absorção da clorofila e o espectro de ação sugere fortemente que a clorofila é o pigmento mais importante no processo.

Os espectros não são idênticos porque os carotenóides da clorofíceia também absorvem nas faixa do azul.

Referências

Falkowski, P. and Raven, P.E. 1997 Aquatic Photosynthesis. Blackwell science, Malden, Ma.

Raven, P.E. & Eichorn, S.E., 1999. Biology of plants. 6th ed. W.H. Freeman and Company Worth Public. (cap. 7)

Singhal, GS; Renger, G.; Sopory, SK; Irrgang K-D.; and Govindjee, (Eds). "Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis", Narosa Publishers/New Delhi; and Kluwer Academic/Dordrecht, pp. 11-51

Links de interesse

<http://www.nature.com/nature/journal/v400/n6740/images/400159ac.tif.2.gif>

genomes.tgen.org/images/acaryo.jpg

www.bio.ilstu.edu/.../syllabi/222book/chapt2.htm

<http://web.mit.edu/esgbio/www/ps/physics.html#chloro>

<http://globalchange1/current/lectures>

<http://www.elmundo.es/elmundo/2005/10/18/ciencia/1129648508.html>