

8. ДИШЕЊЕ

Органските соединенија добиени при процесот на фотосинтеза, растенијата ги користат за растење, градба на нови клетки и органи, како и за формирање на резерви. Резервните материи се јавуваат во форма на јаглехидрати, масти и протеини. Тие се наоѓаат во семињата, плодовите, метаморфозираниот стебло и во коренот. Младите растенија, кои се развиваат од семе или од вегетативни органи пред да создадат листови имаат целосно хетеротрофна исхрана и растат благодарение на овие резервни соединенија. Всушност, при ’ртење на семето, резервните супстанции се искористуваат во различни метаболички процеси.

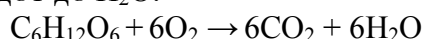
Хетеротрофниот начин на исхрана не се појавува само кај младите растенија. Во секое автотрофно растение постојат органи и ткива кои не се во состојба сами да ги произведат потребните органски соединенија. Такви се на пр., целиот коренов систем, спроводното, механичкото и меристемското ткиво, како и цветовите и плодовите. Исто така, во листот кој е носител на автотрофијата, постојат клетки кои се хетеротрофни. На темно, сите клетки од листот извршуваат процеси што се карактеристични за хетеротрофните клетки. Сите процеси на разградување кои всушност се **оксидациони процеси** се опфатени со терминот **дишење**.

Дишењето е процес во кој се **оксидираат органските соединенија** при што се ослободува енергија што се користи за одвивање на различни функции кај растенијата. Постои голема сличност меѓу растителните и животинските организми во однос на биохемиските процеси што учествуваат во дишењето, но, постојат и одредени разлики во дишењето меѓу животните и растенијата. Така, кај растенијата не постојат движења при процесот на дишење и тие немаат посебни органи за размена на гасовите со надворешната средина. O_2 до сите растителни клетки доаѓа по пат на дифузија, а на ист начин се ослободува и CO_2 . Тоа значи, дека кај растенијата под терминот дишење се подразбира само дишење на ниво на клетка, односно клеточно дишење.

Кај растителните организми, сите органски соединенија можат да се користат како супстрат за дишењето, но, сепак, најчесто се користат јаглехидратите и масите. Резервните протеини понекогаш можат да се користат како супстрат за дишењето, но, тоа се случува при гладување на растенијата. Дишењето се состои од неколку последователни или алтернативни биохемиски процеси. Во текот на дишењето, независно од супстратот што се користи се разликуваат следните фази:

- **подготвителна фаза**, во која доаѓа до разложување на сложените соединенија и до зголемување на енергетското ниво на супстратот;
- **фаза на оксидациона деградација на супстратот**, во која се раскинуваат врските помеѓу јаглородните атоми на органските соединенија. Во оваа фаза многу јаглородни атоми се оксидираат до CO_2 , а различните коензими се редуцираат;
- **фаза на повторна или терминална оксидација на коензимите**, која се состои во пренесување на електрони на O_2 при што се добива вода;
- **оксидациона фосфорилација**, односно синтеза на АТР која е поврзана со оксидацијата на коензимите.

Општата равенка на дишењето се претставува како оксидација на глукозата до CO_2 и редукција на кислородот до H_2O :



Процесите на оксидација на глукозата се многу сложени и се состојат од повеќе степени. Тие процеси се лоцирани во цитоплазмата, митохондриите, а дел и во пластидите. Кога при процесот на дишење се оксидираат масите, тогаш некои

делови од процесот се одвиваат и во другите органели, како што се сферозомите и глиоксизомите.

8.1 Јаглехидратите како супстрат на дишењето

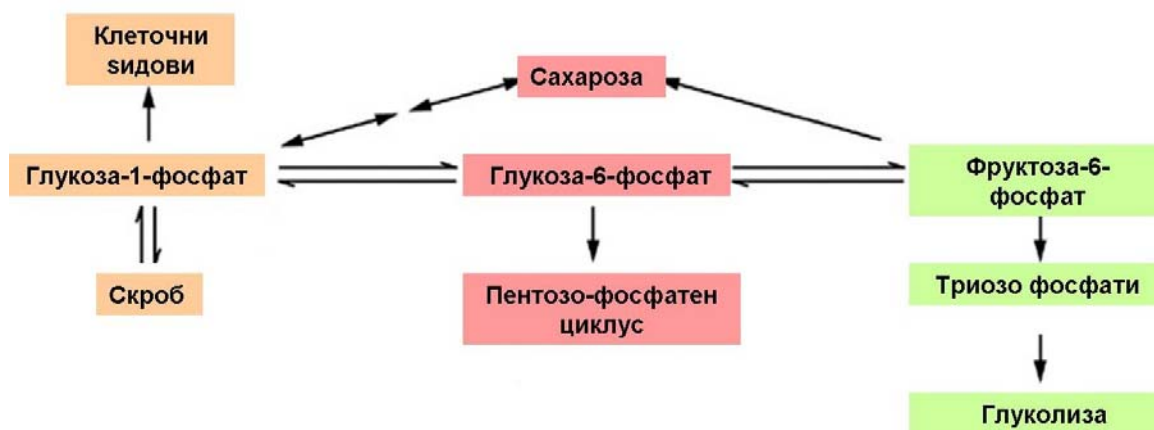
8.1.1 Синтеза на резервни јаглехидрати

Кај растителните организми присутни се разни форми на резервни јаглехидрати. Меѓу нив најраспространет е **скробот**, кој претставува полимер на α -D-глюкопираноза. Тој се состои од две компоненти: линеарни молекули на **амилоза** во која остатоците на глюкоза помеѓу себе се поврзани преку 1→4 врски и разгранети молекули на **амилопектин** во кој покрај 1→4 врските се јавуваат и 1→6 врски. Примарниот скроб се синтетизира во хлоропластите, додека во другите растителни органи скробот се синтетизира од сахарозата, а потоа влегува во клетките на ткивата за складирање. Во овие клетки, пропластидите се развиваат во амилопласти, во кои се врши синтезата на скроб. Амилопластите се органели со двојна мембрана, без внатрешен мембрански систем, исполнети со строма во која се наоѓа сопствен DNA молекул. Во клетките за складирање, сахарозата се разложува на два начина (Сл. 8.1). Првиот начин на разложување е со помош на ензимот **инвертаза**, кој ја разложува сахарозата на **глюкоза** и **фруктоза**, а потоа тие се фосфорилираат за да навлезат во амилопластот. Вториот начин на разложување на сахарозата се одвива со помош на ензимот **сахарозна синтаза** и **уридин дифосфат (UDP)**, при што се добиваат **уридиндифосфоглюкоза (UDPG)** и **фруктоза**. UDPG со помош на **пирофосфат (PPi)** и ензимот **пирофосфорилаза** преминува во **глюкоза-1-фосфат (G-1-P)** и **уридин трифосфат (UTP)**. G-1-P со помош на посебен хексозен транслокатор навлегува во амилопластот, каде со помош на **ADP-глюкозна пирофосфорилаза** преминува во **ADP-глюкоза**, која понатаму служи за синтеза на скроб. Ензимот **скробна синтаза**, оваа глюкоза ја пренесува на некој веќе постоен подолг или пократок синџир од α -1→4 глукан. Од амилозата се добива амилопектин и тоа откако на одредени места глюкозата ќе се поврзе преку 1→6 врски и на тој начин се добиваат разгранети молекули од амилопектин.

Некои растителни видови од фамилиите *Asteraceae* и *Campanulaceae* содржат **фруктозани** како резервни полисахариди. Меѓу нив, најраспространет е **инулинот**, кој е полимер на β -D-фруктофуранозата. Инулините се синтетизираат со надоврзување на фруктозата на сахарозата и поради тоа на краевите од синџирот имаат молекул на глюкоза. Кај некои растителни видови од фамилијата *Fabaceae* се наоѓаат резервни **галактотанани**, а кај орхидеите **глукоманани**. Некои растителни видови немаат полисахариди, туку кај нив резервните јаглехидрати се наоѓаат во форма на сахароза или како моносахариди кои се складираат во вакуолата. Кај алгите се присутни повеќе полисахариди, додека **квасците** и **габите** содржат **гликоген** како резервен полисахарид. Сите горенаведени јаглехидрати можат да бидат оксидирани при процесот на дишење, но, структурните полисахариди, како што се целулозата, хемицелулозата и пектините никогаш не се користат во процесот на дишење. Во подготвителната фаза од дишењето, полисахаридите и олигосахаридите прво се разложуваат на моносахариди, а потоа се фосфорилираат за да можат да се оксидираат. Кај растенијата најважни **супстрати** за дишење се **скробот** и **сахарозата**. Краен производ на нивната подготовка за дишење е **фруктоза-1,6-бифосфат**. Моносахаридите што се добиваат со разложување на другите јаглехидрати во подготвителната фаза прво се трансформираат во глюкоза или фруктоза, а потоа се фосфорилираат.

При оксидационската деградација на јаглехидратите, постојат два алтернативни начини: **глюколиза**, во која два пати се оксидира фосфорилираната фруктоза и

оксидациски пентозен циклус (директна оксидација) во кој супстратот претставува само еднаш фосфорилирана глюкоза.



Сл. 8.1 Метаболизам на сахарозата во нефотосинтетските клетки во кои се транспортира преку флоемот. Сахарозата со помош на инвертаза или сахарозна синтаза се разложува на глюкоза и фруктоза, кои се интерконвертибилни. Фосфорилираната глюкоза влегува во оксидацискиот пентозен циклус, фруктоза-6-фосфатот во глуколизата, а во амилопластите од глюкоза-1-фосфатот се синтетизира скробот.

8.1.2 Глуколиза

8.1.2.1 Подготвителна фаза

Скробните зрна кај растенијата се наоѓаат во хлоропластите и амилопластите. Скробот се разложува преку повеќе метаболички патишта. Ензимите **α -амилаза**, **β -амилаза** и **R-ензимот** ги разложуваат амилозата и амилопектинот. Ензимот **β -амилаза** ја хидролизира секоја втора α -1 $\rightarrow$ 4 врска, почнувајќи од нередуцираниот крај на молекулот на скробот и на ваков начин, **амилозата** целосно се разложува до малтоза. Потоа, малтозата се одвојува од слободните краеве на глуканските синџири на **амилопектинот**. **α -амилазата** ги хидролизира α -1 $\rightarrow$ 4 глюкозидните врски во внатрешноста на молекулот на скробот, при што се добиваат различни олигосахариди. **R-ензимот** е единствен ензим кој ги хидролизира 1 $\rightarrow$ 6 глюкозидните врски. Крајниот производ на овие типови на хидролиза е дисахаридот **малтоза**, кој под дејство на ензимот **малтаза** се разложува на две молекули глюкоза.

Со помош на **хексокиназа** и АТР, глюкозата се фосфорилира во **глукоза-6-фосфат (G-6-P)**, која подоцна преминува во **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)**. Резервниот скроб во семињата најчесто се разградува со помош на овој ензим. Меѓутоа, при разградување на скробот во хлоропластите се користи ензимот **скробна фосфорилаза**, која го врзува неорганскиот фосфат и се добива **глукоза-1-фосфат (G-1-P)**, шеќер кој под дејство на ензимот **фосфоглукомутаза** преминува во **G-6-P**. Во двата случаи, **G-6-P** со помош на **фосфоглукозната изомераза** преминува во својот изомер **F-6-P**. Следниот чекор е уште една фосфорилација на **F-6-P**, при што се добива два пати фосфорилирана **фруктоза-1,6-бифосфат (F-1,6-BP)**.

Сахарозата главно се наоѓа во вакуолите и оттаму излегува во цитоплазмата каде што се разложува на два начина. Со помош на ензимот **инвертаза**, сахарозата се разложува на **глукоза** и **фруктоза**. Глукозата во цитоплазмата (цитосолот) во присуство на АТР и ензимот **хексокиназа** преминува во **G-6-P**, кој под дејство на ензимот **изомераза** преминува во **F-6-P**. Вториот начин за разложување на сахарозата се одвива со помош на ензимот **сахарозна синтетаза**, што претставува реверзија на синтетскиот процес. При овој начин на разложување на сахарозата

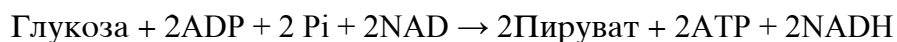
учествува **уридин трифосфатот (UTP)**, а добиените производи се **фруктоза** и **уридин-дифосфоглукоза (UDPG)**. Во натамошниот процес учествува **пирофосфатот (PPi)**, од кого ензимот **UDP-глюкозна пирофосфорилаза** пренесува една фосфатна група на глюкозата, а втората ја користи за регенерација на UTP. Притоа се добива G-1-P, кој преку G-6-P преминува во **F-6-P**, а од него со уште една фосфорилација се добива **F-1,6-BP**. Донори на фосфатната група за втората фосфорилација можат да бидат **АТР** или **пирофосфатот**, а ензими кои притоа учествуваат се прва **фосфофруктокиназа (PFK)** која е зависна од **АТР** и втора **PFK** зависна од **PPi**. Користењето на **PPi** за фосфорилација е првата важна разлика во почетната фаза од дишењето помеѓу растителните и анималните клетки.

8.1.2.2 Фаза од фруктоза-1,6-бифосфат до пируват

Глуколизата е процес на разложување и оксидација на шеќерите од **F-1,6-BP** до **пируват**. **F-1,6-BP** под дејство на ензимот **алдолаза** се разложува на две триози, **глицералдехид-3-фосфат (3-GAP)** и **дихидроксиацетон фосфат (DHAP)**. Овие две триози се во рамнотежа преку ензимот **триозофосфатна изомераза**. Иако во натамошните реакции се троши само **3-GAP**, неговиот недостаток постојано се надополнува преку трансформација на **DHAP** под дејство на изомераза, така што се искористуваат двете половини од молекулот на фруктозата (Сл. 8.2).

3-GAP се оксидира и тоа е единствената оксидациска реакција во процесот на глуколиза. Оксидацијата се врши со помош на ензимот **глицералдехид-3-фосфатна дехидрогеназа**, чиј коензим е **NAD** и при тоа преминува во **NADH**. Оксидацијата на алдехидот во киселина е проследена со ослободување на енергија која го активира неорганскиот фосфат, така што тој се врзува преку макроенергетска врска за супстратот и се добива **1,3-бифосфоглицеринска киселина (1,3-бифосфоглицерат)**. Во следната фаза, оваа киселина ослободува една фосфатна група, која ја прима **ADP** и преминува во **АТР** со учество на ензимот **фосфоглицератна киназа**. На тој начин се добива **3-фосфоглицеринска киселина (3-фосфоглицерат=3-PGA)**, која под дејство на ензимот **фосфоглицератна мутаза** дава **2-фосфоглицеринска киселина (2-фосфоглицерат)**, а на неа дејствува ензимот **енолаза** преку одземање на еден молекул на вода. На ваков начин се добива **фосфоенолпируватска киселина (фосфоенолпируват=PEP)**, од која ензимот **пируватна киназа** одзема фосфат и го пренесува на **ADP** при што се добива **пируватска киселина (пируват)** и **АТР**. Всушност со добивање на пируватот се завршува процесот на глуколиза (Сл. 8.2).

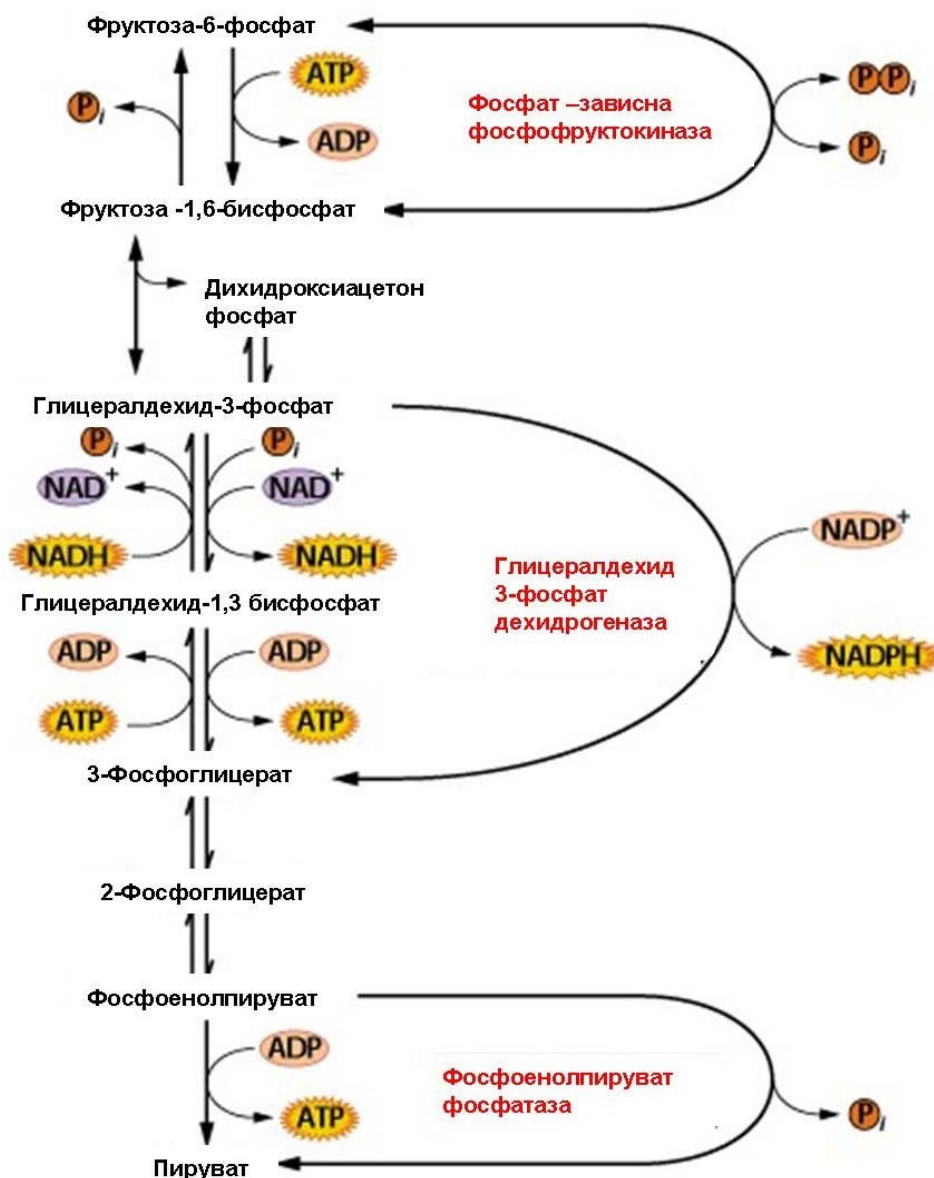
Билансот на глуколизата може да се прикаже преку следната равенка:



Енергијата што се ослободува при оксидација на 3-GAP се складира во редукцискиот еквивалент (**NADH**) и во фосфатните врски на **АТР**. Овој процес се нарекува **супстратна фосфорилација**, бидејќи синтезата на **АТР** е директно поврзана со оксидацијата на супстратот. Имено, на **1 mol** **глукоза** се добиваат **4 mol** **АТР**, а бидејќи **2 mol** **АТР** се трошат за фосфорилирање на фруктозата, тогаш чистиот принос на целиот процес изнесува **2 mol** **АТР**.

За растенијата е познато дека во одредени реакции наместо **АТР** користат **PPi** и всушност на таков начин тие штедат **АТР**. Растенијата имаат и посебен ензим **глицералдехид-3-фосфатна дехидрогеназа**, која го оксидира 3-GAP со помош на **NAD** коензимот и тоа без истовремена фосфорилација на **ADP**. Ензимот **фосфоенолпируватна фосфатаза** го дефосфорилира **PEP** и при тоа се одвојува неоргански фосфат без користење на **ADP** (Сл. 8.2). Овие реакции за растението

имаат значење кога нема доволно достапни фосфати во почвата и на тој начин се врши штедење на аденилните нуклеотиди за други процеси во кои истите се незаменливи. Можноста за одвивање на гликолизата при недостаток на ADP придонесува да се обезбедат меѓупроизводи од гликолизата за други синтетски процеси.



Сл. 8.2 Шематски приказ на процесот на гликолиза (Buchanan и сор., 2002).

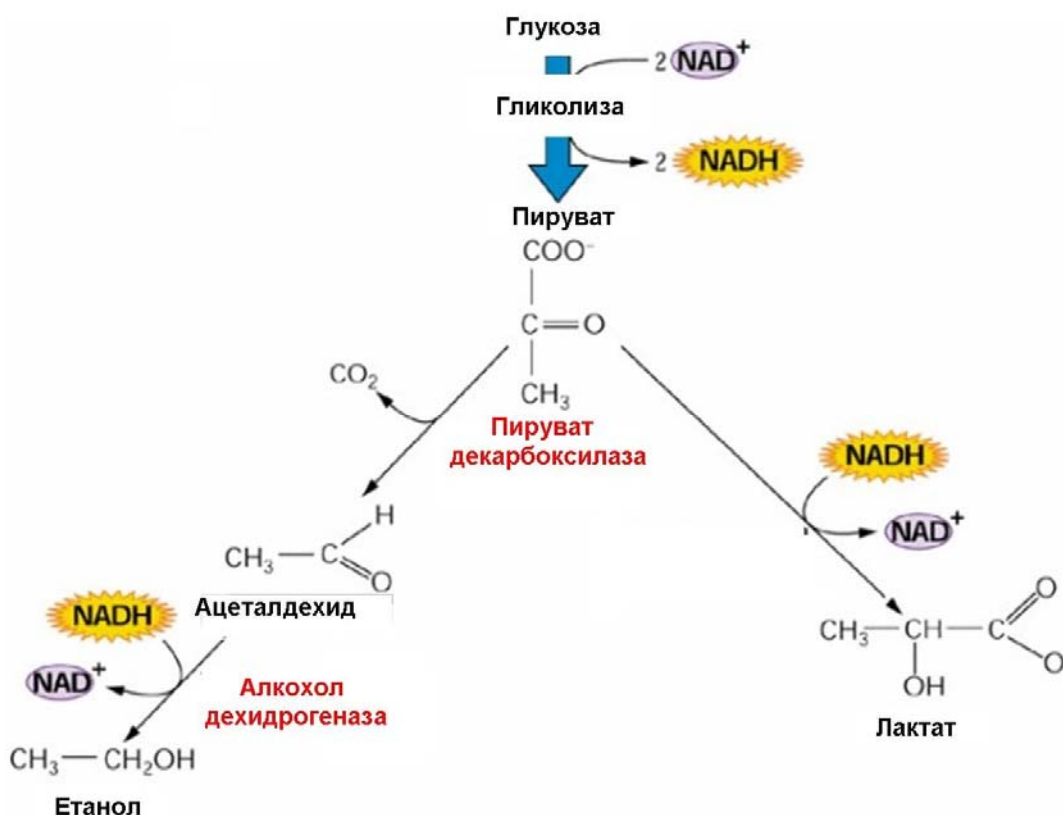
8.1.2.3 Врска на гликолизата со други процеси

Гликолизата е метаболички процес кај сите живи организми и се состои од десет реакции, кои во сите клетки се биохемиски идентични. Живите организми (бактерии, квасци, растенија и животни) се разликуваат по начинот на искористување на производите од гликолизата, начинот на регулирањето на овој процес, како и по местото каде што се одвива процесот во клетката. Растителните клетки имаат некои карактеристики по кои особено се разликуваат од анималните клетки (Plaxton, 1996). Всушност, кај растенијата гликолизата е основен катаболички процес кој се одвива во анаеробни услови, но, кај нив овој процес се користи за добивање на интермедиерни соединенија кои служат како почетни

супстрати за другите синтетски процеси. Ова се однесува на глюкозата и фруктозата и на нивните фосфорилирани деривати, на 3-фосфоглицеринската киселина, фосфоенолпирогроздовата киселина и пируватот. Целиот процес на гликолиза многу често се одвива во спротивна насока при што се создаваат шеќери (глюконеогенеза). Врската на гликолизата со другите процеси е претставена на Сл. 8.5. Процесот на гликолиза во растителните клетки се врши во цитоплазмата (цитосолот) кога како супстрат се користи сахароза, но и во пластидите (амилопластите и хлоропластите) во услови на темно. Иако овие процеси се идентични, сепак, се одвиваат со помош на посебна група изоензими кои се кодирани од посебни гени. На ваков начин, во една клетка паралелно може да се одвиваат два гликолитички процеси, во иста или спротивна насока. Меѓупроизводите на процесот се разменуваат преку транслокатори на мембраните од пластидите.

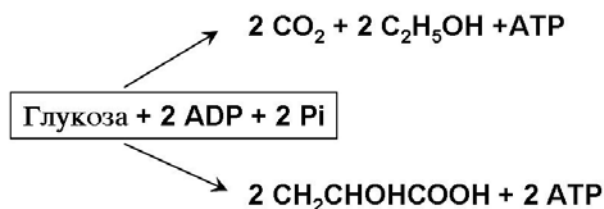
8.1.3 Ферментација

Пирогроздовата киселина (пируват) со која завршува процесот на гликолиза може да се искористи на два начина зависно од надворешните услови. Ако надворешната средина е анаеробна тогаш доаѓа до процес на **ферментација**, додека во присуство на O_2 , пируватот се оксидира во циклусот на трикарбоксилните киселини (Кребсов циклус). NADH кој се добива при процесот на гликолиза не може повторно да се оксидира во анаеробни услови, а во редуцирана форма може да предизвика прекинување на процесот. Во ваков случај, NADH повторно се оксидира на два начина и тоа во процесите што се означени како **алкохолна** и **млечно-киселинска ферментација** (Сл. 8.3).



Сл. 8.3 Шематски приказ на процесот на ферментација. Пируватот што се создава при гликолизата преминува во етанол при алкохолна ферментација, а при млечно-киселинска ферментација во лактат (Buchanan и сор., 2002).

При алкохолната ферментација, пируватот со помош на **пируватна декарбоксилаза** се декарбоксилира, при што се добива CO_2 и **ацеталдехид**, кој потоа се редуцира во **етилалкохол (етанол)**. Редукцијата се врши со помош на ензимот **алкохолна дехидрогеназа**, кој го користи коензимот NADH (редуциран при оксидацијата на 3-GAP). Според тоа, производи на алкохолната ферментација се CO_2 и етилалкохол. При млечнокиселинска ферментација, ензимот **лактатна (млечна) дехидрогеназа** со коензимот NADH го редуцира пируватот при што се добива **млечна киселина (лактат)**. Билансот на ферментацијата може да се претстави преку равенката:



Процесот на ферментација во споредба со гликолизата дава многу мал енергетски принос, бидејќи NADH се троши за редукција. Имено, 2 mol ATP врзуваат околу 15 kcal или околу 2.5% од енергијата што ја содржи 1 mol глукоза.

8.1.3.1 Ферментација кај виши растенија

Алкохолната и млечната ферментација се карактеристични процеси за некои микроорганизми. Позната е употребата на квасните габи за алкохолното вриење во индустриското производство на леб и пиво. Во млечната ферментација, при производството на млеко и на други производи се користат бактериите од родот *Lactobacillus*.

Вишите растенија вршат алкохолна ферментација (Сл. 8.3) само во исклучителни случаи и тие не се во можност подолго време да живеат во анаеробни услови. Семињата во првата фаза од 'ртењето ја ферментираат глюкозата по анаеробен пат поради тоа што кислородот не минува низ семеновата обвивка, или поради тоа што сеуште немаат развиен ензимски систем за аеробно дишење. Исто така, корените на многу растителни видови може да се најдат во анаеробни услови поради големото количество на вода во почвата. Но, има и такви растителни видови (оризот во раната фаза од развитокот) кои се адаптирани да живеат во присуство на мали количества на O_2 во почвата. Сепак, способноста на вишите растенија повремено да се адаптираат во анаеробни услови е еден од начините за преживување.

8.1.4 Циклус на трикарбоксилните киселини (Кребсов циклус)

Циклусот на трикарбоксилните киселини (Кребсов циклус) кај сите живи организми се одвива во матриксот на митохондриите, но, кај растенијата тој се одвива и во микротелцата. Растителните митохондрии вршат многу функции на специфичен начин и поради тоа се разликуваат од анималните митохондрии (MacKenzie и McIntosh, 1999). Во метаболизмот на сите аеробни клетки, **циклусот на трикарбоксилните киселини** е еден од најважните процеси. Тој скратено е познат и како **ТСА циклус** (= tricarboxylic acid), **циклус на лимонската киселина** (по првата киселина што се добива во текот на циклусот) или **Кребсов циклус** (по авторот кој ја открил неговата функција). Во овој циклус доаѓа до оксидациона деградација на

јаглеродните синџири. Соединението што влегува во циклусот е **ацетил-СоА**, така што сите процеси во кои се добива ацетил-СоА се поврзани со овој циклус.

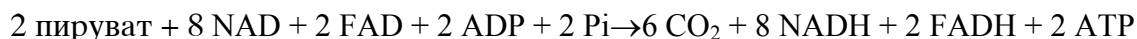
Пируватот како финален производ на глуколизата од цитоплазмата преминува низ внатрешната мембрана на митохондријата со помош на еден протеински транслокатор кој го разменува пируватот за OH^- јонот. Пируватот дава **ацетил-СоА** после неколку реакции. Овие реакции се одвиваат со помош на комплекс од три ензими познат како **пируватна дехидрогеназа**. Во комплексот влегуваат неколку субединици од ензимите за кои се поврзани како кофактори: **тиамин пирофосфат, липонска киселина и коензимот А**. **Тиамин пирофосфатот (ТРР)** е дериват на тиаминот (витамин B_1) и има функција на кофактор на повеќе ензими кои имаат влијание на α -кетокиселините пренесувајќи дикарбонски кетолан фрагмент на други соединенија. **Липонската киселина** на соседните јаглеродни атоми содржи два атома на сулфур, така што може да постои во оксидирана ($-\text{S}=\text{S}-$) или редуцирана ($\text{HS}-\text{SH}$) форма. **Коензимот А (СоА)** е соединение во кое ADP е врзан за пантотеинот, дериват на витаминот пантотенска киселина. Тој во многу реакции пренесува дикарбонски ацетилен остаток. На пируватот прво дејствува ензим кој ослободува CO_2 , а дикарбонскиот остаток се врзува за ТРР, кој го пренесува на оксидираната липонска киселина. Во тој комплекс, ацеталдехидниот остаток се оксидира во ацетат, а липонската киселина се редуцира. Ацетилниот фрагмент се пренесува на СоА, така што се создава ацетил-СоА. Липонската киселина повторно се оксидира со помош на третиот ензим оксидоредуктаза чиј коензим е NAD . Оваа последна реакција ја инхибира арсенитот (AsO_3^-).

8.1.4.1 Оксидација на органските киселини

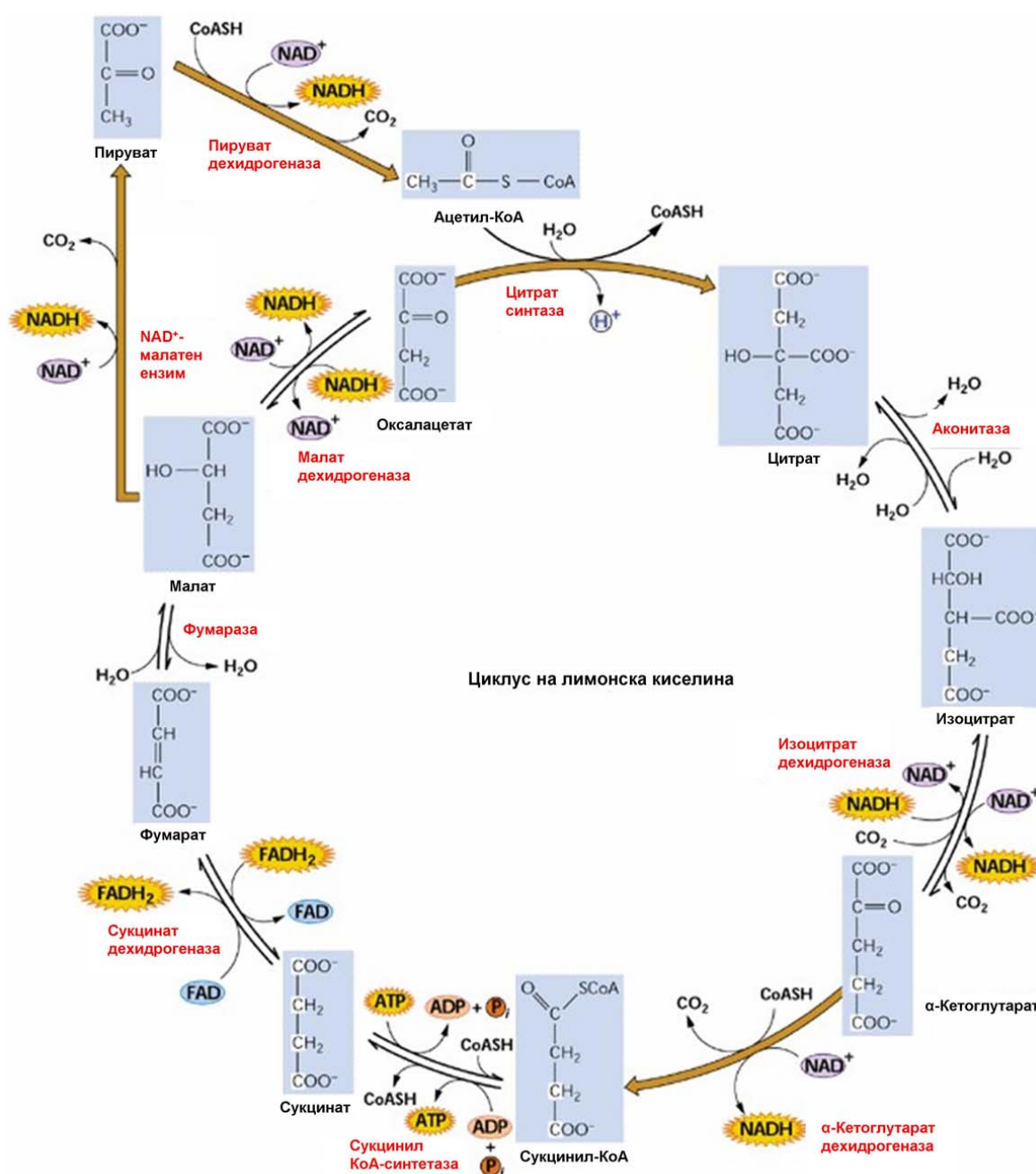
Ацетил-СоА содржи тиоестерска врска богата со енергија на сметка на кондензацијата на ацетатот со **оксалоцетната киселина (оксалацетат)** под дејство на **лимонска (цитрат) синтаза**, при што повторно се ослободува коензимот А (СоА). Производ на оваа кондензација е првата трикарбоксилна киселина **лимонска киселина (цитрат)** (Сл. 8.4). Под дејство на ензимот **аконитаза**, лимонската киселина губи молекул на вода и преминува во **цис-аконитинска киселина (cis-аконитат)**, која со повторно додавање на молекул на вода, преминува во **изолимонска киселина (изоцитрат)**. Во овој случај се врши промена на местото на $-\text{OH}$ групата од третиот на четвртиот C -атом, во форма во која е можна оксидација. Потоа, ензимот **изолимонска (изоцитрат) дехидрогеназа** чиј коензим е NAD ја оксидира изолимонската киселина во **оксалокилибарна киселина (оксалосукцинат)**, која останува врзана за ензимот и веднаш губи CO_2 при што преминува во **α -кетоглутарна киселина (α -кетоглутарат)**.

Еден комплекс на ензимот **α -кетоглутарна дехидрогеназа** иреверзибилно ја одвива оксидациона декарбоксилација на α -кетоглутаратот. Во овој комплекс учествува и тиамин пирофосфатот, липонската киселина и СоА. Реакцијата е слична со оксидациона декарбоксилација на пируватот. Од α -кетоглутаратот се одзема CO_2 , а остатокот од 4 јаглеродни атоми се оксидира со помош на липонската киселина и преку врзување за СоА се добива **сукцинил-СоА**. Потоа, оваа естерска врска со помош на **сукцинатна тиокиназа** се разложува и се добиваат **килибарна киселина (сукцинат)** и СоА, а ослободената енергија од тиоестерската врска се користи за синтеза на еден молекул на ATP . Кај анималните клетки на ова место во митохондриите се формира GTP . Потоа, килибарната киселина (сукцинат) се оксидира во **фумарна киселина (фумарат)**, а реакцијата се одвива со помош на ензимот **килибарна дехидрогеназа (сукцинат дехидрогеназа)** чиј коензим е **флавин аденин динуклеотид (FAD)**. Овој ензим не е присутен во матриксот на

митохондриите, туку е врзан за внатрешната мембрана и припаѓа и на електрон транспортниот синџир. Фумарната киселина (фумарат) преминува во **јаболкова киселина (малат)** преку примање на вода со помош на ензимот **фумараза**. Ензимот **јаболкова дехидрогеназа (малат дехидрогеназа)** со коензимот NAD ја оксидира јаболковата киселина во оксалоацетат и на тој начин повторно се регенерира почетното соединение од циклусот. Од шемата на Сл. 8.4 се гледа дека три јаглеродни атоми влегуваат во циклусот како пируват, а се добиваат 3 CO₂. Билансот на TCA циклусот може да се претстави на следниот начин.



Со фосфорилација на супстратот се добиваат 2 mol ATP на 1 mol глюкоза, како и редуцирани коензими (8 NADH и 2 FADH), кои со повторна оксидација во крајниот степен на дишењето даваат соодветен број молекули на ATP (Сл. 8.4). Сите јаглеродни атоми од глюкозата се оксидирани во CO₂.



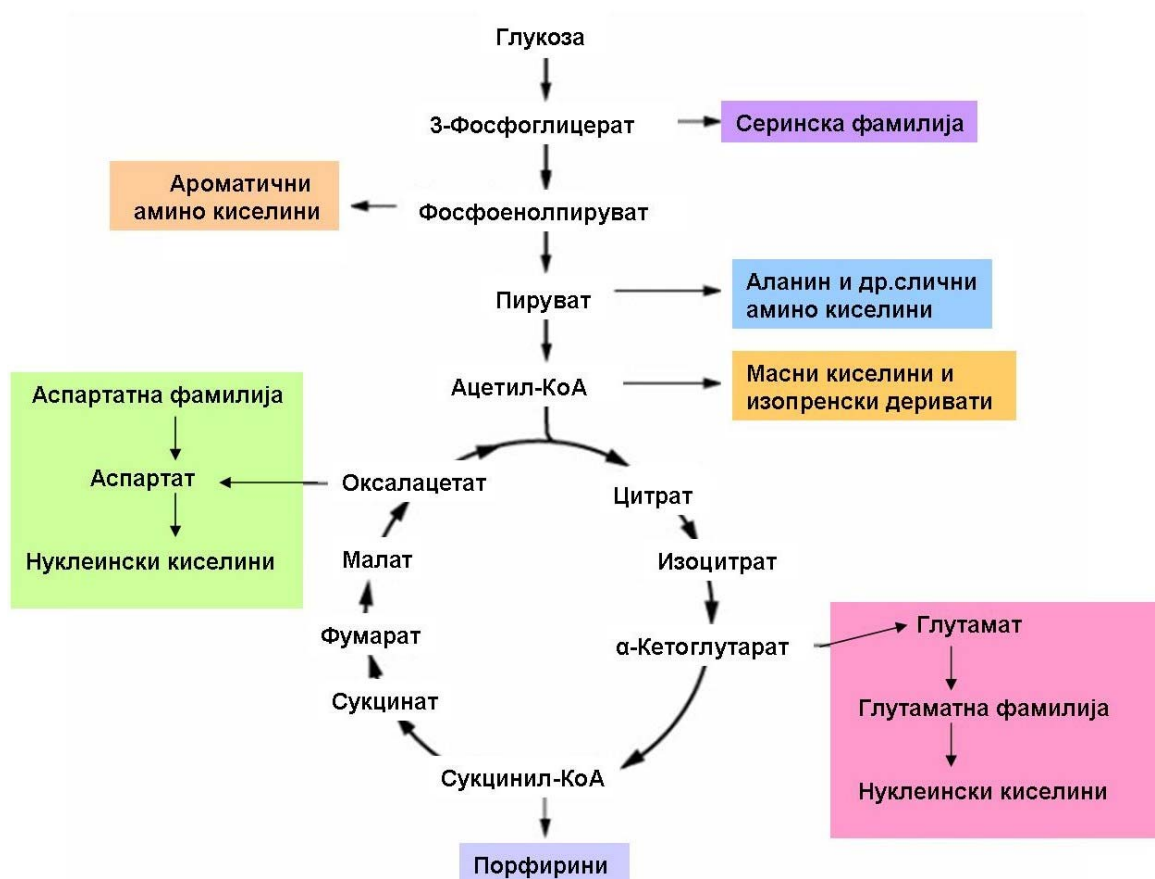
Сл. 8.4 Шематски приказ на циклусот на трикарбоксилни киселини (Кребс-ов или ТСА циклус). Пируватот кој се создава при процесот на гликолиза, се оксидира во ТСА циклусот при што се создаваат 3 молекули на CO_2 . Електроните добиени при оксидацијата на супстратот редуцираат 4 NAD и 1 FAD коензими. При една супстратна фосфорилација се добива АТР (Buchanan и сор., 2002).

8.1.4.2 Метаболизам на малатот

Кај растителните клетки малатот се формира во цитоплазмата од фосфоенолпируватот (PEP), кој му претходи на пируватот во гликолизата. Синтезата на малатот е многу распространет процес особено во метаболизмот кај C-4 и CAM-растенијата. Но, кај другите растителни клетки со помош на PEP-карбоксилаза се врзува CO_2 (односно HCO_3^-) и се произведува одредено количество на оксалоцетна киселина (оксалацетат), која со редукција со помош на **малатна NAD-дехидрогеназа** преминува во малат. Кај многу растенија малатот се акумулира во вакуолите слично како и резервните материи. Меѓутоа, малатот се користи и при процесот на дишење. Тој минува низ митохондријалната мембрана со помош на транслокатори кои разменуваат една дикарбоксилна киселина за неоргански фосфат. Во митохондриите под дејство на NAD-малат ензимот, малатот преминува во пируват и на тој начин се вклучува во Кребсовиот циклус. NADH кој се формира во оваа реакција влегува во митохондријалниот резервоар на редуцирани коензими.

8.1.4.3 Врска на ТСА со други биосинтетски процеси

Циклусот на трикарбоксилни киселини е поврзан со гликолизата и заедно служат за производство на интермедиерни соединенија кои се почетен супстрат во другите биосинтетски патишта (Сл. 8.5).



Сл. 8.5 Поврзаност помеѓу глуколизата и циклусот на трикарбоксилни киселини со другите метаболички процеси во клетките. Многу интермедиерни соединенија од глуколизата и ТСА циклусот се користат како почетни супстрати за биосинтеза на секундарни метаболити (Buchanan и сор., 2002).

Таков е примерот со α -кетоглутарната, оксалоцетната и пирогроздовата киселина, од кои со аминација се добиваат аминокиселини кои се прекурсори на пурините и пиримидините. Потоа, глутаминската киселина што се создава од α -кетоглутарната киселина е почетно соединение во синтезата на пироловите прстени и порфириновите на хлорофилот. На ваков начин, преку ТСА циклусот, метаболизмот на јаглехидратите е поврзан со биосинтезата на аминокиселините, протеините, азотните бази, нуклеинските киселини, порфириновите и многу други ароматични соединенија.

8.1.5 Оксидациски пентозен циклус

Директната оксидација на глукозата претставува алтернативен пат за оксидација на јаглехидратите. Процесот се состои од две фази: иреверзибилна фаза која е оксидациска и реверзибилна фаза која го опфаќа метаболизмот на пентозите. Овој процес се одвива во цитоплазмата и хлоропластите на темно.

Во оксидациската фаза, почетно соединение е **глукоза-6-фосфат (G-6-P)**. Ензимот **глукоза-6-фосфатна дехидрогеназа** чиј коензим е **NADP** го оксидира **G-6-P** во **6-фосфоглуконска киселина (6-фосфоглуконат)**. Следниот степен во циклусот е оксидациска декарбоксилација со помош на **6-фосфоглуконската дехидрогеназа** која е врзана за **NADP** како коензим, при што се добива CO_2 и **рибулоза-5-фосфат (Ru-5-P)**. Во циклусот, ова се единствените две оксидациски реакции кои даваат по еден редуциран коензим **NADPH** (Сл. 7.3).

Рибулоза-5-фосфатот влегува во повеќе реакции преку кои се регенерира почетното соединение **G-6-P** (Сл. 8.6).

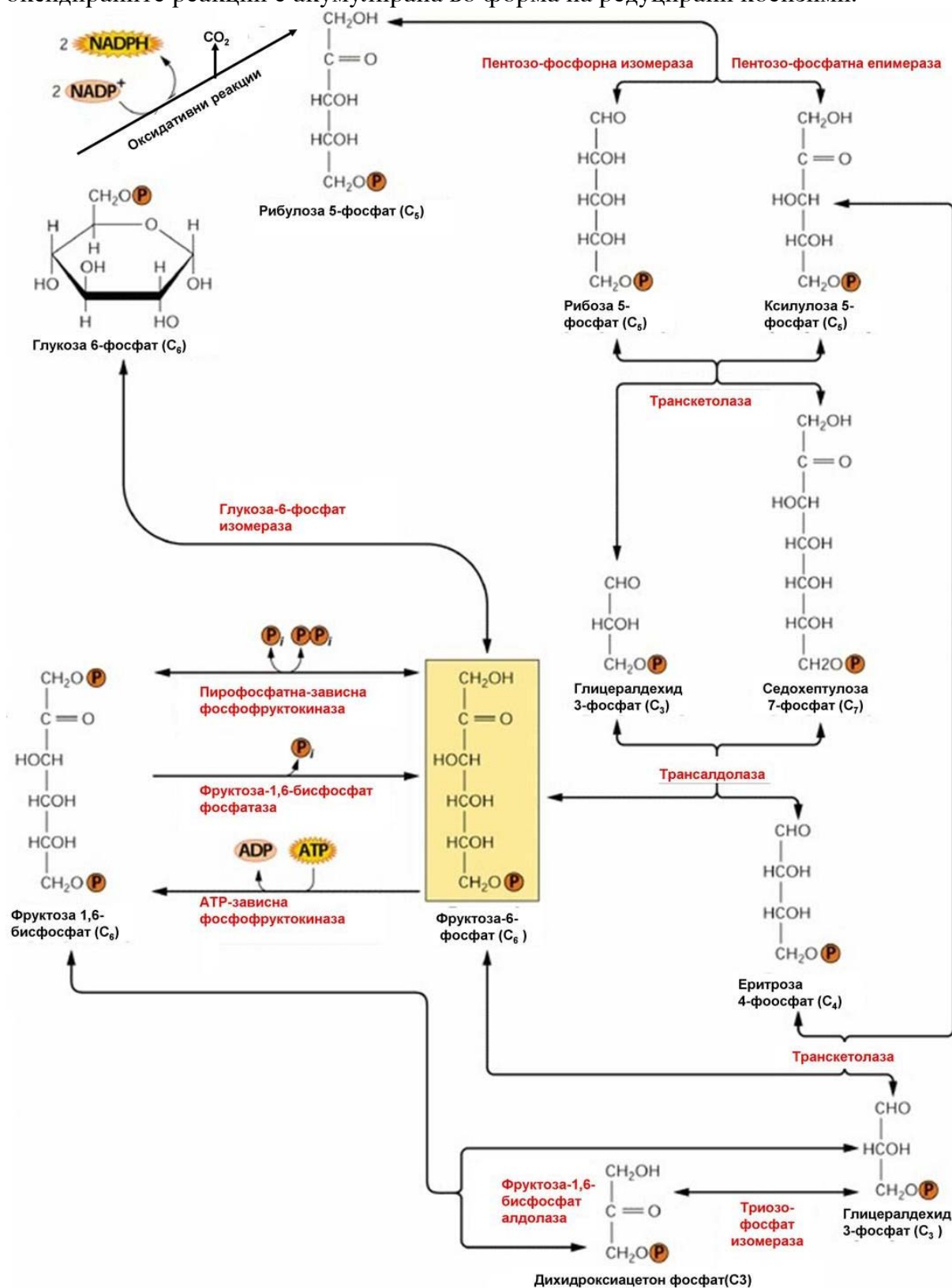
Овие реакции се слични со тие од редуцискиот пентозен циклус, но, насоката им е спротивна. Под дејство на ензимот **рибулоза-фосфатна епимераза**, **Ru-5-P** преминува во **ксилулоза-5-фосфат (Xu-5-P)**, а ензимот **рибоза фосфатна изомераза** ја преведува во **рибоза-5-фосфат (R-5-P)**. Овие три пентози се во меѓусебна рамнотежа. Ензимот **транскетолаза**, чиј коензим е **тиамин пирофосфатот (TPP)** од **Xu-5-P** издвојува дикарбонски фрагмент (C_2), кој се кондензира со **R-5-P** и гради шеќер со седум (C_7) јаглородни атоми **седохептулоза-7-фосфат (S-7-P)**. Остатокот од пентозата е **глицералдехид-3-фосфат (3-GAP)**, (Сл. 7.4).

Ензимот **трансалдолаза** од седохептулозата одвојува фрагмент со три јаглородни атоми (C_3), кој се кондензира со **3-GAP** и се добива **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)**. Остатокот од седохептулозата, **еритроза-4-фосфат (E-4-P)** се кондензира со уште еден дикарбонски фрагмент (C_2) поврзан за **TPP** и повторно гради **F-6-P**. Ова соединение што се добива на два начина, под дејство на ензимот **изомераза** преминува во **G-6-P**, а со тоа се регенерира почетниот член од циклусот. Поради тоа што едно соединение како што е **R-5-P** може да влезе во повеќе алтернативни реакции, процесот може да се објасни ако се претпостави дека во него на почетокот влегуваат 3 или 6 mol **G-6-P** (Сл. 7.4 и Сл. 8.6).

Според тоа, билансот на оксидацискиот пентозен циклус е следниот:



Во оксидациониот пентозен циклус само мал број на јаглеродни атоми се оксидираат во CO_2 , а остатокот служи за регенерација на глюкозата. Енергијата на оксидираните реакции е акумулирана во форма на редуцирани коензими.



Сл. 8.6 Шематски приказ на оксидациониот пентозофосфатен циклус и негова поврзаност со гликолизата преку заеднички интермедиерни соединенија (Buchanan и сор., 2002).

Овие коензими ретко се оксидираат повторно во терминалната оксидација, но, во клетките служат како редуценти во многу други реакции. Пентозниот циклус има многу важна улога во синтеза на редуценти во цитоплазмата, а тоа е од особено значење за нефотосинтетските клетки, ткивата во фаза на диференцирање, за 'ртење на семето, како и за хлоропластите во текот на темниот период. Значењето на овој циклус е и во тоа што се синтетизира фосфорибоза (рибоза-5-фосфат), што е потребна за синтеза на нуклеотиди и нуклеински киселини. Едно од интермедиерните соединенија во овој циклус е и еритроза-4-фосфат, која после кондензација со PEP дава прекурсори во синтеза на ароматичните киселини: триптофан, тирозин и фенилаланин. Триптофанот е прекурсор во синтезата на растителните хормони ауксини, а од аминокиселините тирозин и фенилаланин се добиваат многу секундарни метаболити, како што се фенолните соединенија, некои пигменти и лигнин. Всушност, оксидациониот пентозен циклус е поврзан повеќе со синтетските (анаболички), отколку со деградативните (катаболички) процеси во клетката. Пентозниот циклус и глуколизата се тесно поврзани преку заеднички интермедиерни компоненти. Двата процеси се јавуваат во два клеточни компартмани: хлоропластот и цитоплазмата (цитосолот). Интермедиерните соединенија преку кои се поврзани овие два процеси се двете триози, 3-GAP и DHAP. Во процесот на глуколиза, сите реакции на синтеза и конверзија на триозите се реверзибилни се до добивањето на PEP. Во пентозниот циклус, освен почетните реакции на оксидација сите други реакции се реверзибилни. Слободната размена на триозите помеѓу двата процеси овозможува создавање на баланс со другите биосинтетски патишта. Така на пр., користењето на рибоза-5-фосфат за синтеза на нуклеинските киселини го исцрпува резервоарот на пентозите во пентозниот циклус, а недостатокот се дополнува со триозите од глуколизата. Исто така, при засилена синтеза на ароматичните аминокиселини во која се трошат еритроза-4-фосфат и фосфоенолпируватот може да дојде до запирање на некој од процесите ако триозите не би преминувале од еден во друг процес. Меѓутоа, иреверзибилните оксидациони реакции од глукоза-6-фосфат интензивно се одвиваат кога NADPH се троши за други редукциски процеси.

8.2 Липидите како супстрат за дишење

Липидите влегуваат во состав на структурните компоненти на растителните организми. Во липидите се вбројуваат многу изопреноидни соединенија, како што се стеролите и каротеноидите, како и соединенија кај кои само еден дел од молекулот има изопреноидно потекло, како што се хлорофилите и киноните. Заедничка особина на повеќето липиди е што основниот структурен дел на нивниот молекул има потекло од ацетил-КоА. **Структурни липиди** се оние кои влегуваат во состав на биолошките мембрани и восоците што го градат заштитниот слој на површината на многу органи. **Резервните липиди** се акумулираат во семињата и плодовите. Многу растителни видови се одгледуваат поради масните и маслата што се користат во исхраната или индустријата. Така на пр., во семето од сончогледот, маслодајната репка, ленот, присутни се масла и до 45% од нивната маса. Хранливите резерви во форма на масти или масла, во споредба со скробот се поповолни за растенијата, бидејќи се користат за добивање на енергија при нивна оксидација. Имено, од 1 g скроб се добива околу 15,9 kJ (3,79 kcal), а од 1 g масло околу 40 kJ (9,3 kcal). Резервните липиди кај растенијата се акумулирани во **сферозомите** (олеозоми, липидни тела).

Во клетките на цицачите не се синтетизираат одредени незаситени масни киселини (линолна и линоленска) без кои не е можно да се изградат клеточните мембрани. Поради тоа, овие две масни киселини се есенцијални за цицачите и тие

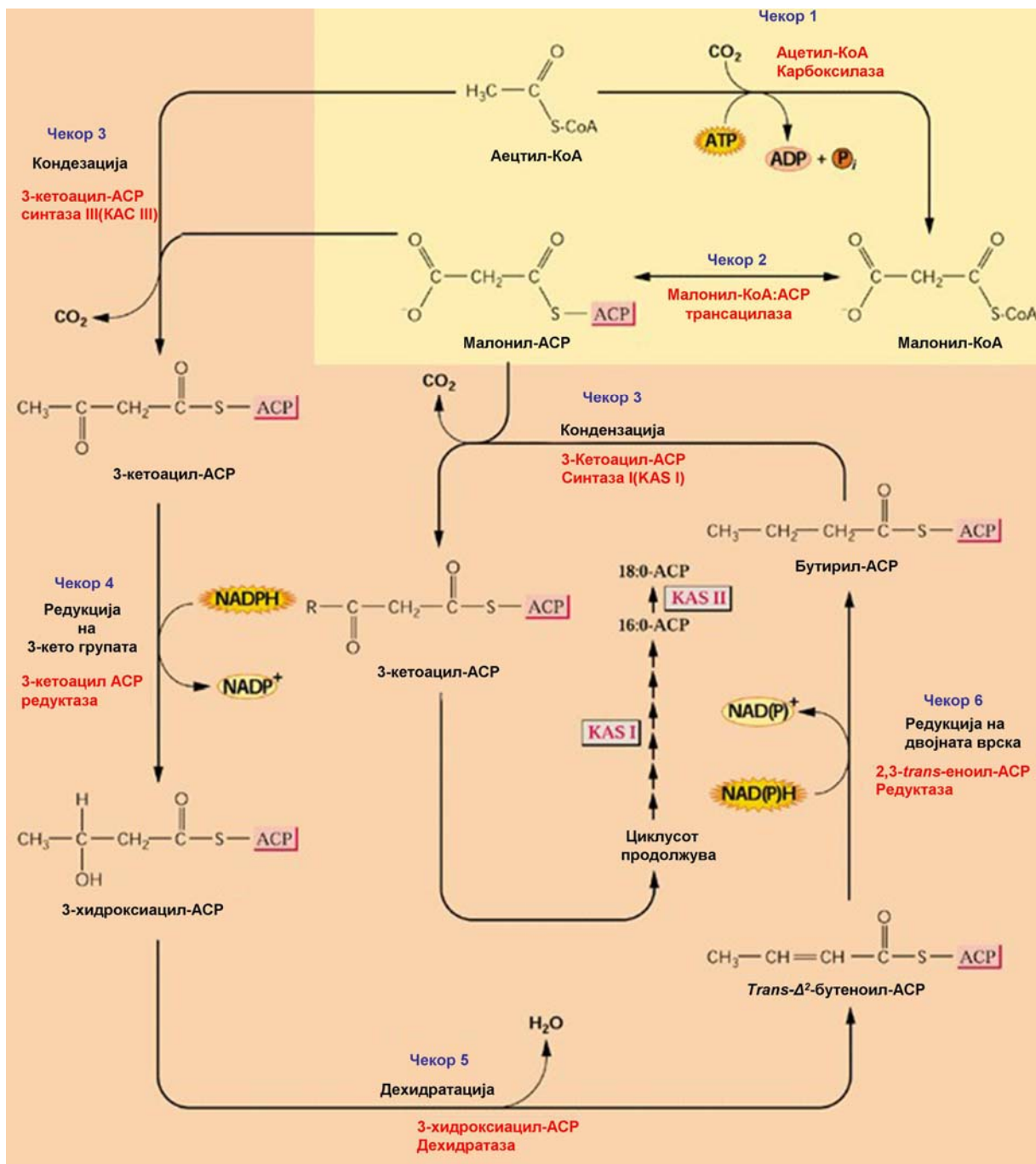
мора да ги внесуваат во организмот преку исхраната. Биосинтезата на липидите и нивното разложување се врши во различни органели само во спротивни насоки. Сите резервни липиди по состав се **триглицериди**, односно естри на глицеринот и масните киселини. Глицеринот се добива од глицералдехид-3-фосфатот, редовен метаболит во процесот глуколиза, како и во некои други процеси. Растителните масни киселини претставуваат неразгранети синдири со една карбоксилна група. Тие имаат парен број на јаглеродни атоми (12-20) и можат да бидат заситени или да содржат 1-3 незаситени врски. Кај растенијата најзастапени се **палмитинска** (16 C-атома:0 незаситени врски), **олеинска** (18:1) и **линолна** (18:2) **киселина**. Гликолилипидите во хлоропластите на вишите растенија содржат **линоленска** (18:3) **киселина**. Некои претставници од *Gymnospermae* и *Angiospermae* кои се на пониско еволутивно ниво, наместо линоленска киселина имаат значително количество на **хексадекатриеноат** (16:3). Кај сите растителни видови се пронајдени околу 200 различни масни киселини.

8.2.1 Биосинтеза на масните киселини

Синтезата на масните киселини кај растенијата се врши само во хлоропластите, додека во клетките кои не се зелени, масните киселини се синтетизираат во пропластидите, етиопластите, леукопластите и хромопластите. Пластидите содржат еден протеин, кој е есенцијален за синтезата на масните киселини познат како **протеин-ацилен пренесувач** (ACP=acyl carrier protein). На овој протеин како активен кофактор се јавува еден дериват на витаминот **пантотенска киселина** сместен во стромата на хлоропластот, односно во другите пластиди. Тој ги катализира сите степени на синтезата на масните киселини. Познато е дека за синтеза на масните киселини се потребни јаглеродни прекурсори, ATP и NADPH. Според тоа, биосинтезата на масните киселини е поинтензивна во присуство на светлина, отколку на темно (Ohlrogge и Browse, 1995).

Почетно соединение во синтезата на масните киселини е **ацетил-CoA**, кој се добива при оксидатиска декарбоксилација на пируватот во митохондриите. Мембраната не е пропустлива за ацетил-CoA и од него во митохондриите се ослободува ацетат, кој се транспортира во хлоропластите и другите пластиди. Во овие органели повторно се гради ацетил-CoA со учество на ATP и на CoA. Во хлоропластите пируватот се добива од 3-PGA (3-фосфоглицерат). Во сите пластиди е докажано глуколитичкото разложување на хексозите до пируват, како и активноста на пируватната дехидрогеназа која обезбедува доволно молекули на ацетил-CoA за синтеза на масните киселини.

Првиот чекор при синтеза на масните киселини е врзување на CO₂ за ацетил-CoA, при што се добива **малонил-CoA** (Сл. 8.7). Во оваа реакција учествува комплексниот ензим **ацетил-CoA карбоксилаза** кој се состои од три протеини: два имаат ензимска функција, а третиот е носач на коензимот **биотин**. Во следниот чекор, малонилниот остаток се пренесува од CoA на ACP (протеин-ацилен пренесувач), кој останува врзан со тиестерска врска за сите интермедиерни соединенија до завршувањето на синтезата на масните киселини. Малонилниот остаток се декарбоксилира и кондензира со уште еден молекул на ацетил-CoA, при што се добива фрагмент со четири C-атоми **3-кетобутирил-ACP**, а кондензацијата се врши со помош на ензимот **кетацил-ACP синтаза III (KAS III)**.



Сл. 8.7 Биосинтеза на масните киселини во хлоропластите. Првите чекори во биосинтезата се состојат во кондензација на ацетил Co-A и малонил Co-A и врзување за протеин-ацилниот пренесувач (ACP), при што се синтетизира бутирил-ACP кој се состои од 4 јаглеродни атоми. Синџирот на масните киселини се продолжува при секој циклус со додавање на уште по еден двокарбонски фрагмент при што се создава палмитинска киселина со 16 C-атоми. Биосинтезата се прекинува со одвојување на ACP, а палмитатот, стеаратот или олеатот излегуваат од пластите и учествуваат во натамошните процеси на синтезата на липидите (Buchanan и сор., 2002).

Тој е еден од трите слични ензими кои го врзуваат малонил-CoA. 3-кетобутирил-ACP се редуцира со помош на NADPH-дехидрогеназа, потоа се врши дехидратација, а најпосле повторна редуција со помош на NADPH-дехидрогеназа. На крај се добива **бутирил-ACP** кој е основен фрагмент при синтеза на масните киселини. На овој фрагмент, чекор по чекор се надоврзуваат новите молекули на ацетил-CoA што се добиваат од малонил-CoA. При секој чекор, синџирот на масната киселина се

продолжува за два C-атома, а кондензацијата до C-16 се одвива со помош на **KAS I** ензимот. Растењето на синцирот се прекинува со помош на ензимот **тиоестераза** која го одвојува **KAS I** ензимот од АСР. Тоа прв пат се случува кога ќе се изгради синцир од 16 C-атома, односно **палмитинска киселина**. Но, таа може да се продолжи уште за една единица во **стеаринска киселина** со 18 C-атоми (18:0) со помош на ензимот **KAS II**. Стеаринската киселина под дејство на **десатураза** добива една незаситена врска и преминува во **олеинска киселина** (18:1). Овие три киселини: палмитинска, стеаринска и олеинска се првите три масни киселини при биосинтезата, кои се синтетизираат во пластидите. Според тоа, при врзување на секој ацетилен остаток е потребна енергија од еден АТР и редукција со помош на два NADPH, а притоа се ослободува еден CO₂.

Сите ензими што учествуваат во синтезата на масните киселини се дел од комплексот **синтаза на масните киселини**, кој содржи седум различни ензими и се наоѓа во пластидите. Протеин-ацилниот пренесувач е кофактор на тој комплекс од седум ензими. Според тоа, во синтезата на стеаринската киселина (C₁₈) од ацетил-CoA потребни се вкупно 48 реакции, во кои се вклучени 12 протеини, а нивното дејство е координирано како да функционира еден ензим.

8.2.2 Биосинтеза на триглицериди

Естерификација на глицеролот се врши во мембраната на мазниот ендоплазматичен ретикулум. Масните киселини врзани за CoA излегуваат од пластидите и влегуваат во ендоплазматичниот ретикулум (ER) и тоа во просторот на мембраната помеѓу двата липидни слоја. На тоа место може да дојде до продолжување на синцирот и до формирање на незаситени врски (десатурација). Продолжувањето на синцирот се врши преку додавање на еден, а потоа на втор ацетилен остаток од малонил-CoA со помош на комплексниот ензим **елонгаза**. На ваков начин се добиваат C₂₀, а потоа C₂₂ киселини кои се вбројуваат во масни киселини со долг синцир и влегуваат во состав на восокот, кутилот и суберинот. Меѓутоа, на исто место во ER под дејство на други ензими се врши и десатурација (формирање на незаситени врски). Така, масните киселини кои ќе влезат во градбата на липидите се врзуваат една по една преку естерска врска за алкохолните групи од глицеролот. Кога во просторот меѓу двата липидни слоеви ќе се собере поголемо количество на триглицериди, тогаш тој дел од ER се откинува и се формира посебна органела - **сферозом**. Сферозомот е ограничен со мембрана која не претставува липиден двослој, туку се состои од само еден слој на липидни молекули чија хидрофилна страна е насочена кон цитоплазмата. Поради хидрофобноста на овој липиден слој, протеините не влегуваат во состав на мембраната на липидните тела. Во подоцнежните стадиуми од созревањето на семето, липидните тела се обвиткуваат со **олеозин** кој им дава голема стабилност и отпорност спрема дехидратацијата во текот на созревањето.

Липидите од еден клеточен компартман не преминуваат слободно низ мембраната. Се смета дека постојат посебни протеини од околу 9 kD кои го вршат транспортот на липиди помеѓу органелите и клетката. Тие се познати како **протеини пренесувачи на липиди**. Овие протеини се застапени со 4% од растворливите протеини во листот. Некои липиди кои се синтетизираат во микрозомалната фракција се наменети за мембраните на хлоропластот, а во нив се враќаат со помош на липидниот пренесувач.

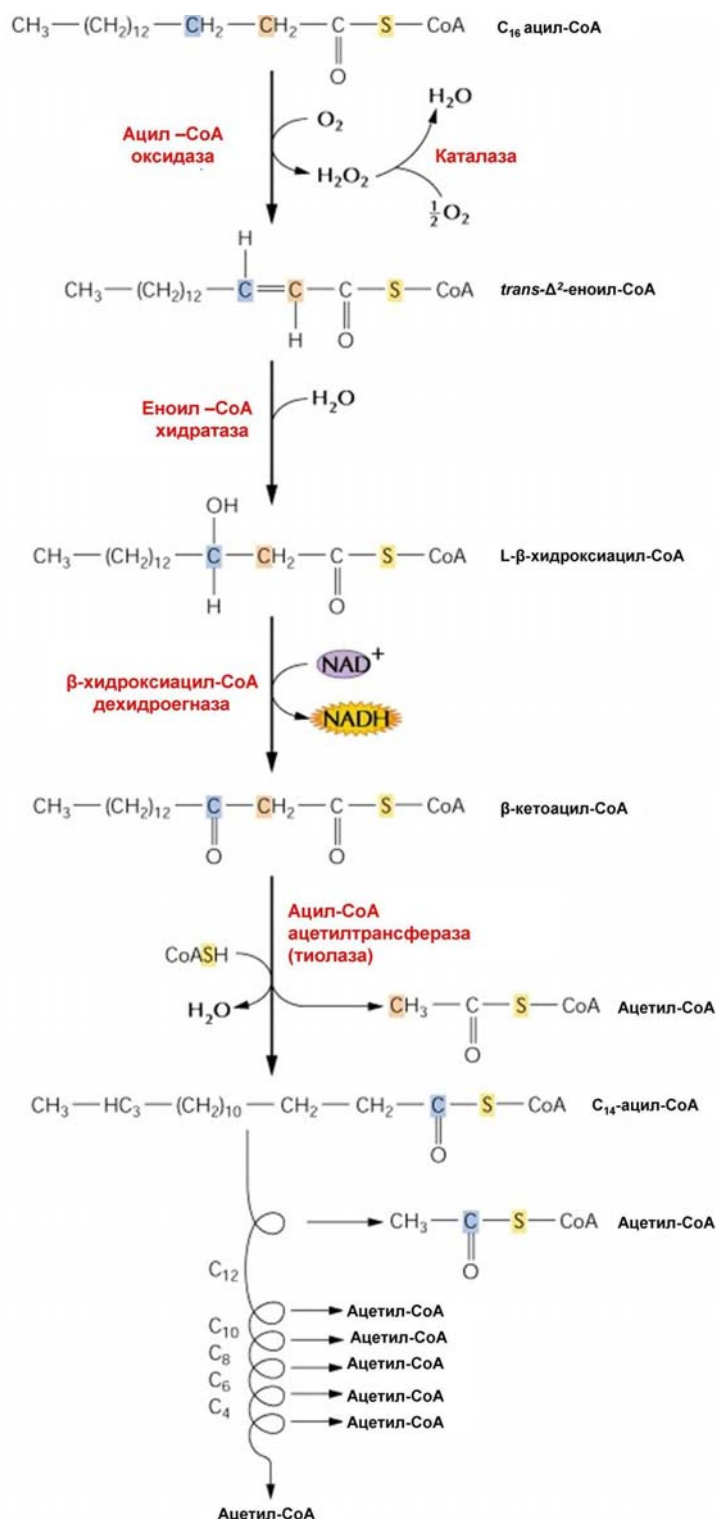
8.2.3 Оксидација на резервните липиди

Резервните липиди се разложуваат на глицерин и масни киселини. Хидролизата се одвива во сферозомот под дејство на ензимот **липаза**. Глицеринот се фосфорилира во цитоплазмата и како глицералдехид-3-фосфат навлегува во процесот на глуколиза и се оксидира, додека масните киселини се разложуваат во процесот кој е познат како **β -оксидација**. Производ на овој процес е **ацетил-СоА** кој влегува во ТСА циклусот. Кај сите еукариоти, митохондриите ги содржат сите ензими потребни за β -оксидација. Овој процес кај растенијата се врши само во **глиоксизомите и пероксизомите**. Производот од разложувањето на масните **ацетил-СоА**, кој учествува во синтезата на јаглехидратите влегува во **глиоксалатниот циклус** што се одвива во глиоксизомите. Исто така, јаглехидрати се синтетизираат во процесот **глюконеогенеза** во соработка со глиоксизомите, митохондриите и цитоплазматските ензими.

8.2.3.1 β -оксидација на масните киселини

За да можат да се оксидираат масните киселини претходно мора да се активираат преку врзување за СоА, што е аналогно на фосфорилацијата на шеќерите пред нивна оксидација. Во овој случај, енергијата за врзување на масните киселини и СоА потекнува од АТР кој се разложува на ADP и 2 Pi, со учество на ензимот **ацил-СоА синтетаза**. Ацил масната киселина што се добива на ваков начин се оксидира со помош на **ацил-дехидрогеназа**, чиј коензим е FAD. За разлика од ензимот кај анималните митохондрии, кај растенијата овој коензим го пренесува водородот на O_2 и формира H_2O_2 . Под дејство на ензимот каталаза, пероксидот се разградува на вода и кислород. Со помош на ензимот FAD-дехидрогеназа се врши оксидација и се добива **незаситен ацил-СоА на масната киселина**. Незаситената врска се јавува помеѓу 2 и 3 C-атом. Потоа, ензимот **еноилхидратаза (кротоназа)** ја хидрира незаситената врска и се добива **хидроксиацил-СоА на масната киселина**. Ензимот дехидрогеназа, чиј коензим е NAD го оксидира ова соединение и на C-3 атомот се формира кето група. Под дејство на ензимот **тиолаза** и со учество на уште еден молекул на СоА, синџирот на масната киселина се раскинува кај β -C атомот, при што се добива ацетил-СоА и ацил на масната киселина, кој е за два јаглеродни атома покус од претходниот. Потоа, истите реакции се повторуваат и при секое повторување се одвојува по еден молекул на ацетил-СоА. Процесот трае се додека целиот синџир од масната киселина целосно не се деградира. Иако за секој фрагмент се повторуваат оксидациските и другите реакции, почетното соединение секогаш е различно, односно за два јаглеродни атома е пократко. Поради тоа, не е можно да се зборува за циклус туку за спирала, β -оксидација (Сл. 8.8).

Вкупниот биланс на процесот го сочинуваат фрагменти од два јаглеродни атома поврзани за СоА, чиј број зависи од должината на синџирот на масната киселина, како и од еден редуциран NAD на секој фрагмент од ацетил-СоА. Потоа, ацетил-СоА влегува во ТСА или во глиоксалатниот циклус. Според тоа, процесот на β -оксидација кај растенијата биохемиски е сличен со тој кај животинскиот свет.



Сл. 8.8 Шематски приказ на β-оксидацијата на масните киселини. Масните киселини се оксидираат врзани за коензим А во процеси кои се повторуваат во спирали. При секој циклус се одвојува по еден двокарбонски фрагмент (ацетил Со-А) и синџирот на масната киселина се скратува за 2 С-атоми. Овие циклуси се повторуваат до целосна оксидација на масната киселина (Buchanan и сор., 2002).

Сепак, постои голема разлика во значењето што го има процесот кај растенијата и кај животните. Имено, кај животните, резервните масти се главен извор на енергија, а митохондриите се главно место за трансформација на енергијата во АТР. Кај растенијата, β-оксидацијата има помало значење во споредба со животните и во

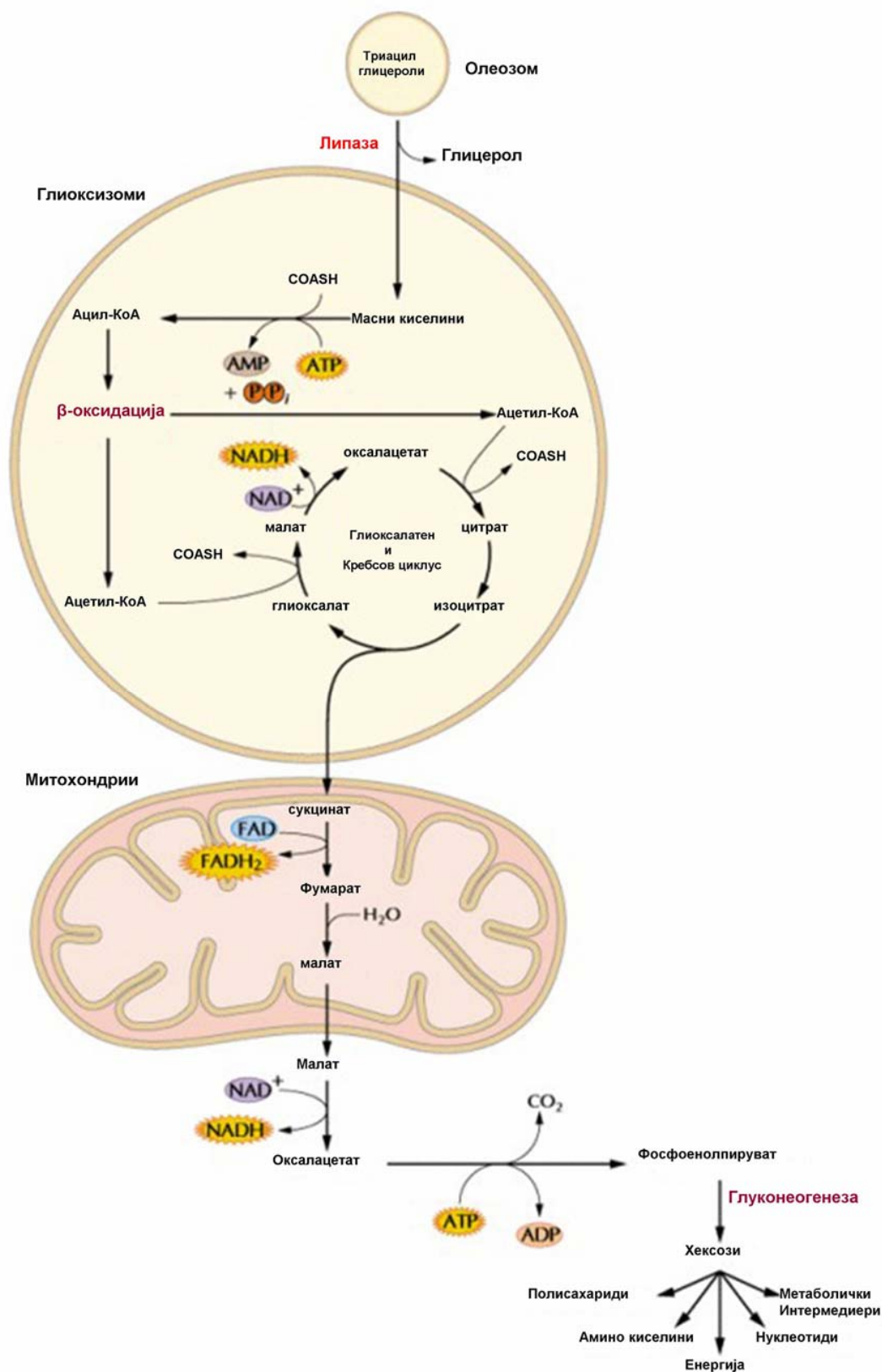
митохондриите се оксидираат само структурните липиди. Оксидацијата на резервните масти кај растенијата не е насочена кон синтеза на АТФ туку служи за синтеза на јаглехидрати, процес кој е доминантен кај семињата кои 'ртат. Во семето и во другите ткива што содржат резервни масла, β -оксидацијата се врши во **глиоксизомите**, а во сите други клетки, особено во клетките на листот се одвива во **пероксизомите**. Двете органели се означени со заедничко име како **микротела**. Тие имаат само по една мембрана и содржат многу специфични ензими според кои се идентификуваат. Пероксизомите имаат важна улога и при процесот на фотореспирација.

8.2.3.2 Глиоксилатен циклус

Глиоксилатниот циклус се одвива во глиоксизомите и пероксизомите, а претставува модифициран ТСА циклус (Сл. 8.9). Во овој циклус, ацетил-СоА со помош на ензимот **цитратната синтаза** се кондензира со оксалоцетната киселина (оксалацетат) во **лимонска киселина (цитрат)**, а како резултат на тоа се добива **изолимонска киселина (изоцитрат)**. Меѓутоа, во овој случај не доаѓа до оксидациона декарбоксилација туку изолимонската киселина под дејство на ензимот **изоцитратна лијаза** се разложува на **глиоксилат** соединение со два јаглородни атоми и на **сукцинат**. Глиоксилатот се кондензира уште со еден молекул на ацетил-СоА и со помош на ензимот **малатна синтаза** дава јабољкова киселина (малат). Ензимот малатна дехидрогеназа ја оксидира јабољковата киселина (малат) во оксалоцетна киселина (оксалацетат), а со тоа се регенерира акцепторот за ацетил-СоА за нов циклус. Сукцинатот преминува од глиоксизомот во митохондријата каде што се оксидира во ТСА циклусот до малат. Во глиоксилатниот циклус ниту еден јаглороден атом не се оксидира до CO_2 туку јаглородните атоми се штедат и се користат за натамошните процеси.

8.2.3.3 Глюконеогенеза

Малатот што се добива во митохондријата или глиоксизомот излегува во цитоплазмата каде што се оксидира во оксалацетат. Во присуство на АТФ и под дејство на **РЕР-карбоксикиназа**, оксалацетатот се декарбоксилира и фосфорилира, при што се добива **фосфоенолпируват (РЕР)**. Ова соединение влегува во гликолитичкиот процес кој се одвива во спротивна насока и се нарекува **глюконеогенеза**. Сите реакции при процесот на глюकोлиза се реверзибилни, со исклучок на реакцијата во која РЕР преминува во пирогроздова киселина (пируват). Меѓутоа, со директно влегување на РЕР во реверзната глюकोлиза, овој иреверзибилен чекор се избегнува. На крај од реверзната глюकोлиза се изградуваат фруктоза и глюкоза, а од нив и сахароза. На тој начин, во семињата кои 'ртат, резервните масла се конвертираат во сахароза (Сл. 8.9). Сахарозата се транспортира во младите растенија и тогаш служи како градбен материјал и извор на енергија. Имено, оксидацијата на шеќерите во младото растение преку ТСА циклусот ги поврзува метаболизмот на резервните липиди со синтеза на многу други соединенија што се неопходни за растење на растенијата.



Сл. 8.9 Шематски приказ на глиоксилатниот циклус и глуconeогенезата. Ацетил Со-А од процесот на β -оксидација влегува во глиоксилатниот циклус. Скратувањето на овој циклус се состои во избегнување на две декарбоксилации. Глуconeогенезата претставува процес на претворање на масните во јаглехидрати. Резервните масти се разложуваат во олеозомот, а масните киселини преку β -оксидација преминуваат во глиоксилатниот циклус во глиоксизомот. Сукцинатот навлегува во ТСА циклусот во митохондриите, при што се ослободува малат кој излегува во цитоплазмата. При реверзната гликолиза се создава фруктоза бифосфат, а потоа и сахароза (Buchanan и сор., 2002).

8.3 Транспорт на електрони

Органските соединенија на различен начин се оксидираат до CO_2 , а енергијата добиена при оксидација е сочувана во форма на редуцирани коензими. За контрола на клеточните функции неопходно е да сепостигне рамнотежа помеѓу редуцираните и оксидираните форми. Тоа значи дека, редуцираните коензими при процесот на дишење повторно се оксидираат, пренесувајќи електрони на O_2 , а при тоа се формира вода. Овој процес е познат како **терминална оксидација**. Коензимите кои ги оксидираат супстратите се **пиридин нуклеотиди (NAD или NADP)** и **флавопротеините (FMN или FAD)**. Тие не реагираат директно со кислородот, туку пренесувањето на електрони се врши постепено преку пренесувачи, кои го градат **респираторниот електрон-транспортен (ЕТ) синџир**.

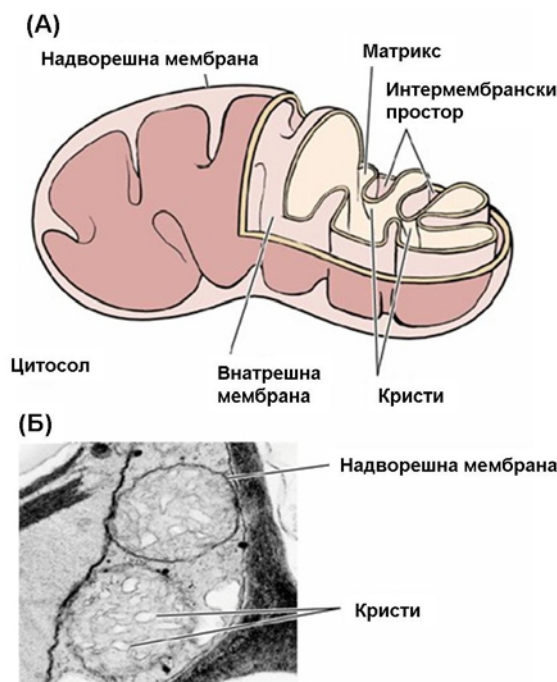
Пренесувачите на електрони се составни делови на мембраните од митохондриите. Тие можат да се изолираат и поради тоа е познат нивниот редослед и начин на дејство. Освен тоа што **ЕТ** синџирите кај растенијата и животните се слични, сепак постојат и значителни разлики особено во завршниот степен, при пренесување на електроните на O_2 . Процесот на пренесувањето на електрони се врши спонтано во насока на градиентот на редокс потенцијалот и е поврзан со транспортот на протони од една на друга страна од мембраната. Поради тоа се појавува одредено количество на слободна енергија, која е акумулирана како протонска моторна сила и служи за синтеза на АТР, процес кој е познат како **оксидатиска фосфорилација**.

8.3.1 Структура на митохондриите

Митохондриите се клеточни органели присутни кај сите еукариоти. Нивниот број во секоја клетка зависи од нивната метаболичка активност. Митохондриите се обвиткани со двојна мембрана. Надворешната мембрана е мазна, а внатрешната гради многубројни инвагинации кои се наречени **кристи** (cristae mitochondriales). Надворешната мембрана по својот состав е слична со сите други мембрани во клетката, но, внатрешната мембрана се разликува од другите мембрани. Таа, често пати може да се извитка и тие делови изгледаат како везикули (Сл. 8.10). Протеините во внатрешната мембрана се присутни со 70%, а меѓу липидите познат е **кардиолипинот** кој не постои ниту во една друга мембрана. Просторот помеѓу двете мембрани се нарекува **интермембрански простор**, а внатрешноста на митохондриите е исполнета со течност која се нарекува **матрикс**.

Во митохондриите се разликуваат четири метаболички компартменти. Тие се: **надворешна мембрана, интермембрански простор, внатрешна мембрана и матрикс**. Надворешната мембрана содржи еден протеин од 31 kD, кој се нарекува **митохондријален порин** и гради канали за преминување на многу супстанции. За разлика од неа, внатрешната мембрана речиси е непропустлива за овие супстанции. Меѓутоа, многу протеини во нејзиниот состав имаат транспортна функција и го регулираат транспортот во двата правци. Сепак, главни функционални делови на мембраната се протеините што го вршат транспортот на електрони од NADH до O_2 .

Исто така, митохондриите содржат и DNA со циркуларна форма која може да кодира 15-25 протеини. Во митохондриите се присутни рибозоми од типот 70S, како и други видови на RNA, кои учествуваат во синтеза на некои протеини.



Сл. 8.10 Структура на митохондрија. А. Шематски приказ на градбата на митохондриите. Б. Напречен пресек на митохондрија на електронски микроскоп (Buchanan и сор., 2002).

8.3.2 Особини на пренесувачите на електрони

Пренесувачите на електрони се соединенија со различен редокс потенцијал и меѓу нив познати се:

- пиридин нуклеотиди,
- флавопротеини,
- цитохроми,
- железо-сулфурни соединенија,
- хинони.

8.3.2.1 Пиридин нуклеотиди

Два пиридин-нуклеотида, што влегуваат во состав на ЕТ синџирот се **никотинамид аденин динуклеотид (NAD)** и **никотинамид аденин динуклеотид фосфат (NADP)**. Тие претставуваат кофактори на повеќето дехидрогенази. Еден дел од нив е локализиран во одредени компартменти, бидејќи мембраните на органелите не се пропустливи за коензимите. Во секој компартмент, вкупното количество на оксидираниот и редуцираниот NAD или NADP е постојана, бидејќи мора да се одржи рамнотежата помеѓу двете форми, а со тоа и оксидо-редукциските процеси ќе се одвиваат во континуитет.

NAD е главен **оксидациски фактор**, кој во оксидациските процеси се редуцира. NAD учествува во катаболичките процеси, како што се гликолизата, оксидацијата на масните киселини, ТСА циклусот и други. За континуирано одвивање на наведените процеси, неопходно е постојано обновување на оксидираната форма на NAD. За разлика од него, **NADP** се наоѓа во форма на NADPH, како **главен редуцирачки фактор** во процесите на фотосинтеза, синтеза на масни киселини, како и во другите синтететски процеси. Исто така, неопходно е непрекинато обновување на неговата редуцирана форма, а тоа се случува во светлата фаза од процесот на

фотосинтеза и во оксидацискиот пентозен циклус. При оксидација и редукција, пиридин нуклеотидите испуштаат или примаат 2H^+ или 2 електрони.

8.3.2.2 Флавопротеини

Флавопротеините се ензими, чии простетични групи се **флавин-моноклеотид (FMN)** или **флавин аденин динуклеотид (FAD)**. Во состав на овие простетични групи влегува рибофлавинол (витамин B_2). Исто така, флавопротеините пренесуваат два водородни атома (2H^+). Во растителните митохондрии откриени се 4 различни флавопротеини.

8.3.2.3 Цитохроми

Цитохромите се протеини со простетична група **хем**, која претставува порфириноско јадро со атом на железо во центарот. Тие реверзибилно пренесуваат по еден електрон и тоа со промена на валентноста $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$. Според нивните својства, цитохромите се поделени на групи означени како **цитохром а, b** или **с** (според новите податоци постои и d). Кај растителните митохондрии најдени се два цитохроми **с**, пет цитохроми **b** и два цитохроми **а**. Цитохромот **а** познат како **цитохром оксидаза** содржи два атома на бакар.

8.3.2.4 Железо-сулфурни протеини

Железо-сулфурните протеини содржат атоми на железо, што не се поврзани во хемот, туку со сулфурот градат структура во форма на решетка. Постојат $2\text{Fe}-2\text{S}$ и $4\text{Fe}-4\text{S}$ **железо-сулфурни центри**, чии решетки се поврзани за сулфурните остатоци од цистеинол, кој е вграден во апопротеинол. Овие протеини пренесуваат по еден електрон.

8.3.2.5 Хинони

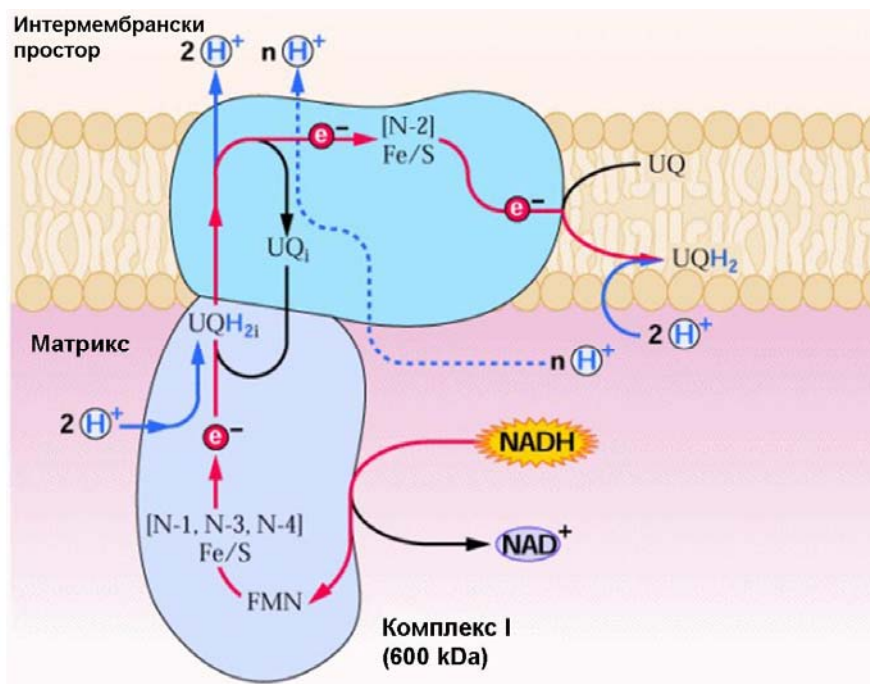
Хиноните во митохондриите се претставени со **убихинол** (коензим Q), кој носи страничен изопреноиден синџир. Убихиноните се редуцираат со примање на еден, а потоа и на втор електрон, за на крај врзувајќи 2H^+ да преминат во **убихинол**. Убихинол е мал липофилен молекул, кој не е поврзан за протеин. Поголем број од молекулите на убихинол сочинуваат резервоар од слободни подвижни молекули кои се наоѓаат во липофилната зона од внатрешната мембрана на кристите.

8.4 Организација на пренесувачите на електрони

Сите пренесувачи на електрони претставуваат интегрирани протеини во внатрешната мембрана на митохондриите. Тие се групирани во **четири супрамолекуларни комплекси (I-IV)**. Овие комплекси се поврзани со мобилните пренесувачи: **убихинол**, во липофилната средна зона од мембраната и **цитохромот с** со двете компоненти c_1 и **с**. Убихинол е врзан за мембраната, а цитохромот **с** е асоциран протеин на надворешната површина во интермембранскиот простор (Siedow и Umbach, 1995).

8.4.1 Комплекс I и други NADH дехидрогенази

Комплекс I има функција на **NADH-дехидрогеназа**, која го оксидира NADH, а го редуцира убихинонот (NADH: убихинон оксидоредуктаза). Комплексот содржи цврсто врзан **флавопротеин (FP)** со коензимот **FMN** (флавин мононуклеотид) и 3 до 4 **Fe-S протеини** (Сл. 8.11).



Сл. 8.11 Шематски приказ на Комплекс I (Buchanan и сор., 2002).

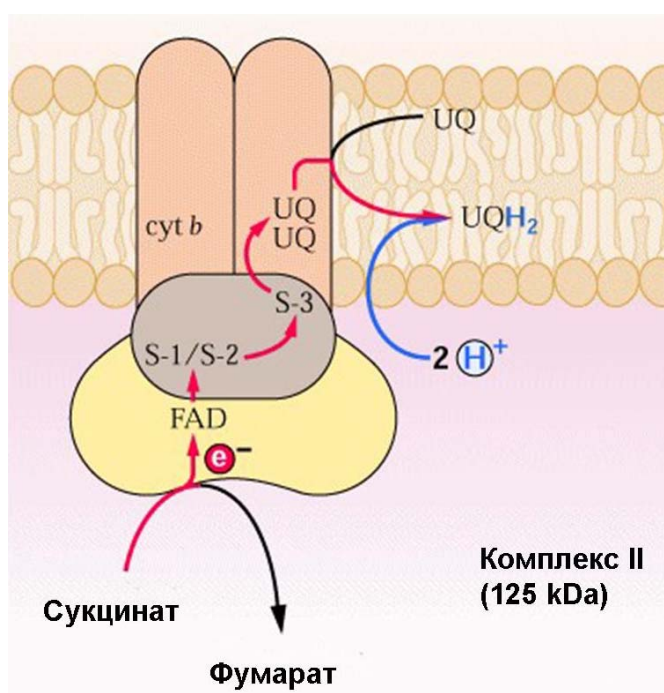
Кај растенијата постојат повеќе различни комплекси I. Првата форма или стандардниот комплекс I е идентичен кај животинските и растителните клетки и се состои од 30-40 полипептиди. Тој е лоциран со еден дел на внатрешната страна од внатрешната мембрана спрема матриксот, додека другиот дел е хидрофобен и се наоѓа во липидниот слој од мембраната. Комплексот I ги оксидира NADH коензимите, што се формираат во матриксот при оксидација на киселините во ТСА циклусот. Во оваа група на коензими припаѓаат NAD коензимите на пируватната, изоцитратната, α -кетоглутаратната и малатната дехидрогеназа, како и NAD-малатната декарбоксилаза и NAD-глицин декарбоксилазата.

Втората форма на комплексот I кај растителните митохондрии се наоѓа на внатрешната страна (NAD_{int}). Всушност, тука се разликуваат две интерни NAD (P)H дехидрогенази, кои не се чувствителни кон инхибиторите. Тие пренесуваат електрони и протони директно на убихинонот и на тој начин изостанува пренесувањето на протони од матриксот во интермембранскиот простор. Во растителните митохондрии на надворешната страна од внатрешната мембрана се наоѓаат уште две NADH дехидрогенази. Тие се свртени спрема интермембранскиот простор (NAD_{ext}) и го оксидираат NADH или NADPH кои доаѓаат од цитоплазмата. Според тоа, митохондриите во растителната клетка се разликуваат од оние во животинската клетка, по тоа што не го оксидираат надворешниот NADH, туку со посебен механизам во нив се внесува редукцискиот еквивалент. Овие две дехидрогенази кај растителните организми не се чувствителни кон инхибиторите на транспорт на електрони и се контролирани од концентрацијата на Ca^{2+} јоните во

цитосолот. Едната екстерна дехидрогеназа е специфична за NADH, а втората за NADPH. Овие дехидрогенази ги оксидираат цитоплазматичните коензими и на тој начин ги забрзуваат процесите на гликолиза и оксидациониот пентозен циклус. Еден флавопротеин, кој има функција на NADH-дехидрогеназа се наоѓа на надворешната мембрана од митохондриите. Тој го оксидира цитоплазматичниот NADH, редуцира еден цитохром b кој е составен дел на истата мембрана, а електроните најверојатно се предаваат на растворливиот цитохром c во интермембранскиот простор.

8.4.2 Комплекс II

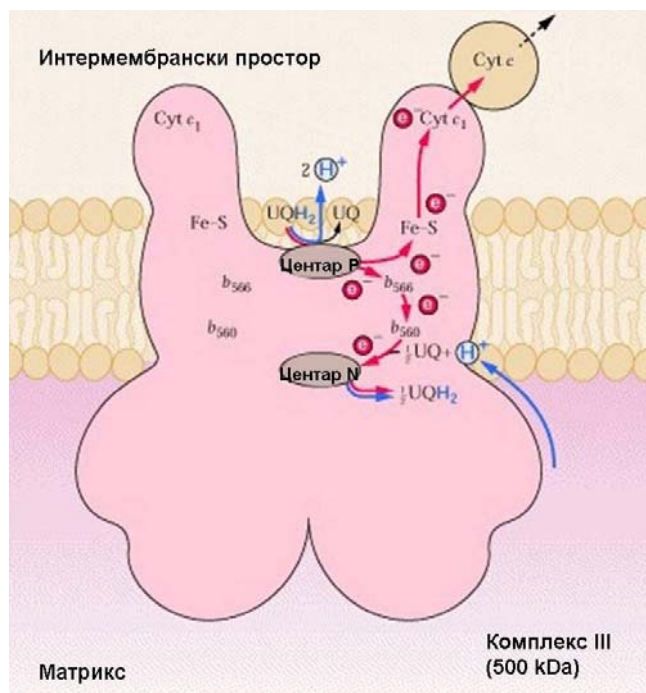
Ензимот **FAD-сукцинатна дехидрогеназа** кој е член на ензимскиот комплекс во ТСА циклусот е врзан за внатрешната мембрана на митохондриите. Овој ензим со уште еден Fe-S протеин го градат комплексот II (Сл. 8.12). Тој пренесува два протона и два електрона од сукцинатот на убихинонот (сукцинат : убихинон оксидоредуктаза).



Сл. 8.12 Шематски приказ на Комплекс II (Buchanan и сор., 2002).

8.4.3 Комплекс III

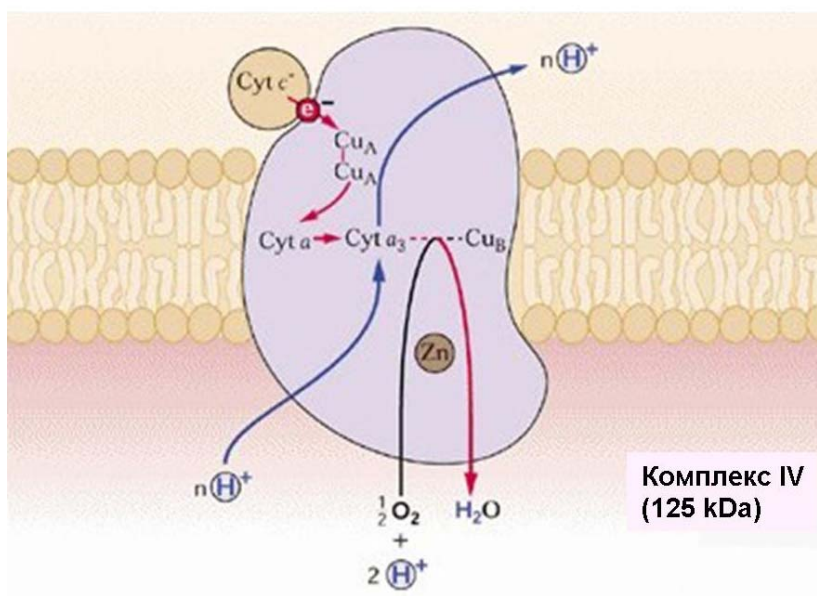
Комплексот III е **цитохромски b/c** комплекс на митохондриите кој е претставен со еден флавопротеин, два цитохрома од групата b (означени како b_{560} и b_{566}), Fe-S протеин и цитохром c_1 (Сл. 8.13). Тој дејствува како убихинон : цитохром c оксидоредуктаза, т.е. го оксидира убихинолот и го редуцира цитохромот c, при што протоните ги испушта во интермембранскиот простор. Познато е дека цитохромот c претставува периферен протеин на надворешната страна од внатрешната мембрана на митохондриите. Пренесувањето на електроните преку овој цитохром може да се инхибира со антимицин A.



Сл. 8.13 Шематски приказ на Комплекс III (Buchanan и сор., 2002).

8.4.4 Комплекс IV

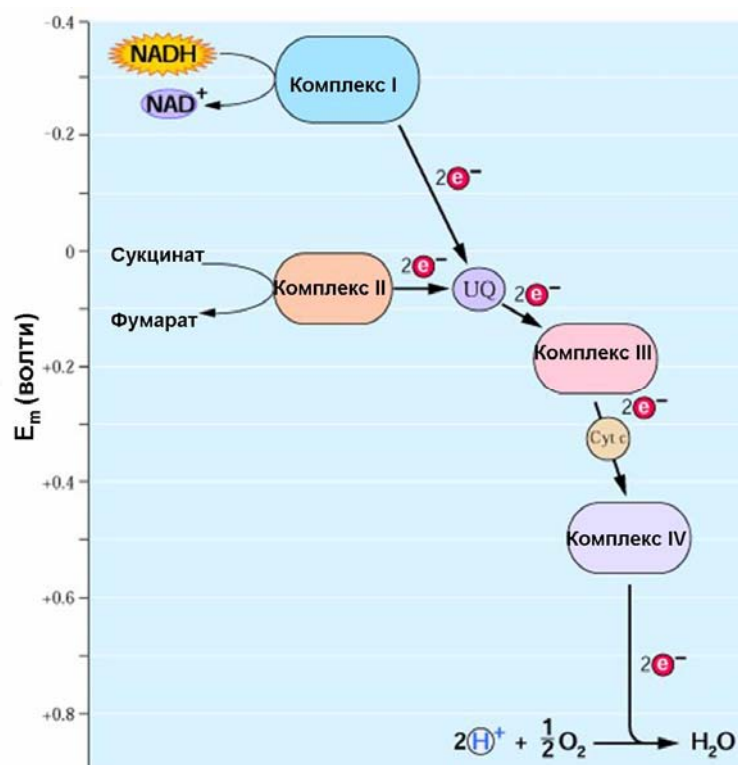
Цитохромот се повторно се оксидира со помош на комплексот IV, кој е познат како **цитохром оксидаза** (Сл. 8.14). Оваа оксидаза ги содржи цитохромите a и a_3 , како и два атома на бакар. Всушност, овој комплекс пренесува два електрони на $1/2 \text{O}_2$. Притоа, потребни се 4 електрони и 4 протони за да се добие еден молекул на H_2O . Протоните се земаат од матриксот на митохондриите, со што се зголемува протонскиот градиент ($\Delta\mu\text{H}^+$). Инхибитори на цитохром оксидазата се цијанидот (CN^-), азидот (N_3^-) и јаглеродниот моноксид (CO).



Сл. 8.14 Шематски приказ на Комплекс IV (Buchanan и сор., 2002).

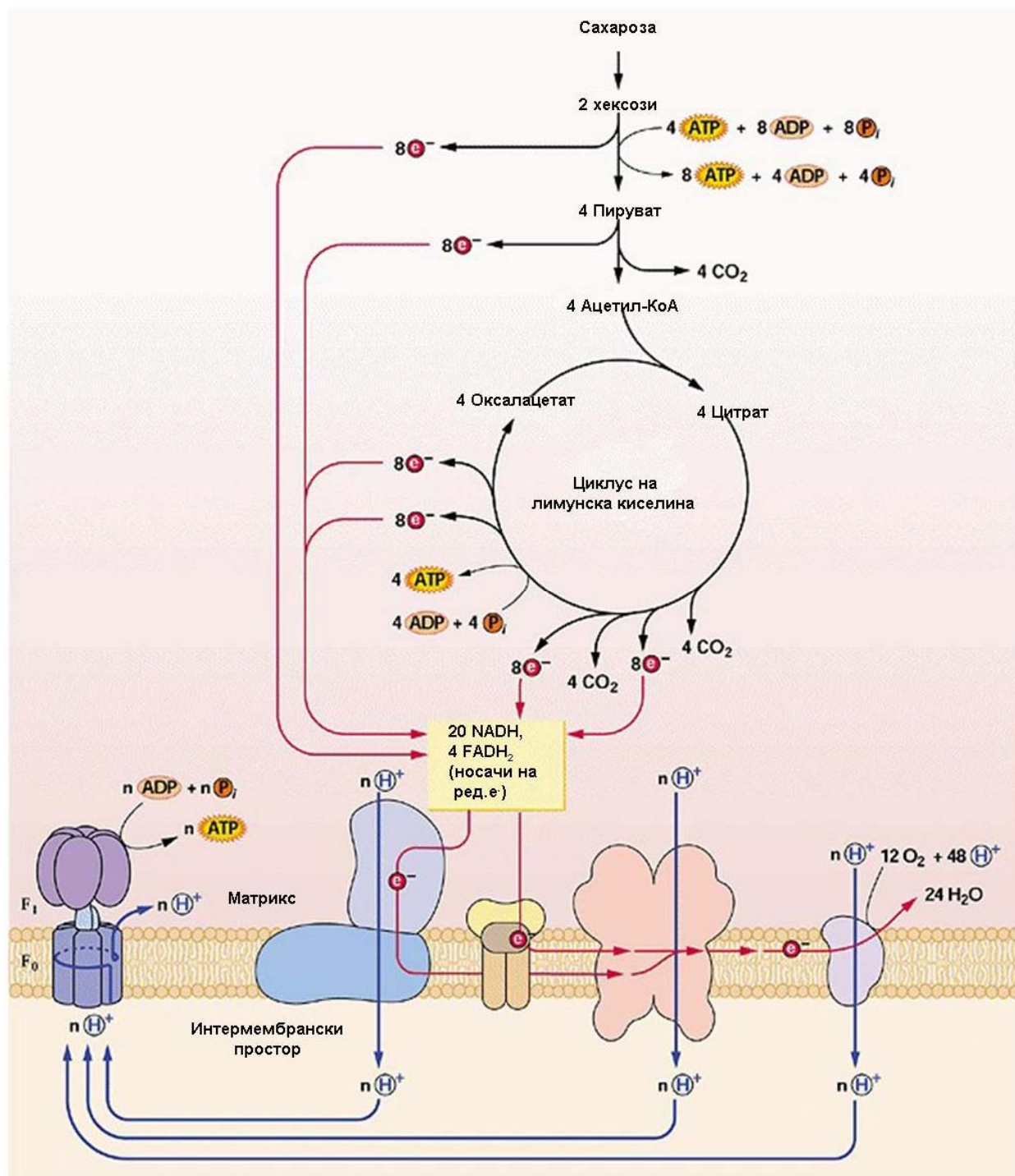
8.5 Транспорт на електроните низ електрон-транспортниот синџир

Комплексите I-IV не се фиксирани во структурата на мембраната на митохондриите. Според тоа, пренесувањето на електроните настанува како резултат на нивната слободна, латерална дифузија. Сепак, правецот на пренесување на електроните е одреден со редокс потенцијалот на пренесувачите (Сл. 8.15). Најнискиот редокс потенцијал (-0,32 V) го има парот NADH/NAD, кој е почетен донор на електрони во ЕТ синџир. Втор донор на електрони во ЕТ синџир е парот FADH/FAD, чиј редокс потенцијал е повисок и изнесува + 0,10 V. Двата редокс пара ги предаваат електроните на убихинонот, кој го редуцира комплексот III, потоа преку цитохромот c го редуцира комплексот IV и на крај двата електрона учествуваат во формирање на молекулот на вода.



Сл. 8.15 Електрон-транспортен синџир во мембраната на митохондриите. Комплексите на пренесувачите се наредени по својот редокс потенцијал (Buchanan и сор., 2002).

Електрон-транспортен синџир кај митохондриите е прикажан на Сл. 8.16. NADH дехидрогеназата одзема два електрона и два протона од редуцираниот пиридин нуклеотид. Таа ги предава електроните на убихинонот преку Fe-S протеинот, а протоните ги испушта во интермембранскиот простор. На ваков начин се постигнува градиент во концентрацијата на протони на двете страни од внатрешната мембрана на митохондриите. Комплексот II пренесува електрони од сукцинатот на убихинонот, но, не пренесува протони низ мембраната и според тоа не придонесува во зголемувањето на протонскиот градиент.



Сл. 8.16 Организација на електрон-транспортниот синџир во внатрешната мембрана на митохондријата. Електроните влегуваат преку комплекс I или комплекс II, како и преку други NAD-деhidрогенази (Buchanan и сор., 2002).

Според степенот на оксидираност постојат три форми на убихинон: **оксидиран убихинон**, **семихинон со еден електрон** и **целосно редуциран убихинон**. Сите форми влегуваат во сложениот Q-циклус, кој всушност пренесува еден по еден електрон на комплексот III (Сл. 8.16). **Оксидираниот убихинон (UQ)**, кој се наоѓа слободен во липофилниот слој на мембраната прима два електрона од комплексот I или II и зема два протона од матриксот, при што се добива **редуциран убихинол (UQH₂)**. Убихинолот дифундира на интермембранската страна од мембраната, каде што ги предава електроните на пренесувачите во комплексот III, а протоните ги испушта

во интермембранскиот простор. Комплексот III има две места за кои се врзуваат убихиноните и целосната повторена оксидација на убихинолот се одвива во два чекора. Во првиот чекор, убихинолот предава еден електрон преку Fe-S на цитохромот c_1 (на првото место за врзување). Вториот електрон се предава преку двата цитохрома b (b_{566} и b_{560}) на новиот молекул од оксидираниот убихинон (UQ), при што се добива убисемихинол ($UQ^{\cdot-}$). Во вториот чекор, убисемихинолот прима уште еден електрон од комплексот I или II и преминува во убихинол. Патот на оксидацијата на убисемихинолот се повторува, односно уште два протони се ослободуваат во интермембранскиот простор. На тој начин, за секој електрон што ќе помине низ Q-циклусот се пренесуваат два протона од матриксот во интермембранскиот простор. Оксидацијата на NADH или FADH е проследена со пренесување на 4 протони од едната на другата страна од мембраната. Всушност, Q-циклусот кај митохондриите е сличен со хинонскиот циклус во хлоропластот, во кој учествуваат пластохиноните.

Од мобилниот цитохром c , електроните се пренесуваат на комплексот IV, кој го редуцира O_2 и се произведува вода. Потребни се два протона од матриксот за да се добие еден молекул на вода. Меѓутоа, цитохром оксидазата има уште една дополнителна особина, а тоа е да пренесе еден протон низ мембраната од матриксот во интермембранскиот простор. Според тоа, во вкупниот биланс на комплексот IV, постои однос $2H^+/1e^-$, односно за секој електрон пренесен на O_2 , протонскиот градиент се зголемува за 2.

Одредени пренесувачи од комплексите III и IV се наоѓаат на спротивни страни од мембраната: цитохромите b се наоѓаат кон матриксот, додека Fe-S протеинот и цитохромот c_1 се лоцирани на страната од интермембранскиот простор. Следниот пренесувач, цитохромом c се наоѓа во интермембранскиот простор, а редукцијата на кислородот се врши на страната кон матриксот. Според тоа, електроните минуваат "цик-цак" патека од едната на другата страна од мембраната.

8.6 Дишење резистентно кон цијанидот

Посебна карактеристика на ЕТ синџирот кај растителните митохондрии е резистентноста спрема цијанидот и другите инхибитори на цитохром оксидазата. Цијанидот е силен инхибитор кај анималните митохондрии, а познато е дека предизвикува моментална смрт кај животните и човекот. Меѓутоа, кога растенијата ќе се изложат на дејството на цијанидот, потрошувачката на O_2 се намалува, но, никогаш не е целосна. Процесот во кој се троши O_2 во присуство на цијанид (CN^-) се нарекува **дишење резистентно кон цијанидот** (Vanlerberghe и McIntosh, 1997). Во вакви услови, кај голем број на растителни видови, дишењето е намалено на 10-25% од вкупното дишење. Меѓутоа, постојат растенија кај кои одделни органи целосно се резистентни кон цијанидот. Такви се растенијата од фамилијата *Araceae*, чии претставници се *Arum*, *Simplocarpus foetidus*, *Sauromatum guttatum* и др. Потоа, машките цветови кај некои видови од *Annonaceae*, *Aristolochiaceae*, *Cyclanthaceae*, *Nymphaeaceae* и др.

Во ЕТ синџирот постои ензим **убихинол оксидаза**, која пренесува протони и електрони од убихинолот на **алтернативната оксидаза**. Според тоа, во алтернативниот пат, електроните не доаѓаат до комплексите III и IV, туку се насочуваат во правецот на терминалната оксидација (Сл. 8.16). Алтернативната оксидаза во растителните митохондрии е посебен ензим, кој се наоѓа на страната кон матриксот, каде што со помош на 4 електрони го редуцира O_2 и произведува H_2O . Меѓутоа, влијанието на оваа оксидаза може да се спречи со помош на **салицилхидроксамична киселина (SHAM)**, која е специфичен инхибитор на

алтернативната оксидаза. Со помош на имунолошки методи е докажано присуството на оваа оксидаза во митохондриите кај сите испитувани растенија. Се смета дека алтернативната оксидаза е димерен протеин од околу 32 kD и дека нејзиниот активен центар најверојатно содржи железо. За претставниците од фамилијата *Araceae*, феноменот на дишењето резистентно спрема цијанидот се користи за проучување на термогенезата, односно за производство на топлина. Кај многу растенија, температурата може да биде повисока за 15°C од надворешната. Така на пр., кога надворешната температура била од 5°C до 15°C, температурата кај *Arum italicum* достигнува и до 51°C, а кај *Simplocarpus* била измерена температура од 30°C.

Познато е дека цитохромскиот и алтернативниот транспорт на електрони се раздвојуваат на убихинолот. Меѓутоа, алтернативниот пат не е во конкуренција за електрони со цитохромскиот пат. Всушност, тој се вклучува тогаш кога цитохромскиот пат е заситен со електрони, односно кога 35-40% од убихинонот се наоѓа во редуцирана форма и не е можно да се оксидира преку цитохромот. Алтернативниот пат дејствува како вентил за ослободување на вишокот на енергија. Кога се оксидира поголемо количество од супстратот се произведува само онолку енергија, колку што е потребно за одвивање на различните метаболички процеси. Така на пр., алтернативниот пат се активира во коренот кога тој располага со поголемо количество на јаглехидрати, отколку што може да ги искористи. Кај листовите од пченица и спанаќ, алтернативниот пат не се појавува во утринските часови, кога нивото на јаглехидратите е ниско, туку после неколку часови од појавата на процесот на фотосинтеза, кога е синтетизирано значително количество на јаглехидрати.

8.7 Докази за структурата на електрон-транспортниот синџир

Сите пренесувачи во ЕТ синџирот имаат функција на донори или акцептори на електрони. Парот NADH/NAD со најнизок редокс потенцијал (-0.32 V) има тенденција да изгуби електрон, кога се наоѓа во близина на соединенија со позитивен потенцијал. Кислородот (+0.82 V) лесно прима електрони од цитохром оксидазата. Редокс потенцијалите на другите пренесувачи се движат помеѓу овие крајни вредности и нивното место во ЕТ синџирот се базира на намалување на нивниот редокс потенцијал. Електроните во ЕТ синџирот спонтано се пренесуваат кон градиентот на потенцијалот преминувајќи ја разликата помеѓу NADH и цитохромот **a**.

Кога митохондриите се наоѓаат во анаеробни услови (но има доволно количество на супстрат, јабољкова киселина-малат), тогаш се забележува дека сите пренесувачи во ЕТ синџирот се редуцирани. Во такви услови можна е оксидација на супстратот и пренесување на електрони низ целиот ЕТ синџир, при што се редуцираат пренесувачите, но, невозможна е нивната повторна оксидација без присуство на O₂. Кога ќе се додаде кислород, пренесувачите почнуваат повторно да се оксидираат. Притоа, прво се појавува оксидираната форма на цитохром оксидазата, потоа се оксидираат цитохромите **c** и **b**, па флавопротеините и на крај NAD. На таков начин, редоследот на повторната оксидација на пренесувачите го покажува нивниот распоред помеѓу O₂ и супстратот. Со примена на антибиотици и отрови се прекинува транспортот на електрони на одредени места во ЕТ синџирот, а со тоа се спречува оксидоредукцијата помеѓу NAD и FMN. Респираторните отрови, цијанидот и јаглородниот моноксид го спречуваат дејството на цитохром оксидазата во пренесувањето на електрони на O₂.

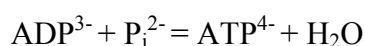
8.8 Алтернативни оксидази во цитоплазмата

Мембраните надвор од митохондриите во растителните клетки содржат кратки електрон-транспортни синџири, кои ги оксидираат NADH или NADPH, а ги редуцираат различните акцептори на електрони: цитохромите, хиноните, Fe-S протеините и др. ЕТ синџирите се состојат од флавопротеини, чиј кофактор е FMN или FAD и од еден цитохром b. Меѓутоа, транспортот на електрони низ овие пренесувачи не е поврзан со синтезата на АТР. Така на пр., микрозомалната фракција од мембраната на ендоплазматичниот ретикулум содржи краток ЕТ синџир кој има специфични функции. Еден таков синџир се состои од флавопротеин кој го оксидира NADPH во цитоплазмата, а редуцира еден посебен цитохром, означен како **цитохром P450**. Всушност, целосното име на овој ензим е **NADPH : цитохром P450 редуктаза**. Двата електрона кои се одземаат од NADPH се пренесуваат на цитохромот P450, кој во присуство на O₂ извршува хидроксилација на некои супстрати, чија синтеза се одвива во цитоплазмата. Хидроксилацијата (додавање на -ОН група) е реакција вклучена при биосинтезата на лигнин, кутин, суберин, алкалоиди, гибберелини и др. Цитохромот P450 има посебно значење за детоксикација, односно инактивација на различни ксенобиотици, пестициди и хербициди. Клеточните мембрани кај многу растителни клетки содржат редокс систем, кој го оксидира NADH. Електроните се користат за редукција на некој супстрат, а протоните се испуштаат на надворешната страна во просторот на клеточниот сид. Електроните се пренесуваат на различни соединенија, меѓу кои е и кислородот. На таков начин, во клеточниот сид се добива водороден пероксид, а пероксидазите го разградуваат и го спречуваат неговото штетно дејство. Овие редокс системи се особено значајни за синтеза на лигнин и на други компоненти на клеточниот сид. Во клетките постојат и други оксидази, кои ги оксидираат монофенолите и полифенолите.

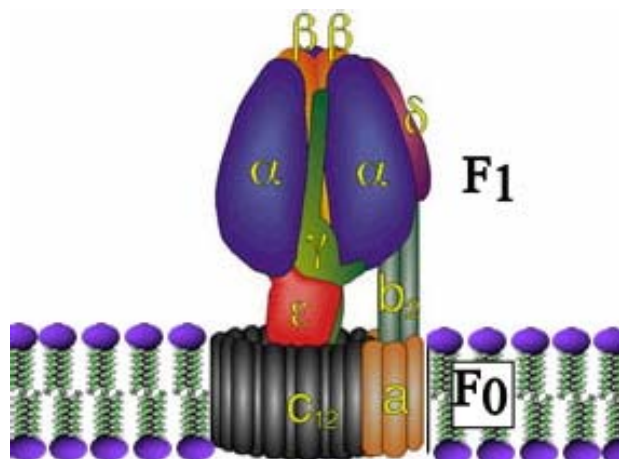
8.9 Оксидатиска фосфорилација

Транспортот на електроните низ ЕТ синџирот во митохондриите е поврзан со синтеза на АТР и се нарекува **оксидатиска фосфорилација**. Синтезата на АТР се врши со помош на ензимот **аденозин-трифосфатаза (АТР-аза)**, кој е класифициран во групата реверзни F₀F₁ АТР-ази (Сл. 2.11 и Сл. 8.17). Овој ензим е сличен со ензимот CF₀CF₁ во хлоропластите. Митохондријалниот ензим се состои од F₁ и F₀ комплекс, а се наоѓа на внатрешната митохондријална мембрана. F₁ претставува протеин асоциран на страната кон матриксот, а F₀ е интегриран протеин кој гради канал низ мембраната. F₁ се состои најмалку од 5 субединици и има каталитичка функција, додека F₀ опфаќа најмалку 3 полипептиди. Ензимот АТР-аза уште е познат и како **комплекс V**.

Реакцијата што се одвива под дејство на АТР-азата може да се претстави со следната равенка:



Многу пресметки покажале дека постои утврден однос помеѓу фосфорилираниот ADP и потрошениот O₂. Тој однос ADP:O се нарекува **коэффициент на фосфорилација**. Обично количникот ADP:O се заокружува на 3, а може да биде 2 или 1, што значи дека за пренос на 2 електрона на 1/2 O₂ се добиваат 3, 2 или 1 АТР. Вистинските вредности со мерење не даваат цели броеви, бидејќи се менуваат зависно од супстратот што се оксидира.



Сл. 8.17 Шематски приказ на митохондријална АТФ-синтетаза (F-АТРаза).

Постојат повеќе места во ЕТ синџирот, во кои доаѓа до раздвојување на позитивниот и негативниот полнеж. Првото место е NADH дехидрогеназата во комплексот I. NADH се редуцира во матриксот и преку FMN ги предава електроните на убихинонот, а 2H^+ се испуштаат на надворешната страна на митохондријалната мембраната. Второто место е убихинонот, кој откако ќе прими електрони од NADH-дехидрогеназата врзува 2H^+ од матриксот, а потоа при губење на електроните ги испушта 2H^+ на другата страна на митохондријалната мембрана. Третото место е цитохром оксидазата, која за два електрона пренесува вкупно четири протони од матриксот во интермембранскиот простор. Овие три наведени места кај кои се конзервира енергијата од оксидацијата во форма на електрохемиски градиент порано биле означени како “места на фосфорилација”.

Електрохемискиот градиент на протони ($\Delta\mu\text{H}^+$) и pH градиентот имаат влијание врз размената на различните метаболити помеѓу митохондриите и цитоплазмата, преку посебни протеински пренесувачи. Електрохемиската компонента овозможува размена на ATP^{4-} за ADP^{3-} помеѓу матриксот и екстрамитохондријалниот простор. Во тоа посредува аденин-нуклеотиден транспортер, а позитивно наелектризираниот екстрамитохондријален простор повлекува негативен јон од матриксот. На ваков начин АТР излегува од митохондриите и се користи во цитоплазмата на истата или на друга клетка.

Постојат два електронеутрални транслокатора кои вршат размена врз основа на вредностите на pH градиентот. Тоа е фосфатниот транспортер, кој внесува P_i^- , во замена за OH^- јонот, кој излегува надвор. Слично функционира и транслокаторот кој внесува пируват во замена за OH^- јон.

Растителните митохондрии на својата внатрешна мембрана носат протеини кои го регулираат транспортот и на други важни кофактори на дишењето, како што се NAD, CoA-SH и тиамин пирофосфатот. Најверојатно, внесувањето на овие кофактори има значајна регулаторна улога во дишењето.

8.9.1 Енергетски биланс на дишењето

Енергетскиот биланс на дишењето може да се пресмета кога ќе се собере бројот на молекули на АТР добиени во супстратната фосфорилација и бројот на молекули на АТР добиени во оксидационата фосфорилација. Така на пр., на 1 mol глукоза во процесот гликолиза се добиваат 2 АТР и во ТСА циклусот 2 АТР, значи вкупно 4 АТР. Во гликолизата се добиваат два редуцирани NADH, бидејќи тие влегуваат во терминалниот ЕТ синџир преку $\text{F}_{\text{P}_{\text{ext}}}$ и на тој начин може да се добијат околу 4 АТР.

Во ТСА циклусот се редуцираат 8 NAD (= 24 ATP) и 2 FAD (= 4 ATP). Според тоа, за вкупниот број добиени ATP на 1 mol глюкоза ако се земат заокружени цифри (приближно цели броеви) 3, 2, 1, тогаш на 1 mol глюкоза се добиваат 36 молекули на ATP (Таб. 8.1).

Ако енергијата врзана за еден молекул на ATP е $50,2 \text{ kJ mol}^{-1}$ (12 kcal mol^{-1}), тогаш 1 mol глюкоза дава околу 1606 kJ mol^{-1} ($384 \text{ kcal mol}^{-1}$). Всушност, тоа претставува речиси 56% енергија што ја содржи еден молекул на глюкоза, а остатокот се губи како топлотна енергија. (Таб. 8.1).

Таб. 8.1 Вкупно производство на ATP во процесот на гликолиза и циклусот на трикарбоксилни киселини на 1 mol глюкоза.

	Во цитосол		Во матрикс		Вкупно ATP
	ATP	NADH	NADH	FADH	
Гликолиза	2	2 x 2	-	-	6
ТСА циклус	2	-	8 x 3	2 x 2	30
Вкупно ATP	4	4	24	4	36
Вистински вредности	4	3.6	21.6	3.6	32.8

- Број на ATP кои се добиваат во супстратна фосфорилација.
- Број на ATP кои се добиваат со оксидација на NADH и FADH.

8.10 Регулација на дишењето

Процесот на разградување и оксидација на органските соединенија се одвива во различни клеточни органели. Во цитоплазмата се вршат процесите на гликолиза, ферментација, глуконеогенеза и оксидациониот пентозен циклус. Циклусот на трикарбоксилните киселини и терминалната оксидација се одвиваат во митохондриите, а β -оксидацијата на масните киселини и глиоксалатниот циклус во глиоксизомите и пероксизомите. Освен тоа што одредени фази се раздвоени со мембрански бариери, сите оксидациони процеси помеѓу себе се поврзани и биохемиски се надоврзуваат еден на друг. Поврзаноста на одредените фази се остварува преку транспортот на метаболитите низ мембраната, па затоа функционирањето на целиот систем е многу сложено.

Интензитетот на дишење зависи од метаболичките, механичките, осмотските и другите процеси во кои се троши енергијата. Клетките располагаат со чувствителни регулаторни механизми, со кои се балансира интензитетот на дишење во однос на другите метаболички процеси во растението. Во клетката се наоѓа одредено ограничено количество на ATP/ADP и се смета дека тие претставуваат главен фактор за регулација на дишењето. Ако клетката или целиот организам троши ATP за одредени енергетско-зависни процеси, тогаш количникот ATP/ADP е низок, што предизвикува зголемување на интензитетот на дишењето. Во спротивен случај, кога потребата за енергија е мала, тогаш количникот ATP/ADP е висок, а дишењето се намалува бидејќи во такви услови доаѓа до инхибиција на одредени ензими.

Постои одредена зависност помеѓу потрошувачката на кислород и процесот на гликолиза позната како Пастеров ефект. Оваа појава претставува конкуренција за ADP меѓу терминалната оксидација и гликолизата. Во анаеробни услови не се одвива оксидациона фосфорилација и на тој начин останува поголемо количество на ADP за процесот на гликолиза.

Гликолизата ја регулираат ензимите фосфофруктокиназа, која врши фосфорилација на F-6-P во F-1,6-BP и ензимот пируватна киназа, кој од PEP гради пируват. Активноста на пируватната киназа се инхибира од присуството на ATP во

цитоплазмата и на тој начин при висока концентрација на АТР се акумулира и РЕР. РЕР се јавува како инхибитор и на активноста на фосфофруктокиназата. Затоа може да се заклучи дека еден од патиштата за регулација на гликолизата е промената на количникот АТР/АДР во цитоплазмата.

Активноста на ензимите од ТСА циклусот е под контрола на количникот АТР/АДР. Кога во клетката се намалуваат потребите за АТР, тогаш се забавува транспортот на електроните, како и синтезата на АТР.

Дишењето кај растенијата повеќе зависи од внатрешните фактори што го регулираат интензитетот на целиот процес, отколку од надворешните фактори. Кислородот е неопходен за одвивање на дишење и според тоа јасно е дека неговата концентрација има важна улога во овој процес. Особено е значаен и надворешниот фактор температурата, која влијае на сите ензимски процеси.

Процесот на дишење кај растенијата има послаб интензитет во споредба со животните, што може да биде резултат на слабата дифузија на кислородот до местата каде што се троши. Ваков недостаток на кислород се јавува кај поголемите растителни органи, како и кај корените кои растат во вода. Меѓутоа, растенијата се адаптирале на оваа состојба со развивање на ткива за проветрување кои се состојат од големи интрацелулари (аеренхим).