



A VIA ALTERNATIVA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS EM MITOCÔNDRIAS VEGETAIS E SUA PARTICIPAÇÃO NOS MECANISMOS DE AJUSTAMENTO A CONDIÇÕES DE ESTRESSE



Dirce Fernandes de Melo

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular
Centro de Ciências/Universidade Federal do Ceará

A respiração nas mitocôndrias de origem vegetal implica no funcionamento de um conjunto de transportadores de elétrons até o oxigênio molecular, através de dois caminhos: o caminho citocrômico (acoplado à produção de energia) e o caminho alternativo (dissipador de energia). A via alternativa é mediada por uma enzima conhecida como oxidase alternativa (AOX). O transporte de elétrons nas mitocôndrias vegetais difere, em muitos aspectos, do de mamíferos. Além do Complexo I, elas contêm no mínimo, 04 outras desidrogenases que permitem a oxidação do NAD(P)H da matrix e citoplasmático. A atividade dessas enzimas é totalmente distinta da atividade do Complexo I devido a sua insensibilidade a inibidores tais como a rotenona. A ocorrência da oxidase alternativa (AOX) é muito ampla e a AOX já foi identificada em vegetais superiores várias algas, fungos, leveduras e protozoários. Até o momento, a única função claramente reconhecida da AOX em tecidos especializados de reprodução de plantas termogênicas é a função termogênica. Quanto a outras funções, em plantas não termogênicas, sabe-se que a AOX é induzida pela elevação no nível de carboidratos, pela elevação nos níveis de ácido salicílico, por lesões e ataque de patógenos, pelo abaixamento da temperatura, pelo estresse oxidativo durante o amadurecimento de frutos e, em consequência, pela elevação na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Recentemente, com o advento das técnicas de biologia molecular foi possível o isolamento de genes e cDNAs que codificam a AOX, demonstrando que a proteína é codificada por uma família multi-gênica e possibilitando um considerável progresso na compreensão da estrutura, regulação e do papel da AOX. A atividade da oxidase alternativa "in vivo" é fortemente dependente da quantidade da proteína AOX presente e da concentração de seu substrato, ubiquinona reduzida. Condições metabólicas que aumentem o poder redutor na célula levam a um aumento da relação Q_{red}/Q_{tot} , do nível de NADPH (favorecimento da redução do dímero da AOX) e do piruvato (ativador alostérico da AOX), elevando a partição de elétrons para AOX. Um alto suprimento redutor aumenta o potencial fosfato (alta relação ATP/ADP) que conduzirá ao decréscimo do fluxo de elétrons para a via citocrômica aumentando o fluxo de elétrons para AOX. Tais condições são consequências de um desequilíbrio entre o suprimento de substratos reduzidos e demanda por compostos carbonados para a biossíntese, ambos sendo acoplados através da atividade da cadeia respiratória. A atividade da AOX pode impedir esse estado de desequilíbrio porque não é diretamente controlada pelo estado energético da célula e pode prevenir a fermentação e favorecer à biossíntese. Esses desequilíbrios poderiam ser impedidos por uma regulação rápida da atividade da AOX (estado alostérico e redox da proteína) ou como um resultado de mudanças lentas no ambiente (vários estresses), por modificação da quantidade de proteína AOX (expressão gênica).

A via alternativa foi estudada em 2 modelos experimentais:

1. Mitocôndrias de *Vigna unguiculata* (L.) Walp cv Vita 3 (mais tolerante ao estresse hídrico/salino) e cv Vita 5 (menos tolerante ao estresse hídrico/salina) nos seguintes aspectos: a) isolamento e caracterização de clones de cDNA da AOX de *Vigna unguiculata*, a partir de uma biblioteca de cDNA; b) avaliação e expressão dos diferentes genes isolados; c) Estudo do efeito do estresse hídrico e salino na expressão da oxidase alternativa (AOX) em cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp com diferentes níveis de tolerância;
2. Mitocôndrias de *Annona muricata* L. (graviola) nos seguintes aspectos: a) Detecção e determinação da atividade da oxidase alternativa (AOX) na fração mitocondrial de polpa de fruto de graviola (*Annona muricata* L) durante o processo de amadurecimento pós-colheita; b) Isolamento do DNA genômico de graviola, amplificação e caracterização de fragmento(s) do(s) gene(s) da oxidase alternativa; c) Isolamento do RNA total de polpa de frutos de graviola (*Annona muricata* L) no estágio verde e maduro e análise da expressão do gene da oxidase alternativa.