



Contribuição da Cadeia Transportadora de Elétrons Mitocondrial na Última Etapa da Formação de Ácido Ascórbico em Plantas

Diederson Bortolini Santana, Gláucia Michelle Cosme Silva, André Vicente de Oliveira, Raíssa Lima Rufnangel Baltar Guerra, Luis Miguel Mazorra Morales, Jurandi Gonçalves de Oliveira

A rota biossintética do ácido ascórbico (AA) tem sua última etapa localizada nas cristas mitocondriais onde a enzima L-galactona-1,4-lactona desidrogenase (GalLDH) oxida o L-galactona-1,4-lactona (GalL) à AA, transferindo elétrons para o citocromo c da fosforilação oxidativa, etapa final do processo respiratório vegetal. Respiração e síntese de AA estão ligados funcionalmente. Compreender a influencia dos componentes da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (CTEm) sobre a formação do AA é de significativa relevância na compreensão do processo respiratório e seu envolvimento com o metabolismo antioxidante. Para isso foram purificadas mitocôndrias de três genótipos de tomate, sendo duas linhas transgênicas subexpressando a atividade GalLDH. Foram utilizadas as linhas 8-14, 5-13 e um tipo selvagem (wt) servindo como controle. A atividade GalLDH foi mensurada nos isolados mitocondriais de cada um dos genótipos por meio da redução do citocromo c via absorvância (550 nm) e a influencia dos componentes da cadeia foi medida utilizando inibidores e ativadores dos respectivos componentes. Os resultados indicam maior atividade GalLDH nos isolados de mitocôndria do wt, confirmando a subexpressão dos outros dois genótipos. A inibição dos complexos I, II, III e IV da CTEm influenciou na atividade GalLDH. Verificou-se maior atividade GalLDH nos tomates wt quando o complexo IV foi inibido. Entretanto, quando a via oxidase alternativa (AOX) foi inibida a atividade GalLDH foi completamente inibida, indicando forte dependência entre a atividade GalLDH e a AOX. Esta dependência se confirmou quando a via AOX foi estimulada com a adição de DTT, quando se verificou o aumento de 5 vezes na atividade GalLDH. Os valores de absorvância deste tratamento são ainda mais expressivos em mitocôndrias isoladas do tipo selvagem, chegando ao dobro do que se verificou nos dois genótipos mutantes. Assim, é possível concluir que a via AOX, conhecida por seu importante papel no combate ao estresse oxidativo, também tem influencia importante na formação de uma das mais relevantes ferramentas na atividade antioxidante vegetal, o AA.

Palavras-chave: L-galactona-1,4-lactona desidrogenase, alternativa oxidase, atividade antioxidante

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, CAPES e UENF.