

## **CRESCIMENTO E ESTRESSE OXIDATIVO EM PLANTAS DE CAPIM-MARMELADA SOB AÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE MUCUNA PRETA E DO L-DOPA**

Gabriele Sauthier Romano de Melo (PIBIC/CNPq/Uem), Anderson Ricardo Soares, Rita de Cássia Siqueira-Soares, Érica Priscila Hoshino, Maria de Lourdes Lucio Ferrarese (Orientador), e-mail:mlferrarese@uem.br

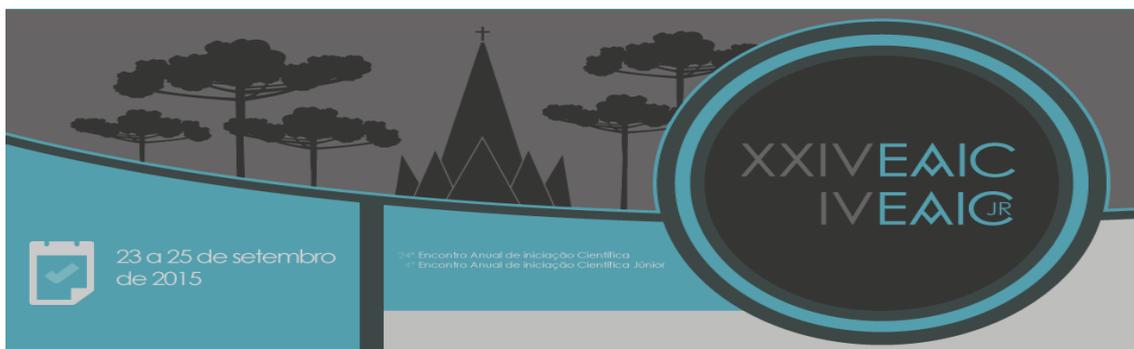
Universidade Estadual de Maringá /Departamento de Bioquímica

**Ciências Biológicas / Botânica**

**Palavras-chave:** Alelopatia, Mucuna, L-DOPA

### **Resumo:**

*Mucuna pruriens* (Leguminosae) conhecida como mucuna preta, é uma planta de cobertura do solo bem-sucedida e com vários produtos naturais altamente ativos, que possui efeito alelopático e é usada no controle de nematoides e invasoras. Tem sido relatado que vários agentes químicos secundários são produzidos pelas sementes, folhas e raízes de mucuna. O principal composto fitotóxico encontrado é o aminoácido não-proteico L-3,4-diidroxifenilalanina (L-DOPA). Este composto tem ação alelopática quando liberado no solo, impedindo o crescimento de outras plantas, contudo, o conhecimento sobre o mecanismo de ação do L-DOPA é escasso. Nas plantas, L-DOPA é precursor de muitos alcaloides, catecolaminas, flavonoides, melanina e fenilpropanoides, e está associado à formação de espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ). A partir dessas informações, o presente projeto propõe avaliar a área foliar e parâmetros fotossintéticos, bem como determinar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase solúvel (POD) e quantificar os teores de  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  e lipoperóxidos em plantas de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*). Os resultados evidenciam aumento nos níveis de  $O_2^{\bullet-}$ , e nas atividades da POD e SOD, bem como na peroxidação lipídica, efeitos mais evidentes nos tratamentos com extrato de folhas de mucuna indicando estresse oxidativo em plantas de capim-marmelada. A área foliar não foi significativamente afetada. Os tratamentos com L-DOPA, o principal aleloquímico presente nas folhas de mucuna, apresentaram resultados semelhantes, porém, não significativos.



## Introdução

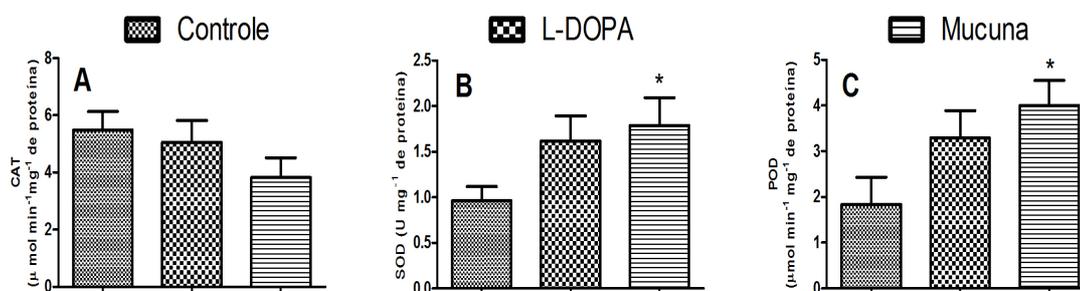
Popularmente conhecida como mucuna preta, a *Mucuna pruriens* (Leguminosae) é uma planta de cobertura de solo bem-sucedida, fixadora de nitrogênio, e muito utilizada como adubação verde. Possui vários produtos naturais ativos e apresenta, como principal composto fitotóxico, o aminoácido não-proteico L-3,4-diidroxifenilalanina (L-DOPA). Nas plantas, o L-DOPA é precursor de alcaloides, catecolaminas, flavonoides, melanina e fenilpropanoides, e está associado à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), como  $H_2O_2$ ,  $O_2^\bullet$  e  $\bullet OH$  (Apel e Hirsh, 2004). Assim, o presente projeto propõe avaliar a área foliar além de parâmetros fotossintéticos, bem como determinar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) e quantificar os teores de ROS e lipoperóxidos em plantas de *Brachiaria plantaginea*, popularmente conhecida como capim-marmelada, tratadas com extrato de folhas de mucuna e L-DOPA sintético. O estudo proposto pode fornecer um conhecimento importante para o esclarecimento do mecanismo de ação deste aleloquímico. Informações que poderão ser úteis para melhorar o controle de plantas daninhas, pragas e doenças, além de agregar dados no desenvolvimento de novos herbicidas naturais, contribuindo para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável (Prakash et al. 2001).

## Materiais e métodos

As plantas foram cultivadas por 30 dias; os tratamentos foram realizados no 26º e 28º dias e, continham solução nutritiva, com ou sem L-DOPA ou extrato de folhas de mucuna, e os experimentos foram realizados no 30º dia. A área de dimensão foliar foi determinada pela equação determinada por Bianco e Pitelli (2005). A atividade da enzima CAT foi determinada em 405nm, seguindo o consumo de  $H_2O_2$ . Os resultados são expressos em  $\mu mol\ min^{-1}\ mg^{-1}$  de proteína. A atividade da enzima SOD foi determinada seguindo a capacidade da enzima em converter  $O_2^\bullet$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , através da reação, em presença de luz, com riboflavina e nitroazul de tetrazólio (NBT). A determinação da atividade da peroxidase foi baseada na capacidade de oxidação do guaiacol. O radical superóxido ( $O_2^\bullet$ ) foi determinado por um método que tem como princípio a oxidação da hidroxilamina, produzindo nitrito. Os níveis de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) foram determinados através da reação com iodeto de potássio (KI). O nível de peroxidação lipídica, quantificado pela medida do acúmulo de malondialdeído (MDA) - um produto da peroxidação de ácidos graxos insaturados - foi baseado no procedimento descrito por Baziramakenga et al. (1995) com pequenas modificações, a 600nm.

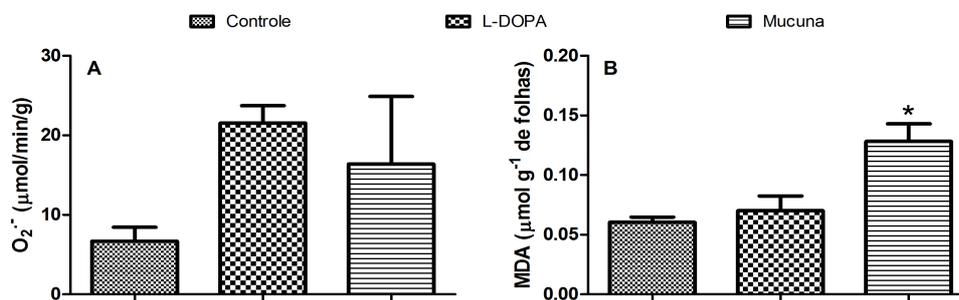
## Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que o crescimento de plantas de capim-marmelada tratadas com L-DOPA e extrato de mucuna, não apresentaram alterações significativas, quando comparado aos controles (dados não mostrados). A CAT não apresentou alterações significativas em nenhum dos tratamentos (Fig. 1A), enquanto a atividade da SOD (Fig. 1B) e POD (Fig. 1C) aumentaram 40% e 47,5% respectivamente, nas plantas tratadas com extrato das folhas de mucuna, quando comparado ao controle.



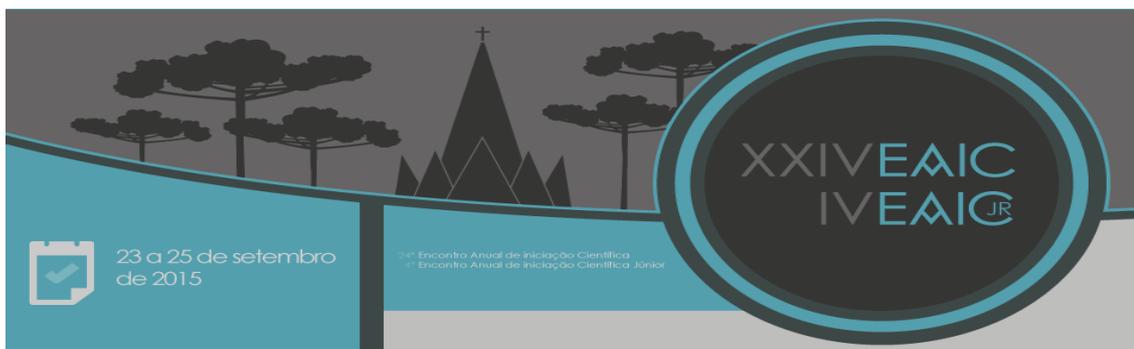
**Figura 1** – Efeitos do L-DOPA e extrato de mucuna sobre as enzimas antioxidantes de plantas de capim-marmelada. Valores são média ± EP. \*diferença significativa segundo o teste ANOVA Dunnet,  $p \leq 0,05$

Os conteúdos de  $O_2^-$  (Fig. 2A) aumentaram nos tratamentos com L-DOPA e mucuna, enquanto os danos às membranas, avaliados através da peroxidação lipídica (Fig. 2B), foram evidenciados apenas nos tratamentos com extrato de folhas de mucuna.



**Figura 2** – Efeitos do L-DOPA e extrato de mucuna sobre conteúdos  $O_2^-$  (A), e peroxidação lipídica (B) em plantas de capim-marmelada. Valores são média ± EP. \*diferença significativa segundo o teste ANOVA Dunnet,  $p \leq 0,05$

O aumento nos níveis de  $O_2^-$ , e nas atividades da POD e SOD, bem como na peroxidação lipídica, foram mais evidentes nos tratamentos com extrato de folhas de mucuna, indicando estresse oxidativo em plantas de capim-



marmelada. A área foliar não foi significativamente afetada. Os tratamentos com L-DOPA, o principal aleloquímico presente nas folhas de mucuna, apresentaram resultados semelhantes, porém, não significativos. É possível que os tratamentos com extrato de folhas de mucuna apresente L-DOPA agindo em sinergia com outros compostos químicos, o que contribuiria para explicar o maior efeito observado.

### Conclusões

Até o presente, conclui-se que os tratamentos com extrato de folhas de mucuna geram estresse oxidativo em folhas de capim-marmelada, quando comparado aos tratamentos controle. A determinação dos conteúdos de  $H_2O_2$ , viabilidade celular, bem como algumas repetições, ainda estão em andamento, e serão adicionados ao relatório final do PIBIC.

### Agradecimentos

Ao CNPq, CAPES e à Fundação Araucária do Estado do Paraná pelos recursos financeiros, ao CNPq pela bolsa de iniciação científica e à equipe do Laboratório de Bioquímica de Plantas, BIOPLAN, da UEM.

### Referências

- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolismo, oxidative, stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology and Plant Molecular Biology**, v.55, p.373-399, 2004.
- BAZIRAMAKENGA, R.; LEROUX, G.D.; SIMARD, R.R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots. **Journal of Chemical Ecology**, v.21. p.1271-1285, 1995.
- BIANCO, S.; PITELLI, R.A.; BIANCO, M.S. Estimativa da área foliar de *Brachiaria plantaginea* usando dimensões lineares do limbo foliar. **Planta daninha** vol.23 no.4 Viçosa Oct./Dec. 2005
- PRAKASH, D.; NIRANJAN, A.; TEWARI, S.K. Some nutritional properties of the seeds of tree Mucuna species. **International Journal of Food, Science and Nutrition**, v.52, p.79-82, 2001.