EFEITOS DA DOPAMINA SOBRE OS TEORES DE AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS E ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS DE RAÍZES DE PLÂNTULAS DE MILHO

Érica Priscila Hoshino (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Osvaldo Ferrarese-Filho (Orientador), Rogério Marchiosi (Co-orientador), e-mail: osferrarese@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

Ciências Biológicas / Botânica

Palavras-chave: Alelopatia, dopamina, *Mucuna pruriens*

Resumo:

Dopamina é uma catecolamina presente e liberada por *Mucuna pruriens*. Em estudos anteriores, nosso grupo mostrou que a dopamina diminui a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL), uma enzima-chave da biossíntese de fenilpropanoides precursores da lignina. A PAL converte L-fenilalanina (Phe) em ácido *trans*-cinâmico, que é metabolizado para gerar ácidos hidroxicinâmicos tais como os ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi averiguar se a inibição da PAL pela dopamina acarretaria na redução dos níveis de ácidos hidroxicinâmicos em raízes de milho, bem como teores de aminoácidos aromáticos. Para isso, plântulas de milho foram cultivadas em solução nutritiva contendo, ou não, dopamina (0-1,0 mM) por 24 h. O tratamento com dopamina aumentou os conteúdos de Phe (substrato da PAL) e L-tirosina (Tyr) nas raízes de milho. Houve também incremento nos teores dos ácidos *p*-cumárico e ferúlico. Provavelmente, isto seja decorrente da conversão de Tyr em ácido *p*-cumárico pela tirosina amônia-liase (TAL), uma enzima presente em monocotiledôneas como o milho.

Introdução

Dopamina é uma catecolamina (neurotransmissor) bem conhecida em animais e está presente em plantas como a mucuna (*Mucuna pruriens*). Esta é uma leguminosa comumente utilizada em consórcio com o milho, pois auxilia na fixação do nitrogênio. A liberação de catecolaminas no solo auxilia no combate contra patógenos e na competição com espécies de plantas vizinhas, mas o conhecimento sobre seus mecanismos de ação é escasso. Estudos anteriores demonstraram que a dopamina diminui a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) de milho. Esta enzima catalisa o primeiro passo na via dos fenilpropanoides que leva à síntese de lignina, polímero que confere resistência e impermeabilidade à parede celular (Jones, 1984). Ela converte a L-fenilalanina (Phe) em ácido *trans*-cinâmico, o precursor imediato dos ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico (fenilpropanoides). Assim, este trabalho teve como objetivo investigar a relação entre a inibição da atividade da PAL causada pela dopamina e a produção de fenilpropanoides em plântulas de milho. Dessa forma, os conteúdos de Phe, L-tirosina (Tyr) e dos ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico foram determinados em raízes de plântulas de milho expostas a diferentes concentrações de dopamina.

Materiais e métodos

Plântulas de milho foram cultivadas por 24 h em solução nutritiva contendo, ou não, dopamina (0-1,0 mM). Após este período as raízes foram separadas do hipocótilo e utilizadas para a quantificação de aminoácidos (Phe e Tyr) e ácidos hidroxicinâmicos (ácidos *p*-cumárico, ferúlico e sinápico). A determinação dos teores de Phe e Tyr foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) após derivatização com *O*-oftaldialdeído (OPA) (Marur *et al.*, 1994). Os teores dos aminoácidos e dos ácidos hidroxicinâmicos foram expressos como mg g^{-1} de peso fresco (PF) de raiz e µg g^{-1} de peso seco (PS) de raiz, respectivamente.

Resultados e Discussão

A figura 1 mostra os efeitos da dopamina sobre os teores de Phe e Tyr de raízes de plântulas de milho. A dopamina (1,0 mM) aumentou o conteúdo de Phe nas raízes em 35,27%. Também foram observados incrementos de 31,56% e 55,86% nos teores de Tyr em resposta aos tratamentos com 0,25 e 1,0 mM de dopamina, respectivamente.

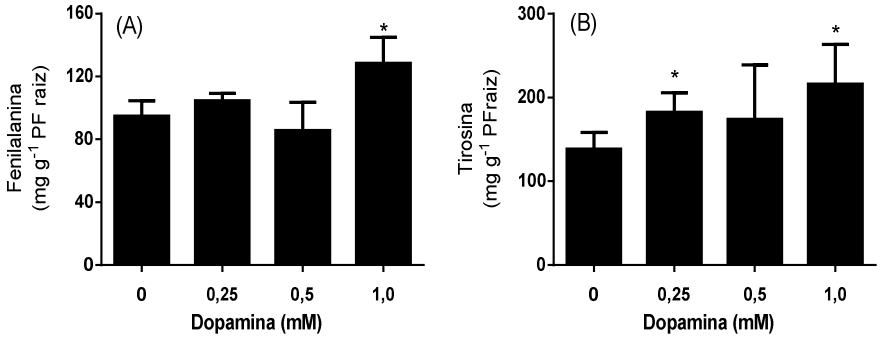

Figura 1 – Conteúdo de fenilalanina (A) e tirosina (B) em raízes de plantas de milho tratadas com dopamina. Valores são média ± EP. *diferença significativa segundo o teste ANOVA Dunnet, p≤0,05, n=4

O aumento dos teores de Phe nas plantas tratadas com dopamina provavelmente está relacionado diretamente com a inibição da atividade da PAL por este composto. Por sua vez, o acúmulo de Tyr deve-se a sua produção a partir de Phe, que no milho é um processo que ocorre em quatro etapas. A figura 2 mostra os efeitos da dopamina sobre os teores dos ácidos hidroxicinâmicos de raízes de plântulas de milho. A dopamina, nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mM, aumentou o teor de ácido *p*-cumárico em 82,96%, 111,70% e 70,71%, respectivamente. Houve também aumentos de 117,31% e 202% no conteúdo de ácido ferúlico após exposição das plantas a 0,5 e 1,0 mM de dopamina, respectivamente.

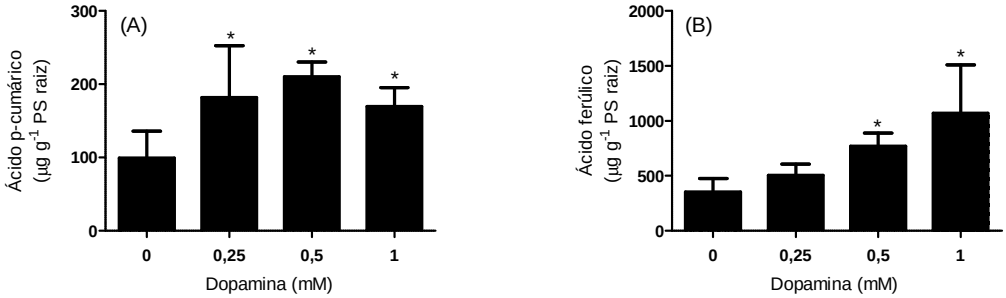

Figura 2 – Conteúdos dos ácidos *p*-cumárico (A) e ferúlico (B) em raízes de milho tratadas com dopamina. Valores são média ± EP. *diferença significativa segundo o teste ANOVA Dunnet, p≤0,05, n=6

O aumento nos teores dos ácidos *p*-cumárico e ferúlico era inesperado, já que a dopamina exerce significativa atividade inibitória sobre a PAL. Como descrito acima, a PAL é a primeira enzima da via dos fenilpropanoides, cujo produto (ácido *trans*-cinâmico) atua como precursor para a síntese de ácidos hidroxicinâmicos (ácidos *p*-cumárico, ferúlico). Portanto, é possível que estes ácidos tenham sido sintetizados através da conversão da Tyr em ácido *p*-cumárico, reação catalisada pela TAL. A atividade da TAL é encontrada em monocotiledôneas como o milho (Rosler *et al*., 1997). Finalmente, o ácido *p*-cumárico formado pode ser convertido a ácido ferúlico na via dos fenilpropanoides, justificando o seu acúmulo.

Conclusões

O aumento dos teores de Phe deve-se a redução da atividade da PAL, enzima que utiliza este aminoácido como substrato. A produção de ácidos hidroxicinâmicos deve ter ocorrido via desaminação da Tyr.

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

JONES, D. H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction and its role in plant development. Phytochem., v. 23, p. 1349-1359, 1984.

MARUR, C. J.; SODEK, L.; MAGALHÃES, A. C. N. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. Rev. Bras. Fisiol. Veg., v. 6, p. 103-108, 1994.

ROSLER, J.; KREKEL, F; AMRHEIN, N.; SCHMID, J. Maize phenylalanine ammonia-lyase has tyrosine ammonia-lyase activity. Plant Physiol., v. 113, p. 175-179, 1997.