

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO INIBIDOR BTC DA ENZIMA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXILASE (PEPC) POR TÉCNICAS *IN VITRO* E *IN VIVO*

Ruan Matheus Pessoa da Rosa (PIBIC UEM), Amanda Castro Comar (co-orientadora), Wanderley Dantas dos Santos. E-mail: wdsantos@uem.br;

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

**Centro de Ciências Biológicas/Bioquímica/Enzimologia**

**Palavras-chave:** BTC; herbicida; PEPC;

### RESUMO:

Desde o final do século passado, houve uma grande redução nas pesquisas por herbicidas com novos mecanismos de ação, sobretudo pela proliferação do glifosato para o controle de invasoras. Porém, o uso continuado de um número pequeno de herbicidas, age como uma pressão de seleção para genótipos naturalmente resistentes aos agroquímicos. Para prospectar novos alvos e compostos com atividade herbicida, realizamos o cultivo de plantas de milho por 14 dias na ausência (controle) ou presença de BTC 2,5 mM e 5,0 mM, renovando o tratamento a cada 48 h. Foram observadas reduções no comprimento e massa da parte aérea, diâmetro do colmo, área foliar, conteúdo de clorofila, além de aumento na atividade das enzimas antioxidantes, demonstrando bons resultados para a inibição da PEPC. Testes adicionais são necessários para avaliar a eficácia do princípio ativo em uma formulação contendo aditivos que permitam a aplicação foliar.

### INTRODUÇÃO:

Com a notável proliferação de ervas daninhas e considerando os grandes prejuízos que elas impõem às lavouras, iniciamos uma pesquisa com o intuito de encontrar novos princípios ativos com potencial herbicida sob novos alvos moleculares. Considerando que a população de ervas daninhas é composta majoritariamente de plantas com metabolismo C<sub>4</sub>, o grupo prospectou inibidores ativos sobre a fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC) que realiza a assimilação provisória de CO<sub>2</sub> em plantas C<sub>4</sub> (Barreda-Huerta et al., 2021). O BTC foi selecionado *in silico* teve sua atividade verificada *in vitro*. No presente estudo, a atividade do BTC foi avaliada em plantas de milho cultivadas em hidroponia, a fim de investigar seu mecanismo de ação *in vivo* e seu potencial herbicida.

### MATERIAIS E MÉTODOS:

As sementes de milho foram sanitizadas com hipoclorito 2% por 5 min, lavadas intensamente com água deionizada e germinadas sob luz dentro de tubos de vidro transparente, dentro de duas folhas de papel filtro (Germitest®), e umedecidas com água deionizada. Assim os tubos foram acondicionados em câmaras de germinação (Tecnal TE 400, São Paulo, Brazil), por 72h a 30°C. quarenta e cinco plantas foram transferidas para copos de acrílico com suporte ajustável, cada um contendo 3 plantas, sendo regados com 150 mL de solução de Hoagland podendo conter BTC a 2,5 mM ou 5 mM, assim cultivadas com trocas de solução a cada 48h, as medidas das raízes e da parte aérea de ambos os experimentos contaram com o auxílio de papel milimetrado e régua padrão 30 cm. Após as medidas, as raízes foram seccionadas da parte aérea e foram destinadas para análise de enzimas. A determinação da atividade da enzima PEPC foi feita de acordo com Jenkins, 1989. A determinação da atividade da peroxidase solúvel (POD), foi realizada conforme descrito por dos Santos et al., 2008. A determinação de ROS total foi determinado conforme Jambunathan, 2010. A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), foram realizadas conforme Giannopolitis et al., 1977 e Tománková et al., 2006, respectivamente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A presença do BTC ocasionou uma redução de 36% no conteúdo de clorofila nas plantas tratadas com a maior dose do inibidor (5,0 mM). Houve uma redução de 11% no comprimento de parte aérea em plantas tratadas com 2,5 mM de inibidor e de 13% em plantas tratadas com 5,0 mM de inibidor. O diâmetro do colmo foi reduzido em 27% e 31% nas doses de 2,5 e 5,0 mM, respectivamente. A área foliar reduziu 22% na menor dose e 31% na dose maior do inibidor. A massa fresca de raiz apresentou redução de 26% apenas na dose de 5,0 mM, enquanto a massa fresca de parte aérea, teve redução de 27% e 30% nas doses de 2,5 mM e 5,0 mM, respectivamente. Parâmetros como comprimento de raiz, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea não apresentaram diferença estatística. A atividade da enzima PEPC apresentou reduções significativas de 37% e 41%, nas plantas tratadas com 2,5 e 5,0 mM, respectivamente. Em relação às enzimas antioxidantes, o tratamento com BTC [5 mM] a superóxido dismutase e a peroxidase foliar induziu aumentos nas respectivas atividade de 81% e 47%. A atividade da enzima peroxidase radicular foi reduzida em 50% e 35%, para a menor e maior dose, respectivamente. A atividade da enzima catalase das plantas tratadas, não apresentou diferenças significativas em relação às plantas controle. Foram avaliados também os níveis de espécies reativas de oxigênio total, os quais apresentaram aumentos de 43% e 41% em folhas tratadas e 72% e 78%, nas raízes tratadas com as doses 2,5 e 5,0 mM, respectivamente. A peroxidação lipídica foi aumentada nas raízes em 29% tanto na dose de 2,5 mM quanto na de 5,0 mM. Os níveis de MDA nas folhas não apresentaram alteração significativa em relação aos dos controles. Em contrapartida, foi possível observar

um aumento de 66% e 74% nos níveis de dienos conjugados nas folhas das plantas tratadas com 2,5 e 5,0 mM, respectivamente. Já nas raízes, a concentração de 2,5 mM resultou numa redução significativa de 36% na produção de dienos conjugados, em relação ao controle, enquanto na maior dose do inibidor não houve alterações significativas nas plantas tratadas, quando comparadas aos controles.

## CONCLUSÕES:

Os resultados demonstram que o BTC tem forte atividade tóxica sobre as plantas de milho, sugerindo fortemente que ele apresenta potencial para compor uma formulação voltada ao controle de daninhas C4.

## AGRADECIMENTOS:

A Fundação Araucária e a Capes pelo financiamento desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS:

BARREDA-HUERTA, F., BUSTOS-JAIMES, I., MÚJICA-JIMÉNEZ, C., & MUÑOZ-CLARES, R. A. (2021). **Multiple conformations in solution of the maize C4-phosphoenolpyruvate carboxylase isozyme.** *Heliyon*, 7(11), e08464.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. **Superoxide Dismutases: II. Purification and Quantitative Relationship with Water-soluble Protein in Seedlings.** *PLANT PHYSIOLOGY*, v. 59, n. 2, p. 315–318, 1 fev. 1977.

JAMBUNATHAN N (2010) **Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants.** In: Sunkar R (ed) *Plant stress tolerance: Methods in molecular biology.* Springer, p. 291–297

JENKINS C.L. (1989) **Effects of the Phosphoenolpyruvate Carboxylase Inhibitor 3,3-Dichloro-2-(Dihydroxyphosphinoylmethyl)propenoate on Photosynthesis: C(4) Selectivity and Studies on C(4) Photosynthesis.** *Plant Physiol.* 89(4):1231-7. doi: 10.1104/ p.89.4.1231.

TOMÁNKOVÁ, K. et al. **Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*.** *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 68, n. 1–3, p. 22–32, 2006.

33º Encontro Anual de Iniciação Científica  
13º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



10 e 11 de Outubro de 2024

