

EFEITOS DA L-HOMOFENILALANINA NO CRESCIMENTO E EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DE PLANTAS DE CORDA-DE-VIOLA (*Ipomoea grandifolia*)

Isabela da Costa Miranda (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Cinthia Martins Corbetta, Ana Paula Ferro, Osvaldo Ferrarese-Filho, Wanderley Dantas dos Santos, Rogério Marchiosi (Coorientador), Rodrigo Polimeni Constantin (Orientador). E-mail: rpconstantin@uem.br.

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

Área: Bioquímica. **Subárea:** Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: O-acetilserina (tiol) liase (OAS-TL). Estresse oxidativo. Fotossíntese.

RESUMO

Em estudos anteriores *in silico*, determinou-se a L-homofenilalanina (HPA) como um potencial inibidor de O-acetilserina (tiol) liase (OAS-TL), uma enzima crucial para síntese de L-cisteína, que, por sua vez, é um aminoácido essencial para a produção de proteínas e outros compostos sulfurados vitais. Visando avaliar as atividades herbicidas dessa molécula, foram utilizadas plantas *Ipomoea grandifolia*. Constataram-se efeitos deletérios de HPA nos parâmetros biométricos, com reduções no comprimento radicular, aéreo e foliar; reduções na atividade de catalase, peroxidase e superóxido dismutase, além de concentrações elevadas das espécies reativas de oxigênio; reduções na eficiência fotossintética. Compreende-se, então, que as ações prejudiciais de HPA reforçam o potencial de inibição da OAS-TL, para o desenvolvimento de herbicidas.

INTRODUÇÃO

Em decorrência da vasta aplicação e uso indiscriminado de herbicidas, tem-se tornado cada vez mais frequente a prevalência de plantas daninhas resistentes a inúmeros princípios ativos. A via de assimilação de enxofre foi destacada por HIRASE & MOLIN (2003) como um alvo metabólico promissor para o desenvolvimento de novos herbicidas. As plantas podem reduzir o sulfato inorgânico (SO_4^{2-}) disponível no solo em L-cisteína, sendo a reação catalisada pela O-acetilserina (tiol) liase (OAS-TL). A L-cisteína desempenha um papel indispensável na sobrevivência das plantas, pois as ligações dissulfeto estabilizam as estruturas terciária e quaternária das proteínas. Em estudos anteriores *in silico*, realizados pelos pesquisadores do Laboratório de Bioquímica de Plantas, da Universidade Estadual de Maringá, a L-homofenilalanina (HPA) foi identificada como ligante inibidor da OAS-TL. Este trabalho estudou a inibição da OAS-TL como um novo mecanismo de ação herbicida, avaliando o comprometimento da síntese de L-

cisteína, do sistema antioxidante (atividade de enzimas como catalase, peroxidase e superóxido dismutase), do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) e do desempenho fotossintético em plantas de *Ipomoea grandifolia*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As plântulas de *I. grandifolia* foram submetidas a cultivo em hidroponia e tratamentos com HPA: (1) 0 μM , (2) 25 μM , (3) 50 μM , (4) 100 μM e (5) 150 μM . Foram feitas medidas da biomassa fresca e seca das raízes, da parte aérea e das folhas, em balança analítica. Foram feitas medidas do comprimento das raízes, da parte aérea e das folhas, com régua milimetrada. Utilizou-se a metodologia descrita em COELHO *et al.* (2017) para determinar a atividade de catalase (CAT), peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD). Utilizou-se a metodologia descrita em JAMBUNATHAN (2010) para determinar a concentração de EROS. Utilizou-se a metodologia descrita em MACHADO *et al.* (2005) para determinar a assimilação máxima de CO_2 (A_{max}). Utilizou-se a metodologia descrita em SHARKEY *et al.* (2007) para determinar a velocidade máxima de carboxilação ($V_{\text{c}_{\text{max}}}$). Utilizou-se a metodologia descrita em MORIWAKI *et al.* (2019) para determinar o transporte de elétrons (ETR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A biomassa das raízes e da área foliar foi reduzida em 65% e 47%, respectivamente (**Figura 1**). O comprimento das raízes e da parte aérea foi reduzido em 39% e 30%, respectivamente (**Figura 1**). A atividade da CAT, POD e SOD foi reduzida em 50%, 83% e 86%, respectivamente (**Figura 2**). A concentração de EROS foi aumentada nas folhas e nas raízes em 613% e 183%, respectivamente (**Figura 2**). A_{max} , $V_{\text{c}_{\text{max}}}$ e ETR foram reduzidos em 28%, 68% e 25%, respectivamente (**Figura 3**). Essas alterações estão associadas à baixa assimilação de enxofre e limitação da síntese de cisteína, o que compromete a atividade de enzimas antioxidantes, e a integridade de proteínas com grupos -SH e centros Fe-S, ocasionando redução na desintoxicação de EROS e aumento da geração de radicais pela cadeia de transporte eletrônico fotossintética.

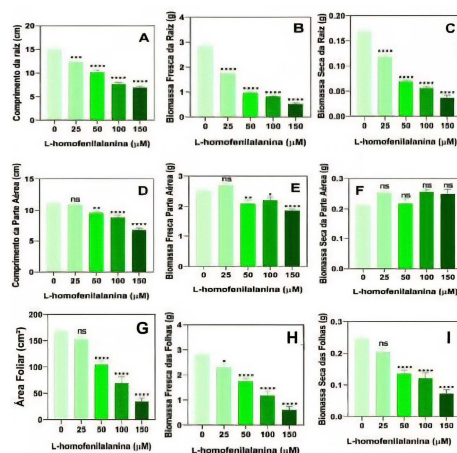


Figura 1 - Gráficos dos efeitos de HPA no crescimento. (A) comprimento da raiz (cm), (B) biomassa fresca da raiz (g), (C) biomassa seca da raiz (g), (D) comprimento da parte aérea (cm), (E) biomassa fresca da parte aérea (g), (F) biomassa seca da parte aérea (g), (G) área foliar (cm²), (H) biomassa fresca das folhas (g) e (I) biomassa seca das folhas (g). Valores médios ± erro padrão da média (SEM). O asterisco (*) indica uma diferença significativa em relação ao grupo controle ($P \leq 0,05$; teste de comparação múltipla de Dunnett), $n = 5$.

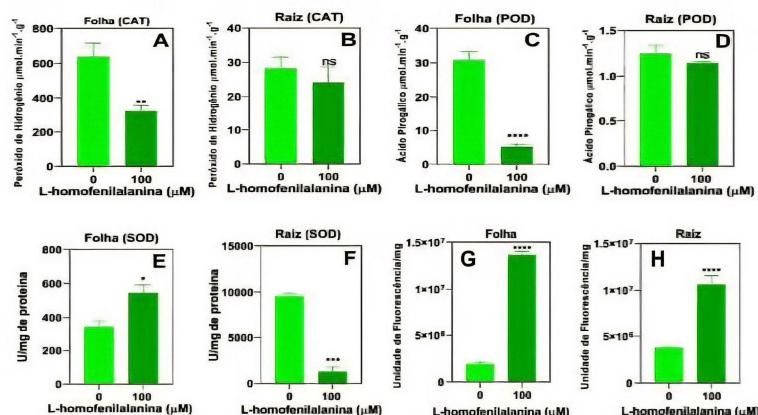


Figura 2 - Gráficos dos efeitos de HPA no sistema oxidativo. (A) CAT nas folhas (µmol/min.g⁻¹), (B) CAT nas raízes (µmol/min.g⁻¹), (C) POD nas folhas (µmol/min.g⁻¹), (D) POD nas raízes (µmol/min.g⁻¹), (E) SOD nas folhas (U/mg), (F) SOD nas raízes (U/mg), (G) EROS em folhas e (H) EROS em raízes. Valores médios ± erro padrão da média (SEM). O asterisco (*) indica uma diferença significativa em relação ao grupo controle ($P \leq 0.05$; unpaired t-test), $n = 5$.

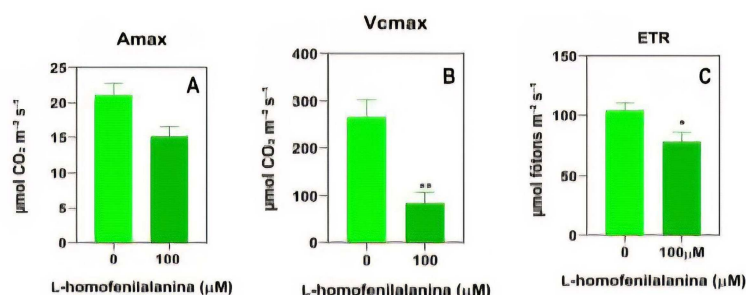


Figura 3 - Gráficos dos efeitos de HPA na fotossíntese. (A) $A_{\max}$ ($\mu\text{mol CO}_2/\text{ms}$), (B) $V_{c\max}$ ($\mu\text{mol CO}_2/\text{ms}$) e (C) transporte de elétrons ($\mu\text{mol f\acute{o}tons/ms}$). Valores médios $\pm$ erro padrão da média (SEM). O asterisco (*) indica uma diferença significativa em relação ao grupo controle ($P \leq 0.05$; unpaired t-test), $n = 5$.

CONCLUSÕES

As análises apresentadas neste estudo reforçam o potencial de HPA como um inibidor eficaz da OAS-TL, com efeitos deletérios complexos e significativos sobre os parâmetros biométricos, o sistema oxidativo e a fotossíntese de plantas *I. grandifolia*. Esses impactos podem ser atribuídos à baixa assimilação de enxofre, essencial para a síntese de cisteína e compostos sulfurados, comprometendo diretamente a formação, estrutura, estabilidade e função das proteínas contendo centros Fe-S, enzimas antioxidantes e cofatores, resultando em acúmulo de EROS e prejuízo do transporte eletrônico fotossintético.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM), Laboratório de Bioquímica de Plantas (BIOPLAN), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Fundação Araucária (FA).

REFERÊNCIAS

COELHO, É. M. P. et al. The activity of the antioxidant defense system of the weed species *Senna obtusifolia* L. and its resistance to allelochemical stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 43, n. 7, p. 725-738, 2017.

HIRASE, K.; MOLIN, W. T. Sulfur assimilation in plants and weed control: Potential targets for novel herbicides and action sites of certain safeners. **Weed biology and management**, v. 3, n. 3, p. 147-157, 2003.

JAMBUNATHAN, N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. In: **Plant stress tolerance: methods and protocols**. Totowa, NJ: Humana press, 2010. p. 291-297.

MACHADO, E. C. et al. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, p. 1161-1170, 2005.

MORIWAKI, T. et al. Nitrogen-improved photosynthesis quantum yield is driven by increased thylakoid density, enhancing green light absorption. **Plant Science**, v. 278, p. 1-11, 2019.

SHARKEY, T. D. et al. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 9, p. 1035-1040, 2007.