

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO INIBIDOR SPC DA ENZIMA O-ACETILSERINA(TIOL)LIASE (OAS-TL) POR TÉCNICAS *IN VITRO* E *IN VIVO*

Leticia Tiemi Ramos Yamauchi (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ana Paula Boromelo (Co-orientadora), Wanderley Dantas dos Santos (Orientador). E-mail:wdsantos@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Bioquímica, Enzimologia.

Palavras-chave: Metabolismo do enxofre; Herbicida; OAS-TL.

RESUMO

A resistência das plantas aos herbicidas é um problema crescente na agricultura que pode ser endereçado por meio do contínuo desenvolvimento de princípios ativos com novos mecanismos de ação herbicida. Previamente, o composto SPC foi selecionado *in silico* como potencial inibidor da enzima O-acetilserina(tiol)liase (OAS-TL) que realiza um passo essencial na assimilação do enxofre. Aqui avaliamos as respostas bioquímicas e fisiológicas de um genótipo de *Ipomoea grandifolia* resistente ao glifosato. As plantas foram cultivadas por 12 dias em vasos hidropônicos com solução nutritiva contendo SPC 0, 25 e 50 μ M, suplementados ou não L-cisteína. Nesse período, parâmetros biométricos, marcadores de estresse oxidativo e peroxidação lipídica foram avaliados, e os resultados obtidos indicaram que o SPC reduziu de forma significativa o crescimento e a biomassa. A suplementação com L-cisteína reverteu parcialmente os efeitos deletérios do inibidor. Porém, a suplementação de L-cisteína também mostrou uma pequena toxicidade nas plantas. É possível observar que o inibidor SPC induziu um estresse oxidativo que resultou em variações nas atividades das enzimas catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase, glutatona redutase, além dos níveis de malondialdeído e dienos conjugados. Os resultados sugerem fortemente que o SPC atua no metabolismo do enxofre, inibindo a formação de L-cisteína e prejudicando o desenvolvimento da planta.

INTRODUÇÃO

A via de assimilação do enxofre oferece um novo sítio de ação para o desenvolvimento de novos herbicidas. A O-acetilserina(tiol)liase (OAS-TL) desempenha um papel fundamental no metabolismo vegetal. Sua inibição reduz a produção de L-cisteína, um aminoácido essencial para a sobrevivência da planta (Coelho et al., 2023). Por não ser encontrada no metabolismo animal, torna-se uma boa escolha para o desenvolvimento de herbicidas com baixa toxicidade para animais e humanos (Foletto-Felipe, 2021). O composto SPC foi selecionado por

virtual *screening* como um candidato a inibidor da OAS-TL. Aqui relatamos os efeitos da aplicação do SPC sobre a planta daninha *Ipomoea grandifolia*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultivo em hidroponia e aplicação de inibidor: Sementes de *Ipomoea grandifolia* foram selecionadas para a quebra de dormência em ácido sulfúrico (95%) por cerca de 40 minutos, após o período foram lavadas em água deionizada e germinadas em papel Germitest, são mantidas em câmara germinadora BOD à 25°C com fotoperíodo 12h/12h por 48 horas. As plântulas são transferidas para cultivo hidropônico em solução de Hoagland em pH 6,0 e cultivadas durante 12 dias. Os tratamentos foram realizados a cada 48 horas juntamente do inibidor dissolvido na solução nutritiva. **Análises biométricas:** Foram analisados o comprimento da raiz e parte aérea com papel milimetrado e régua. A área foliar foi medida também pelo equipamento LiCor3100C e o número de folhas foi contabilizado. As massas frescas de cada vaso foram pesadas e acondicionadas em sacos para secagem em estufa a 70°C por 72h. **Análise em meio suplementado com L-cisteína:** As plantas foram cultivadas nas mesmas condições descritas anteriormente, mas com a diferença de aplicações de L-cisteína alguns dos vasos controles e dos tratamentos. Após os 12 dias de cultivo, foram determinados os parâmetros biométricos também já descritos.

Determinação de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes: Foram determinadas as atividades das enzimas catalase (CAT), peroxidase solúvel (POD), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR), onde a mesma, foi quantificada monitorando a oxidação do NADPH. Quanto aos parâmetros de estresse oxidativo, o conteúdo de malondialdeído (MDA's) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi determinado correlacionando ao teor de dienos conjugados das raízes. As metodologias descritas foram realizadas seguindo padrão da literatura com adaptações realizadas pelo grupo de pesquisa em questão.

Análises estatísticas: Os dados foram analisados para a variância unidirecional (One way ANOVA) e as diferenças significativas foram calculadas pelo teste de comparação múltipla de Dunnett. Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos em ambos os testes. As análises foram realizadas utilizando o pacote de software Prism™.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com SPC na dose de 25 μ M (Fig. 1) reduziu quase que integralmente todos os parâmetros biométricos das plantas de *Ipomoea*, variando essas reduções entre 21% e 52,69%. A L-cisteína 2 mM aplicada no grupo controle (Controle + L-cisteína) também provocou pequenas reduções em alguns parâmetros biométricos, sinalizando uma toxicidade às plantas. Entretanto, a área foliar e massa fresca das folhas das plantas tratadas com SPC na dose de 25 μ M e suplementadas com L-cisteína 2 mM foram parcialmente recuperadas. A suplementação com L-cisteína

também recuperou parcialmente os efeitos deletérios do SPC na dose de 50 μ M (Fig. 2), mostrando a atuação do inibidor na vida do enxofre e a relação com a formação de L-cisteína.

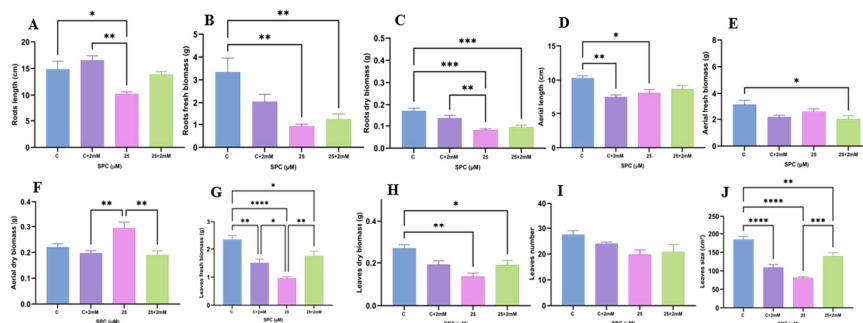


Figura 1: Suplementação com L-cisteína e análise de reversão com SPC (25 μ M) nos parâmetros biométricos de: A: Comprimento de raízes; B: Massa fresca das raízes; C: Massa seca das raízes; D: Comprimento da parte aérea; E: Massa fresca da parte aérea; F: Massa seca da parte aérea; G: Massa fresca das folhas; H: Massa seca das folhas; I: Número de folhas; J: Área foliar. Os valores são médias $\pm$ SE (n = 5). (*) diferentes indicam que as médias diferiram significativamente de acordo com o teste One-way ANOVA e pós teste de Dunnet em $p \leq 0,05$.

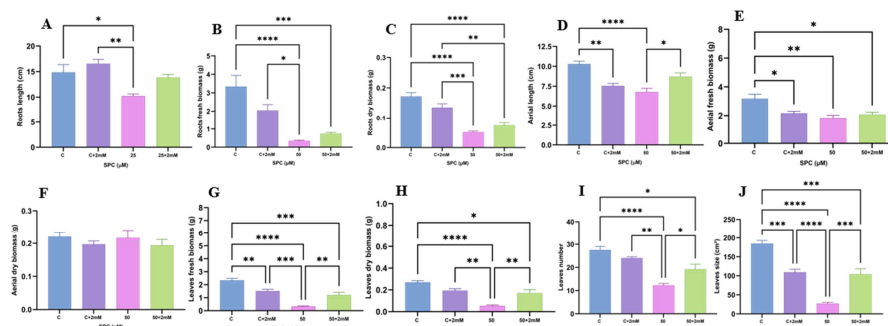


Figura 2: Suplementação com L-cisteína e análise de reversão com SPC (50 μ M) nos parâmetros biométricos de: A: Comprimento de raízes; B: Massa fresca das raízes; C: Massa seca das raízes; D: Comprimento da parte aérea; E: Massa fresca da parte aérea; F: Massa seca da parte aérea; G: Massa fresca das folhas; H: Massa seca das folhas; I: Número de folhas; J: Área foliar. Os valores são médias $\pm$ SE (n = 5). (*) diferentes indicam que as médias diferiram significativamente de acordo com o teste One-way ANOVA e pós teste de Dunnet em $p \leq 0,05$.

Em relação ao sistema antioxidante, foi observado um aumento nos níveis de MDA's nas folhas tratadas na dose de 25 μ M em 77,5%, ao passo que na raiz, esse parâmetro não foi afetado (Fig. 3). Os níveis de dienos conjugados nas raízes mostraram-se aumentados em até 78,94% (Fig.3). A atividade da catalase foi elevada em 89,98% nas folhas na dose de 50 μ M, porém reduzida nas raízes em até 12,65% na menor dose. A enzima ascorbato peroxidase teve a atividade reduzida em 19,56% nas folhas com SPC 25 μ M e na raiz em ambas as doses. Já a atividade

enzima glutatona redutase não apresentou diferenças significativas em folhas, sendo reduzida em até 43,75% na dose de 50 μM . A atividade da peroxidase não apresentou diferenças significativas nas raízes, mas foi reduzida nas folhas em até 79,37% na menor dose.

Pode-se notar que o inibidor SPC provocou severas alterações morfofisiológicas que levou a um quadro de estresse oxidativo, recrutando as enzimas do sistema antioxidante no combate contra as espécies reativas de oxigênio que são produzidas durante perturbações no metabolismo vegetal.

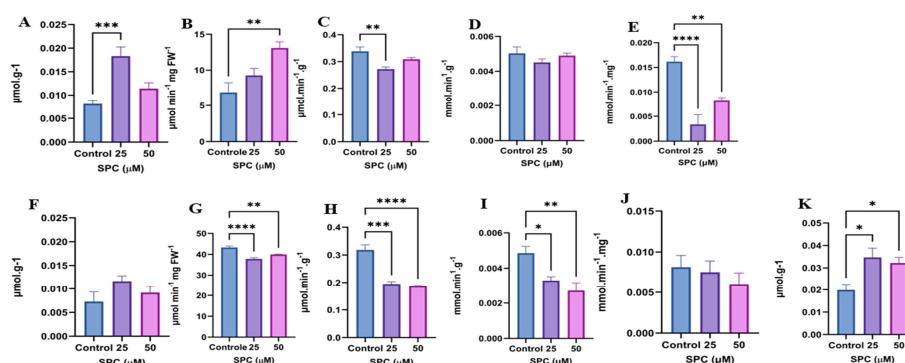


Figura 3: Efeitos do SPC na atividade antioxidante de raízes de plantas de *Ipomoea grandifolia* tratadas em sistema hidropônico por 12 dias. Os gráficos apresentados estão dispostos na parte superior sendo as folhas e na parte inferior sendo as raízes. A: MDA's folha; B: Catalase folha; C: Ascorbato peroxidase folha; D: Glutationa folha; E: Peroxidase folha; F: MDA's raiz; G: Catalase raiz; H: Ascorbato peroxidase raiz; I: Glutationa raiz; J: Peroxidase raiz; K: Dienos conjugados raiz. Os valores são médias $\pm$ SE (n = 5). (*) diferentes indicam que as médias diferiram significativamente de acordo com o teste One-way ANOVA e pós teste de Dunnet em $p \leq 0,05$.

CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que a adição de L-cisteína à solução nutritiva reverteu parcialmente os danos causados pelo inibidor SPC, em consonância com o proposto mecanismo de ação pela inibição da assimilação do enxofre. É possível inferir que o aumento na peroxidação lipídica e a variação no comportamento das enzimas do sistema antioxidante sugerem um quadro de estresse generalizado pelas plantas tratadas nas doses do SPC. Estudos futuros são necessários para complementação e arquitetura dos demais resultados.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, ao Laboratório de Bioquímica de Plantas, Bioplan-UEM, à Universidade Estadual de Maringá e a todos os envolvidos nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

COELHO, Márcia Ferreira; REZENDE, Fabiana Moura; OLIVEIRA, Gabriela Prado; SILVA, Leonardo Gomes; MAGALHÃES, Maria Luiza. Inhibition of O-acetylserine (thiol) lyase as a promising new mechanism of action for herbicides. *Frontiers in Plant Science*, v. 14, p. 1-15, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1167972>.

FOLETTTO-FELIPE, Marcela de Paiva. O-acetilserina (tiol) liase: estudos *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. *Repositório UTFPR*, 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/32139>. Acesso em: 22 ago. 2025.