EFEITOS DO ÁCIDO (S)-(+)-α-AMINOCICLOHEXANOPROPIÔNICO (ACHP) NO CRESCIMENTO E EM PARÂMETROS METABÓLICOS BÁSICOS DE PLANTAS DE CORDA-DE-VIOLA (*IPOMOEA GRANDIFOLIA*)

Letícia da Silva Felix (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Wanderley Dantas dos Santos, Rogério Marchiosi, Rodrigo Polimeni Constantin, Osvaldo Ferrarese-Filho, Cinthia Martins Corbetta (Coorientadora), Ana Paula Ferro (Orientadora).
E-mail: apferro2@uem.br.

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

Área: Botânica. **Subárea:** Fisiologia Vegetal.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados; controle de plantas daninhas; enzimas antioxidantes.

RESUMO

O ácido (S)-(+)-α-aminociclohexanopropiônico (ACHP) foi apontado em estudos *in silico* como potencial inibidor da O-acetilserina(tiol)liase (OAS-TL), enzima central na biossíntese de cisteína e no metabolismo de compostos sulfurados. Este trabalho avaliou os efeitos de 50 µM de ACHP sobre as atividades de OAS-TL, glutationa redutase (GR) e ascorbato peroxidase (APX) em raízes e folhas de *Ipomoea grandifolia* cultivada hidroponicamente. O tratamento promoveu aumentos numéricos de GR (18,2% nas raízes e 21,5% nas folhas), APX (7,6% e 8,4%) e OAS-TL (46,1% e 22,9%), respectivamente. Contudo, nenhuma alteração foi estatisticamente significativa. Os resultados sugerem possível ajuste do metabolismo sulfurado e do sistema antioxidante em resposta ao ACHP, especialmente pela relação entre a biossíntese de cisteína e a formação de glutationa, mas não confirmam a indução dessas atividades enzimáticas.

INTRODUÇÃO

Ipomoea grandifolia (corda-de-viola), assim como outras plantas daninhas, apresenta elevada produção de sementes, germinação escalonada e hábito trepador, características que dificultam seu manejo e podem comprometer culturas agrícolas (BARRETO, 2019). A identificação de novos alvos metabólicos vegetais tem, portanto, interesse agronômico, sobretudo em vias essenciais ao crescimento e à manutenção da homeostase celular. A O-acetilserina(tiol)liase (OAS-TL) catalisa a etapa final da biossíntese de L-cisteína, precursora de compostos sulfurados como a glutationa (GSH). A GSH integra o ciclo ascorbato-glutationa, no qual a ascorbato peroxidase (APX) remove H_2O_2 e a glutationa redutase (GR) regenera GSH, contribuindo para o equilíbrio redox (KUNERT; FOYER, 2023). Inibidores de OAS-TL podem afetar o metabolismo sulfurado e processos fisiológicos associados. Nesse contexto, o ácido (S)-(+)-α-aminociclohexanopropiônico (ACHP) foi selecionado, com

base em estudos *in silico*, como candidato a inibidor da OAS-TL. Assim, avaliou-se o seu efeito sobre as atividades de OAS-TL, GR e APX em raízes e folhas de *Ipomoea grandifolia*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes de *Ipomoea grandifolia* foram submetidas à quebra de dormência com H_2SO_4 98%, germinadas em câmara BOD e cultivadas hidroponicamente em solução de Hoagland (HOAGLAND; ARNON, 1950), contendo 0 ou 50 µM de ACHP, com renovação a cada 48 h. Folhas e raízes foram maceradas em nitrogênio líquido para obtenção dos extratos enzimáticos. A atividade da OAS-TL foi determinada conforme RANDEWIG et al. (2012), com modificações, utilizando O-acetilserina e Na_2S; após incubação a 25 °C por 15 min, a reação foi interrompida com TCA e a cisteína formada foi quantificada com ninhidrina a 560 nm, utilizando L-cisteína como padrão. A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi medida em um meio contendo tampão fosfato 50 mM (pH 6,8), ascorbato 0,16 mM, H_2O_2 15 mM e do extrato da enzima (0,05 mg de proteína). A oxidação do ascorbato foi medida em espectrofotômetro a 290 nm (ε= 2,8 mM^{-1} cm^{-1}) (NAKANO; ASADA, 1981). A atividade da glutationa redutase (GR) foi medida em meio contendo tampão fosfato 50 mM (pH 7,5), GSSG 0,3 mM, NADPH 0,1 mM e extrato da enzima (0,05 mg de proteína). O consumo de NADPH foi monitorado em espectrofotômetro a 340 nm (ε=6,22 mM^{-1} cm^{-1}) (CARLBERG, 1985). As atividades de GR e APX foram avaliadas em raízes e folhas. Os resultados são apresentados como média ± erro padrão (n = 5 repetições experimentais). As diferenças entre os grupos controle e tratado com ACHP foram avaliadas por meio do teste *t* de Student, considerando-se estatisticamente significativas as diferenças para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ACHP promoveu aumentos numéricos nas atividades antioxidantes, sem diferenças significativas em relação ao controle. A GR aumentou 18,2% nas raízes e 21,5% nas folhas, enquanto a APX aumentou 7,6% e 8,4%, respectivamente (Fig. 1).

GR e APX participam do ciclo ascorbato-glutationa e contribuem para a manutenção da homeostase redox. Enquanto a APX atua na remoção de H_2O_2, a GR regenera a glutationa reduzida (GSH). Assim, os aumentos observados podem refletir maior demanda de manutenção do estado redox, entretanto, a ausência de significância estatística impede atribuir ao ACHP uma indução efetiva dessas enzimas (KUNERT; FOYER, 2023).

A atividade da OAS-TL também foi numericamente maior após o tratamento, com aumentos de 46,1% nas raízes e 22,9% nas folhas (Fig. 2), novamente sem diferença estatisticamente significativa.

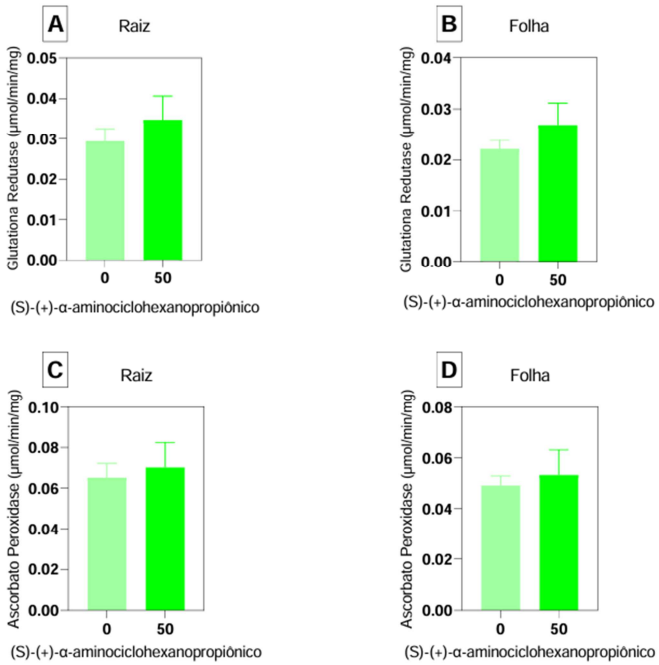


Figura 1 - Atividade de glutationa redutase (GR) e ascorbato peroxidase (APX) em raízes e folhas de *Ipomoea grandifolia* tratada com 0 (controle) ou 50 µM de ACHP. (A) GR em raízes; (B) GR em folhas; (C) APX em raízes; (D) APX em folhas. Dados expressos como média ± EP (n = 5 repetições experimentais). Comparação pelo teste *t* de Student (p ≤ 0,05); não houve diferença significativa em nenhum painel.

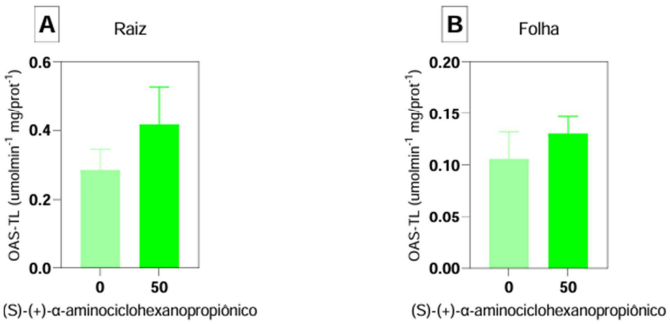


Figura 2 - Atividade da O-acetilserina(tiol)liase (OAS-TL) em raízes e folhas de *Ipomoea grandifolia* tratada com 0 (controle) ou 50 µM de ACHP. (A) OAS-TL em raízes; (B) OAS-TL em folhas. Dados expressos como média ± EP (n = 5 repetições experimentais). Comparação pelo teste *t* de Student (p ≤ 0,05); não houve diferença significativa.

O efeito mais pronunciado nas raízes pode indicar resposta compensatória do metabolismo sulfurado, considerando o papel da OAS-TL na síntese de cisteína e a relação desta com a formação de glutationa. A cisteína constitui um elo entre o metabolismo de enxofre e a manutenção do equilíbrio redox. Portanto, os resultados são compatíveis com um possível ajuste metabólico, mas não confirmam ativação ou inibição da OAS-TL pelo ACHP.

CONCLUSÕES

O tratamento com 50 µM de ACHP promoveu aumentos numéricos nas atividades de GR, APX e OAS-TL em raízes e folhas de *Ipomoea grandifolia*, porém sem diferenças estatisticamente significativas. Os dados sugerem possível ajuste do metabolismo sulfurado e da homeostase redox, mas não permitem concluir que o ACHP induziu essas enzimas ou confirmar sua ação inibitória sobre a OAS-TL nas condições avaliadas. Estudos adicionais serão necessários para esclarecer essa interação.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica; à Universidade Estadual de Maringá e ao BIOPLAN/UEM, pela infraestrutura; e aos professores e colegas que contribuíram para o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

BARRETO, L. F. **Interferência de *Ipomoea grandifolia* na cultura do milho**. 2019. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2019.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. **Methods in Enzymology**, v. 113, p. 484–490, 1985.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. Circular 347.

KUNERT, K. J.; FOYER, C. H. The ascorbate/glutathione cycle. **Advances in Botanical Research**, v. 105, p. 77-112, 2023.

NAKANO, Y.; ASADA, K**.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology,** v. 22, n. 5, p. 867–880, 1981.

RANDEWIG, D.; HAMISCH, D.; HERSCHBACH, C.; EIBLMEIER, M.; GEHL, C.; JURGELEIT, J.; SKERRA, J.; MENDEL, R. R.; RENNENBERG, H.; HÄNSCH, R. Sulfite oxidase controls sulfur metabolism under SO_2 exposure in *Arabidopsis thaliana*. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 1, p. 100-115, 2012.