

Área temática: Bioquímica

**ALTERAÇÃO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE MITOCÔNDRIAS DE
SOJA PELO EXTRATO DE *Brachiaria ruziziensis***

**Ana Paula Ferro, Edicléia Aparecida Bonini, Marcela Foletto, Kátia Aparecida Kern,
Emy Luiza Ishii Iwamoto**

Universidade Estadual de Maringá/DBQ. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR),
Cep: 87020-900. e-mail: aninha_pfrro@yahoo.com.br

A alelopatia é um processo que através da liberação de compostos secundários, pode influenciar outras plantas, incluindo as culturas agrícolas. Esse processo é intensificado com o plantio direto, no qual resíduos vegetais são deixados sobre a superfície e incorporados ao solo. Devido a importância da cultura de soja e a utilização do plantio direto, o presente trabalho teve como objetivo identificar possíveis efeitos alelopáticos no metabolismo energético da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) causados pela interação com a planta de cobertura *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard. Para isso, sementes de soja foram germinadas durante 72h, posteriormente as raízes foram usadas para o isolamento do extrato bruto e purificado de mitocôndrias e a atividade respiratória foi determinada polarograficamente, usando dois substratos: succinato e L-malato. Para o tratamento foram usadas duas concentrações do extrato: 500 e 1000 ppm, que foram adicionados ao extrato de mitocôndrias. Os resultados mostram diminuição da velocidade da respiração para o extrato bruto de mitocôndrias em todos os estados, mais pronunciadamente no estado III, na maior concentração e com o succinato como substrato oxidativo. Já para o extrato purificado, a inibição foi praticamente total em toda atividade respiratória. Nesse caso, como apenas mitocôndrias estão presentes, o O₂ não pode ser usado em outras reações que não seja a respiração mitocondrial. Contudo, infere-se que o complexo V pode ter sido afetado pela droga e esteja impossibilitado de transportar prótons para a matriz, impedindo a oxidação do substrato, assim, o fluxo de elétrons e a velocidade da cadeia respiratória decrescem. Outra possibilidade é que o transportador de adeninas e fosfato esteja inibido, diminuindo também a velocidade da cadeia. A inibição da cadeia como um todo sugere que o extrato butanólico *B. ruziziensis* teve um efeito alelopático sobre a soja, pois interferiu o metabolismo energético afetando significativamente a respiração mitocondrial.

Apoio: Cnpq.

Área temática: Bioquímica

**AValiação DO EFEITO DO EXTRATO DE *Brachiaria ruziziensis* SOBRE O
METABOLISMO ENERGÉTICO DE SOJA**

**Edicléia Aparecida Bonini, Ana Paula Ferro, Kátia Aparecida Kern, Marcela Foletto,
Emy Luiza Ishii Iwamoto**

Universidade Estadual de Maringá/DBQ. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR),
Cep: 87020-900. e-mail: aninha_pfro@yahoo.com.br

A alelopatia é definida como o efeito inibitório ou benéfico de uma planta sobre outra, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente. Esse fenômeno ocorre em comunidades naturais de plantas e pode, também, interferir no crescimento das culturas agrícolas, assumindo grande importância no plantio direto, já que esse processo visa a incorporação de resíduos de vegetais ao solo para sua manutenção e proteção. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi verificar se a planta de cobertura *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard, apresenta efeito alelopático sobre o metabolismo energético da soja (*Glycine max* L. Merrill), que atualmente representa uma cultura de grande importância no âmbito mundial, usando o extrato de *Brachiaria*. Para tanto, sementes de soja foram postas a germinar (72h), em seguida as plântulas foram incubadas (24h) em solução nutritiva, contendo ou não o extrato butanólico de *B. ruziziensis* na concentração de 1000 ppm. A seguir, as raízes das plântulas foram excisadas e a atividade respiratória dos ápices radiculares foi determinada polarograficamente. Os resultados revelaram inibição da velocidade respiratória do tecido vegetal íntegro, um pequeno aumento na respiração via oxidase alternativa e ativação da respiração extramitocondrial. Como esta última respiração não é proveniente das mitocôndrias e foi aumentada na presença do extrato, indica que enzimas que utilizam o O₂ (antioxidantes) foram ativadas. Isso ocorreu possivelmente, devido a um estresse oxidativo causado pela droga. Contudo, conclui-se que o extrato de *B. ruziziensis* alterou a atividade respiratória do tecido íntegro de raízes de soja e ativou enzimas antioxidantes, o que pode ser devido a um estímulo do estresse oxidativo. Desse modo, fica confirmado um efeito alelopático da *B. ruziziensis* sobre o metabolismo energético de plantas de soja.

Apoio: Cnpq.

Área temática: Bioquímica

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES DOS FLUXOS CELULARES DE CÁLCIO EM FÍGADOS DE RATOS ARTRÍTICOS

Karina Sayuri Utsunomiya, Luís Guilherme Scaliante, Emy Luiza Ishii Iwamoto

Universidade Estadual de Maringá/DBQ. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR),
Cep: 87020-900. e-mail: eliiwamoto@uem.br

A artrite reumatóide (AR) é uma doença inflamatória crônica, de natureza auto-imune, que apresenta uma evolução instável levando à destruição da cartilagem e deformidade óssea. A AR pode evoluir para uma condição de caquexia, sendo o fígado um dos órgãos afetados. Evidências experimentais sugerem que alterações no metabolismo energético e respostas à ação de hormônios em fígados de animais artríticos sejam decorrentes de modificações nos mecanismos de transdução de sinais que envolvem o cálcio como segundo mensageiro. Assim, o objetivo do trabalho foi o de avaliar o transporte de cálcio em fígados de animais artríticos e assim, colaborar no entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia da artrite. Para a indução da artrite, os animais receberam injeção intradérmica de 0,1 ml da suspensão de adjuvante completo de Freund em uma das patas posteriores. Os fígados de animais normais (controles) e artríticos foram perfundidos e o transporte de cálcio foi avaliado através da técnica de diluição de indicadores múltiplos associada a análise matemática dos dados. As constantes de velocidade k_1 e k_4 foram modificadas, resultando em aumento na concentração de cálcio no espaço citosólico e no estoque intracelular, possivelmente retículo endoplasmático e/ou mitocôndrias (C_{i2}). O aumento acentuado de C_{i2} favoreceu os fluxos de cálcio entre o compartimento intracelular e o citosol. Os níveis celulares de cálcio regulam vários outros processos na célula, incluindo o metabolismo celular e fenômenos como a apoptose celular. Assim, as modificações observadas nos fluxos de cálcio possivelmente contribuem para a patogênese da artrite.

Apoio: CNPQ, Capes e DBQ.

Área temática: Bioquímica

CRESCIMENTO E METABOLISMO OXIDATIVO DE RAÍZES DE SOJA SUBMETIDAS AO CÁDMIO

**Aline Finger Teixeira, Graciene de Souza Bido, Ana Paula Ferro,
Maria de Lourdes Lucio Ferrarese, Osvaldo Ferrarese Filho**

Universidade Estadual de Maringá/DBQ. Av. Colombo, 5790, Maringá (PR),
CEP: 87020-900. e-mail: gsbido@hotmail.com

Entre os metais pesados, o cádmio (Cd) é um dos mais agressivos e persistentes no ambiente natural. É um poluente danoso, pois apresenta alta solubilidade e mobilidade no solo sendo extremamente tóxico mesmo em baixas doses. Em geral, o acúmulo de Cd nos tecidos vegetais abrange uma variedade de sintomas, desde redução no crescimento, murchamento, clorose até morte celular. Os efeitos do cádmio (Cd) foram verificados sobre o crescimento, a viabilidade celular e atividades das peroxidases (PODs), solúvel e ligada à parede celular, de raízes de soja (*Glycine max* L. Merrill). Após três dias de germinação, 25 plântulas de soja foram cultivadas em solução ½ Hoagland (pH 6,0), com ou sem ou com CdCl₂ (25, 50, 75, 100 µM), em câmara de crescimento (25°C, fotoperíodo de 12h, irradiação 280 µmol m⁻² s⁻¹) por 24h. As raízes foram medidas antes e após a incubação e foi verificada biomassa, fresca e seca. A viabilidade celular e as atividades das POD foram determinadas espectrofotometricamente. Os parâmetros foram avaliados pelo teste de Dunnett e considerados significativos quando apresentaram valor de $P \leq 0,05$. Em geral o comprimento da raiz e as biomassas, fresca e seca, diminuíram, sendo acompanhado por significante perda de viabilidade celular após tratamento com cádmio. Entretanto, as atividades das peroxidases aumentaram significativamente após a exposição ao metal pesado. Portanto, o cádmio, possivelmente, induz o estresse oxidativo, ocasionando desestruturação celular e consequentemente redução do crescimento vegetal.

Apoio: CNPq

Área temática: Bioquímica

AUMENTO DA LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE SOJA INDUZIDO POR METAL PESADO

**Aline Finger Teixeira, Graciene de Souza Bido, Rogério Marchiosi,
Maria de Lourdes Lucio Ferrarese, Osvaldo Ferrarese Filho**

Universidade Estadual de Maringá/DBQ. Av. Colombo, 5790, Maringá (PR),
CEP: 87020-900. e-mail: gsbido@hotmail.com

Lignina é uma mistura racêmica de heterobiopolímeros aromáticos composta, principalmente, de três alcoóis hidroxicinâmílicos: *p*-cumaril álcool, coniferil álcool e sinapil álcool, correspondendo aos monolignóis H, G e S, respectivamente. Estresses bióticos e abióticos podem resultar em acúmulo destes monômeros nos tecidos lignificantes. Atividades antropogênicas, associadas com as atividades industriais e aplicações de fertilizantes ocasiona aumento da concentração de metais tóxicos, no solo, disponíveis aos organismos. O cádmio (Cd) é um metal pesado não essencial que pode ser prejudicial, mesmo em baixas concentrações, para as plantas, tendo ainda como fatores agravantes sua persistência no solo, sua alta solubilidade em água. Os objetivos deste trabalho foram analisar o conteúdo de lignina, bem como de sua composição monomérica em raízes de soja (*Glycine max* L. Merrill) tratadas com Cd. Após três dias de germinação, 25 plântulas de soja foram cultivadas em solução ½ Hoagland (pH 6,0), com ou sem ou com CdCl₂ (25, 50, 75, 100 µM), em câmara de crescimento (25°C, fotoperíodo de 12h, irradiação 280 µmol m⁻² s⁻¹) por 24h. Os teores de lignina foram verificados espectrofotometricamente e seus monômeros foram mensurados em HPLC. Os parâmetros foram avaliados pelo teste de Dunnett e considerados significativos quando apresentaram valor de $P \leq 0,05$. O conteúdo de lignina aumentou de 16,1 (25µM) para 130,9% (100µM) em relação ao controle. A composição monomérica de lignina de raízes expostas ao Cd revelou significantes aumentos dos monômeros de *p*-hidroxifenil (H) e siringil (S) nas duas maiores concentrações. O estresse pelo Cd tem sido associado à maior deposição de lignina nos tecidos vasculares e/ou desenvolvimento do xilema. Os resultados obtidos sugerem que os efeitos causados pelo Cd podem ser devido à produção excessiva de monolignóis formando lignina, que solidifica a parede celular e pode restringir o crescimento das raízes.

Apoio: CNPq

Área temática: Bioquímica

**CRESCIMENTO E LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE MILHO (*Zea mays* L.)
SUBMETIDAS AO ÁCIDO FERÚLICO**

**Rita de Cássia Siqueira-Soares¹, Ana Paula Ferro¹, Anderson Ricardo Soares¹,
Maria de Lourdes Lúcio Ferrarese¹, Osvaldo Ferrarese-Filho¹**

¹Laboratório de Bioquímica Vegetal – Departamento de Bioquímica – Universidade Estadual de Maringá – Av. Colombo nº 5790, Maringá-PR, Cep:87020-900.
e-mail: ritacsiqueira@hotmail.com

As plantas estão constantemente produzindo compostos orgânicos. Estes compostos são liberados para o solo por vários mecanismos que incluem lixiviação; exudação pelas raízes e a própria decomposição de partes da planta. Alguns destes compostos estão implicados em interações entre plantas ou alelopatia. É o caso do ácido ferúlico, um aleloquímico sintetizado pela via dos fenilpropanóides que leva à formação da lignina. Este trabalho teve por objetivo analisar o crescimento e a biomassa das raízes de milho, e os conteúdos de lignina após tratamento com o aleloquímico mencionado. Plântulas de três dias de desenvolvimento foram cultivadas em solução nutritiva, pH 6.0, contendo ou não ácido ferúlico 1mM. Os experimentos foram conduzidos a 25°C, por 24 horas, fotoperíodo (12 horas de claro). Os resultados revelaram respostas significativas nas raízes de milho. O comprimento, as biomassas fresca e seca das raízes diminuíram 79%, 26% e 16%, respectivamente, enquanto a produção de lignina aumentou 46% nos tratamentos com ácido ferúlico, quando comparado aos controles. Embora os mecanismos completos ainda não tenham sido resolvidos, a incorporação de lignina favorece um aumento na rigidez da parede celular e contribui para explicar a redução no crescimento da raiz.

(Apoio financeiro-CNPq)

Área temática: Bioquímica

CRESCIMENTO E VIABILIDADE CELULAR DE RAÍZES DE SOJA [*Glycine max* (L.) Merr.] SUBMETIDAS AO L-DOPA

**Rita de Cássia Siqueira-Soares¹, Anderson Ricardo Soares¹, Flávia Carolina Moreira¹,
Maria de Lourdes Lúcio Ferrarese¹, Osvaldo Ferrarese-Filho¹**

¹Laboratório de Bioquímica Vegetal – Departamento de Bioquímica – Universidade Estadual de Maringá – Av. Colombo nº 5790, Maringá-PR, Cep:87020-900.
e-mail: ritacsiqueira@hotmail.com

L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), um aminoácido não protéico, é precursor de alcalóides, fenilpropanóides, lignina, melanina e se constitui um poderoso aleloquímico. Sua atuação em plantas é pouco conhecida. Seus efeitos no crescimento das raízes não têm sido relatados em soja [*Glycine max* (L.) Merr.]. Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo analisar o crescimento, biomassa e a viabilidade celular das raízes de soja após tratamento com L-DOPA. Para isto, sementes de soja foram germinadas (três dias, 25°C) e plântulas uniformes (25) foram transferidas para recipientes contendo 200 mL de solução nutritiva (pH 6,0, sem ou com L-DOPA 0,5 mM). As análises foram realizadas com 6, 12, 18 e 24 horas de tratamento com o aleloquímico. Para determinar a viabilidade celular, as raízes frescas foram incubadas por 15 minutos com o corante azul de Evans. Em seguida, as raízes foram lavadas e as extremidades cortadas (5mm) e colocadas em dimetilformamida por 50 minutos e, posteriormente, analisado em espectrofotômetro a 600nm. Em geral, o comprimento, biomassa fresca e seca das raízes diminuíram, seguida por significativa perda da viabilidade celular. A absorção de azul de Evans pelas células, indicou a diminuição na viabilidade celular em raízes expostas a 0,5 mM L-DOPA. Embora os mecanismos completos ainda não tenham sido resolvidos, os resultados denotam uma relação entre a diminuição do crescimento e a perda da viabilidade celular.

Apoio financeiro: CNPq

Área temática: Bioquímica

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE ISOLADOS DE *Fusarium verticillioides*
OBTIDOS DE MILHO**

Sandra Regina de Souza, Carla Bertechini Faria, Ione Parra Barbosa-Tessmann

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Bioquímica/Laboratório de Bioquímica
Molecular. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900.
e-mail: sandrasouzaa@yahoo.com.br

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais alimentos da população humana mundial. No Brasil, a produção de milho e soja contribui com cerca de 80% da produção de grãos. *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg, anteriormente denominado *Fusarium moniliforme* (Sheldon), é um dos fungos mais comumente associados com a podridão da haste e da espiga, causando grandes perdas na produção. Em milho, *F. verticillioides* é um patógeno transmitido pela semente, o que provoca sua disseminação a grandes distâncias e sua introdução em novas áreas de cultivo. Em adição, *F. verticillioides* produz quantidades significativas da micotoxina fumonisina o que causa significativa diminuição na qualidade dos grãos produzidos. Estudos filogenéticos são realizados para detectar variabilidade genética entre isolados e para estudar a hipótese de disseminação ou de infecção local de patógenos. O objetivo deste projeto de pesquisa foi o de realizar um estudo filogenético de isolados de *F. verticillioides* obtidos de sementes de milho de regiões produtoras do Brasil (Paraná, Mato Grosso do Sul e Goiás). Inicialmente, foram obtidas culturas puras de dez isolados diferentes das sementes de milho. Estes isolados foram classificados molecularmente em reações da polimerase em cadeia (PCR) com iniciadores específicos. Para a análise filogenética, amplicons foram obtidos em reações de PCR com o DNA dos isolados e com uso de iniciadores direcionados para a região ITS-5,8S-ITS do DNA ribossomal nuclear. Os amplicons foram purificados e sequenciados. As sequências obtidas foram utilizadas para construir uma árvore filogenética pelo método de junção de vizinhos com análise de bootstrap para estimar os limites de confiança das distâncias e com o método de máxima probabilidade para calcular a distância evolucionária. Os resultados não mostraram diferenças filogenéticas significativas entre os isolados de *F. verticillioides* analisados, o que indica que estes patógenos tiveram uma origem evolucionária comum.

Apoio: CNPq e CAPES.

Área temática: Bioquímica

**INFLUÊNCIA DA UMIDADE NA PRODUÇÃO DE ENZIMAS PELO COGUMELO
MEDICINAL *Ganoderma lucidum***

Caroline Aparecida Vaz de Araujo, Cristina Giatti Marques de Souza

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica. Av. Colombo, n. 5790,
Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: carolly_miga@hotmail.com

Cogumelos comestíveis e medicinais são valorizados como suplemento alimentar e medicamento sem efeitos colaterais, utilizados na China e outros países do Oriente, nos Estados Unidos e na Europa. O cultivo em laboratório permite observar quais são os fatores mais importantes tanto para o crescimento micelial quanto para a produção de bioativos de interesse. O uso de resíduos agrícolas como substrato em bioprocessos é economicamente viável e ajuda a resolver os problemas ambientais decorrentes do seu acúmulo na natureza. O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de enzimas hidrolíticas e oxidativas pelo fungo utilizando resíduo agroindustrial em diferentes umidades. Utilizou-se como substrato 2g de coroa de abacaxi picada nas seguintes umidades 83%, 88% e 90%. O fungo foi inoculado em frascos de erlenmayer (125 ml) após esterilização do meio a 120°C, 1 atm. Os cultivos permaneceram em estufa (28°C) por 10 dias e foram interrompidos pelo acréscimo de 20 ml de água destilada. Após agitação (100 rpm) por 30 min a 4°C, o material foi centrifugado e o sobrenadante utilizado na determinação de compostos fenólicos e enzimas. O fungo se desenvolveu bem, sendo que na umidade de 90% mostrou melhor desempenho. Nestas condições a principal enzima produzida foi a lacase (1302,03 U/L). A elevada concentração de fenólicos no meio (1,132mg/g de substrato seco) pode ter induzido a produção destas enzimas em resposta à presença dos compostos fenólicos. A oxidação destes pelas lacases permitiria o desenvolvimento e sobrevivência do fungo. A quantidade de celulase encontrada foi de 0,033 U/mL e de xilanase de 0,126 U/mL. Não foi encontrada Mn Peroxidase em nenhuma das umidades testadas. Considerando o desenvolvimento do fungo, a coroa de abacaxi torna-se um substrato promissor para a obtenção de enzimas e outros produtos bioativos.

Apoio: CNPq/UEM.

Área temática: Bioquímica

**EFEITOS DA SIBUTRAMINA NA NEOGLICOGÊNESE A PARTIR DE VÁRIOS
SUBSTRATOS EM FÍGADO DE RATOS TRATADOS E NÃO TRATADOS COM
FENOBARBITAL**

**Amanda Caroline Schubert, Leandro Silva Pivato, Monique Cristine de Oliveira,
Kelly Cristine Damasceno Leite, Jorgete Constantin**

UNINGÁ – Faculdade Ingá. Av. Colombo, n. 9727 KM 130, Maringá (PR), Cep: 87070-000.
e-mail: amanda_schubert@hotmail.com

A sibutramina é um medicamento anti-obesidade, possuindo como ação farmacológica principal inibir a recaptção de serotonina e noradrenalina. É metabolizada no fígado pelo sistema citocromo P450, principalmente pela isoenzima 3A4, cuja atividade pode ser intensificada por drogas como o fenobarbital. Os dois metabólitos resultantes são mais ativos do que a própria sibutramina, por isso a importância da intensificação da metabolização da droga. Sendo o fígado um órgão central do metabolismo em mamíferos, há uma grande possibilidade de que esta deaminação da sibutramina em nível hepático cause interferências no metabolismo dos compostos orgânicos e até mesmo possa apresentar efeitos hepatotóxicos. Os experimentos foram realizados com fígado de ratos em perfusão monovascular isolada. Dosagens enzimáticas foram utilizadas para quantificar glicose, lactato e piruvato. A concentração venosa de oxigênio foi medida polarograficamente. Foram obtidos aumento do consumo de oxigênio, diminuição da concentração de glicose e aumento na produção de lactato e piruvato. O aumento de piruvato e lactato indica degradação de glicose. Isso pode levar à suposição de que a glicose produzida a partir de alanina foi consumida. Tal consumo pode estar relacionado à necessidade de produção de energia para metabolização da droga. Estudos anteriores revelam que a droga possui efeito desacoplador da fosforilação oxidativa em mitocôndrias, comprometendo a produção de ATP e NADH e, conseqüentemente a via neoglicogênica. O alto consumo de oxigênio pode reforçar o efeito desacoplador da droga na respiração celular. Pode-se supor que a droga também esteja inibindo enzimas como a alanina aminotransferase (ALT) e a piruvato carboxilase na matriz mitocondrial, ou ainda, alterando o funcionamento de carreadores. Esta aparente discrepância pode refletir uma sobreposição das ações da droga e seus metabólitos na respiração mitocondrial e no metabolismo celular. A neoglicogênese é inibida pela sibutramina de forma dose dependente.

Apoio: UEM, UNINGÁ

Área temática: Bioquímica

EFEITOS DO ALELOQUÍMICO L-DOPA SOBRE O CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA

Rogério Marchiosi¹, Fernanda Cervi dos Santos¹, Edicléia Aparecida Bonini Maria de Lourdes Lúcio Ferrarese¹, Osvaldo Ferrarese-Filho¹

¹Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Bioquímica. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: fer.cervi@hotmail.com

Os compostos oriundos do metabolismo secundário, conhecidos como aleloquímicos, podem ser liberados ao ambiente por diferentes vias, tais como volatilização, lixiviação, exsudação e decomposição. Eles interferem em muitos processos vitais das plantas, causando alterações principalmente na germinação e na divisão celular, no crescimento de raízes e na fotossíntese. O composto secundário L- 3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), encontrado abundantemente na *Mucuna*, inibe o crescimento de espécies de plantas vizinhas. Esta ação alelopática tem sido relatada em um grande número de espécies de plantas, mas o conhecimento sobre o mecanismo de ação do L-DOPA sobre a soja é escasso. Diante disso, este projeto teve por objetivo avaliar os efeitos de diferentes concentrações de L-DOPA sobre a soja, com ênfase, principalmente, nas análises de crescimento (biomassas fresca e seca, e área foliar) e consumo da solução nutritiva. Após a germinação, plântulas de soja foram incubadas em sistema para crescimento hidropônico contendo solução nutritiva. Os tratamentos com diferentes concentrações de L-DOPA foram realizados nos 10º, 12º, 14º, 16º, 18º e 20º dias de incubação. As medidas de crescimento foram realizadas no 22º dia de incubação. O consumo da solução nutritiva foi monitorado a partir do 10º dia de incubação. Os resultados revelaram que o consumo da solução nutritiva pelas plantas de soja tratadas com L-DOPA, diminuiu significativamente quando comparado com o tratamento controle. As biomassas fresca e seca dos caules e raízes das plantas de sojas tratadas com L-DOPA, também diminuíram com o aumento da concentração de L-DOPA. Não foram verificadas alterações na área foliar das plantas de soja tratadas com as diferentes concentrações do aleloquímico. De acordo com os dados obtidos, conclui-se que o L-DOPA causa alterações significativas no crescimento das plantas de soja.

Apoio: CNPq, CAPES e Fundação Araucária.

Área temática: Bioquímica

**EFEITOS DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE PALHADA DE MILHETO SOBRE
VARIÁVEIS FOTOSSINTÉTICAS DE PLANTAS DE SOJA**

**Fernanda Cervi dos Santos¹, Rogério Marchiosi¹, Aparecida Maria Dantas, Maria de
Lourdes Lúcio Ferrarese¹, Osvaldo Ferrarese-Filho¹**

¹Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Bioquímica. Av. Colombo, n. 5790,
Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: fer.cervi@hotmail.com

As plantas ou restos vegetais liberam compostos no solo que podem influenciar o crescimento de outras plantas. Esse processo é denominado alelopatia. Há relatos de que palhada de milho, antecedendo o plantio da soja, possibilita a redução das doses de herbicidas para controle de plantas indesejáveis. O milho é a principal gramínea utilizada para fins de cobertura do solo em Sistemas de Plantio Direto no cerrado brasileiro. Apesar disso, poucos são os estudos sobre os efeitos alelopáticos do milho sobre a soja. Diante disso, este projeto teve por objetivo avaliar os efeitos alelopáticos de extratos orgânicos de palhada de milho sobre o teor de clorofila, área foliar e fluorescência da clorofila a de plantas de soja. Após a germinação, plântulas de soja foram incubadas em sistema para crescimento hidropônico contendo solução nutritiva. Os tratamentos com os extratos orgânicos de milho (frações acetato, butanólica e aquosa) foram realizados no 10º dia de incubação. As análises de fluorescência da clorofila a em plantas adaptadas ao escuro (Fv/Fm) e ao claro (Yield) e os teores de clorofila foram realizadas no 2º e 4º dia após o tratamento. A área foliar foi determinada no 4º dia após o tratamento. As medidas foram realizadas utilizando o primeiro trifólio completamente expandido. Os resultados mostraram um aumento da Fv/Fm e do teor de clorofila das plantas de soja submetidas ao tratamento com a fração acetato no 2º dia após o tratamento. A Yield aumentou significativamente nas plantas tratadas com as frações acetato, butanólica e aquosa no 2º dia após o tratamento. Não foram verificadas alterações significativas em quaisquer dos parâmetros analisados, quando as plantas de soja foram submetidas aos tratamentos com as todas as frações de extrato de milho, no 4º dia após o tratamento. Os resultados reforçam a existência de potencial alelopático na palhada de milho.

Apoio: Fundação Araucária

Área temática: Bioquímica

EFEITOS DA SILIBININA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS EM JEJUM

**Carina Parisoto Colturato, Rodrigo Polimeni Constantín, Simoni Cristina Saling,
Jorgete Constantín**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, n° 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: carina_colturato@yahoo.com.br

A flavonolignana silibinina é extraída da planta *Silybum marianum* (L.) Gaertn, frequentemente conhecida como cardo-de-leite, sendo uma das plantas mais antigas e bem pesquisadas no tratamento de doenças do fígado. Evidências recentes tem demonstrado novas aplicações para a silibinina, especialmente no tratamento do diabetes melittus, devido a suas propriedades anti-hiperglicêmicas, provavelmente decorrente da inibição da produção hepática de glicose. Tais propriedades indicam que a silibinina pode ser utilizada na terapêutica, no entanto, os mecanismos envolvidos na ação da silibinina não estão completamente estabelecidos, sendo envolvidos por inúmeras controvérsias. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da silibinina sobre a gliconeogênese em fígados de ratos. Foram utilizados fígados de ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 180-250 g, submetidos a um jejum prévio de 24 horas. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não-recirculante, sendo o líquido de perfusão utilizado o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) por um oxigenador de membrana e aquecido simultaneamente a 37°C. A silibinina nas concentrações de 50-300 µM foi dissolvida no tampão e infundida em tempos determinados, assim como os substratos gliconeogênicos lactato e piruvato. A partir do perfusado, a glicose foi dosada utilizando a técnica da glicose oxidase, um método enzimático colorimétrico e o consumo de oxigênio foi monitorado polarograficamente. A gliconeogênese foi inibida de forma dose-dependente, sendo observada pela inibição da liberação de glicose pelo fígado e pela inibição do consumo de oxigênio. Estes resultados fornecem dados importantes para o potencial uso desta substância como agente hipoglicemiante. Futuras investigações são, no entanto, garantia para confirmação de uma expectativa terapêutica potencialmente importante.

Apoio: CNPq, CAPES e Fundação Araucária – Paraná.

Área temática: Bioquímica

**EFEITOS DA SILIBININA SOBRE A ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE
MITOCÔNDRIAS ISOLADAS DE FÍGADOS DE RATOS**

**Carina Parisoto Colturato, Rodrigo Polimeni Constantín, Simoni Cristina Saling,
Jorgete Constantín**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo,
n° 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: carina_colturato@yahoo.com.br

A planta *Silybum marianum* (L.) Gaertn, possui como componente principal a flavonolignana silibinina, sendo esta a responsável pelo maior grau de atividade biológica da planta, tendo efeitos hepatoprotetores devido a suas propriedades antioxidantes, redução da lipoperoxidação e efeitos antiinflamatórios. Atua de forma benéfica na restauração das funções normais do fígado, acelerando a síntese protéica nos hepatócitos, além de ser descrita contra hepatotoxicidade aguda induzida por uma grande variedade de toxinas e exibir propriedades anticancerígenas, quimiopreventivas, neuroprotetora e cardioprotetora. As células hepáticas são metabolicamente bastante ativas, como prova o grande volume de mitocôndrias, perfazendo mais de um quarto de todo o espaço celular hepático. Isto faz supor, que ocorre um metabolismo oxidativo energético muito intenso. Dessa forma, o presente trabalho foi planejado para investigar os efeitos da silibinina sobre mitocôndrias isoladas de fígados de ratos. Foram utilizados fígados de ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 180-250g. As mitocôndrias hepáticas foram isoladas por centrifugação diferencial e incubadas em meio de reação em uma câmara termostatzada a 37°C conectada a um polarógrafo. A esse meio foram adicionados intermediários do ciclo do ácido cítrico, a silibinina nas concentrações de 100-600 μM e a respiração mitocondrial foi avaliada através de medidas polarográficas do consumo de oxigênio na presença e ausência de ADP. Os resultados obtidos mostram que, com ambos os substratos NAD e FAD dependentes, a silibinina inibiu a respiração acoplada à fosforilação do ADP (respiração do estado III) e estimulou a respiração do estado IV. Estes dados indicam que a silibinina atua como agente desacoplador, sendo capaz de diminuir a eficiência da fosforilação oxidativa, promovendo diminuição do coeficiente respiratório (RC), bem como alteração da razão ADP/O, parâmetros que medem a eficiência e a integridade da membrana mitocondrial.

Apoio: CNPq, CAPES e Fundação Araucária – Paraná.

Área temática: Bioquímica

EFEITOS DA JUGLONA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS EM JEJUM

Simoni Cristina Saling, Carina Parisoto Colturato, Márcio Shigueaki Mito, Adelar Bracht

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: sis.sisa_bio@hotmail.com

A juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) é um composto orgânico encontrado em raízes, folhas, cascas e nozes de diversas espécies de nogueiras. As preparações feitas a partir das nogueiras têm sido amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento da acne, doenças inflamatórias, micose, infecções bacterianas, fúngicas e virais, além de ser usado no tratamento de cancro gástrico, câncer hepático e de pulmão, além de outros tipos de câncer na China por um longo tempo. Os mecanismos pelos quais as quinonas causam efeitos citotóxicos podem ser bastante complexos. O modo da ação tóxica da juglona parece envolver mecanismos que incluem a reatividade eletrofílica e a capacidade de passar por ciclos de oxidação-redução com concomitante formação de radicais livres. A juglona causa afluxo de espécies reativas de oxigênio na célula, resultando na deterioração oxidativa de macromoléculas e aceleração artificial do envelhecimento. O presente trabalho tem objetivo de investigar se a juglona afeta a gliconeogênese a partir de lactato em fígados de rato. Ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 220 g, alimentados com dieta laboratorial padronizada em jejum prévio de 24 horas, foram utilizados. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante, com tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) por um oxigenador de membrana e aquecido simultaneamente a 37°C. Os experimentos tiveram duração de 80 minutos, sendo infundido lactato exógeno a partir dos 10 minutos e a juglona (5-50 µM) dissolvida no tampão dos 30-60 minutos. Foram utilizados métodos enzimáticos para dosagem de glicose, lactato, piruvato e dosagem polarográfica para medir o consumo de oxigênio. A juglona inibiu a gliconeogênese a partir de lactato, como substrato exógeno, estimulando o consumo de oxigênio, fatos esperados pela combinação dos fenômenos desencadeados pelo decréscimo da formação de ATP mitocondrial, funcionando como os desacopladores clássicos.

Apoio: CNPq, CAPES e Fundação Araucária - PR

Área temática: Bioquímica

EFEITOS DA JUGLONA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS

Simoni Cristina Saling, Carina Parisoto Colturato, Márcio Shigueaki Mito, Adelar Bracht

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: sis.sisa_bio@hotmail.com

A juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) é um composto orgânico encontrado em raízes, folhas, cascas e nozes de diversas espécies de nozeiras da família Juglandaceae. As preparações feitas a partir das nozeiras têm sido amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento da acne, doenças inflamatórias, micose, infecções bacterianas, fúngicas e virais, além de ser usado no tratamento de cancro gástrico, câncer hepático, câncer de pulmão e outros tipos de câncer na China por um longo tempo. Os mecanismos pelos quais as quinonas causam diversos efeitos citotóxicos podem ser bastante complexos. O modo da ação tóxica da juglona parece envolver mecanismos mistos, que incluem a reatividade eletrofílica e a capacidade de passar por ciclos de oxidação-redução com concomitante formação de radicais livres. A juglona causa afluxo de espécies reativas de oxigênio na célula, resultando na deterioração oxidativa de macromoléculas e aceleração artificial do envelhecimento. O presente trabalho tem o objetivo de investigar se a juglona afeta a glicogenólise e glicólise em fígados de ratos. Ratos machos da linhagem Wistar alimentados à vontade com ração padronizada, pesando entre 200-250g, foram utilizados nos experimentos. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante, com tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4) saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) e aquecido a 37°C. A juglona (5-50 µM) foi dissolvida no tampão e infundida no fígado em tempos específicos. Foram dosados lactato e piruvato através de procedimentos enzimáticos padronizados, e a glicose foi dosada pelo método da glicose oxidase, além do consumo de oxigênio, que foi monitorado polarograficamente. A juglona estimulou o consumo de oxigênio, glicólise e glicogenólise, fatos esperados pela combinação dos fenômenos desencadeados pelo decréscimo da formação de ATP mitocondrial, funcionando aparentemente, como os desacopladores clássicos, tais como o 2,4-dinitrofenol.

Apoio: CNPq, CAPES e Fundação Araucária - PR