

## **Estímulo da biossíntese de lignina através de promotor químico promove aumento de lignina no tegumento da semente de soja**

GONZAGA, D.E.R.<sup>1</sup>; MARTINS, G.G.<sup>1</sup>; TONETE, D.C.<sup>1</sup>; MARTARELLO, D.C.<sup>1</sup>; RIOS, F.A.<sup>2</sup>; SANTOS, W.D. dos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica, Avenida Colombo, 5790, CEP 87020-900, Maringá-PR, diegoerg@hotmail.com. <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia.

### **Introdução**

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) pertence ao grupo das leguminosas e utiliza a via C3 para a realização da fotossíntese (Câmara, 2015). Através da utilização de novas tecnologias, o Brasil tornou-se o segundo maior produtor de soja, bem como o segundo maior exportador mundial de grãos, farelo e óleo (Silva et al., 2011), ficando atrás apenas dos Estados Unidos (Embrapa, 2017)

A alta qualidade da semente de soja é um dos fatores responsável por garantir o desempenho da cultura, devendo apresentar características genéticas, físicas, fisiológicas e sanitárias desejáveis, ou seja, além de apresentar altas taxas de germinação e vigor, é necessária a ausência de patógenos (Huth, 2015). O tegumento da soja por ser muito delgado e apresentar baixo conteúdo de lignina, oferece pouca proteção à radícula. Durante a colheita mecânica e o processamento, o dano mecânico é o fator mais importante na redução da qualidade dos grãos (Costa et al., 1987). Além disso, percevejos fitófagos, representantes dos insetos-praga mais importantes na cultura da soja, alimentam-se diretamente das vagens e atingem as sementes, podendo limitar o rendimento da produção. Por sua capacidade de oferecer resistência, maiores conteúdos de lignina aumentam a proteção dos grãos de soja (Alvarez et al., 1997; Capeleti et al., 2005), bem como proporciona sementes tolerantes à deterioração no armazém e no campo (França Neto; Krzyzanowski, 2003).

Estudos realizados na via dos fenilpropanoides visando compreender o mecanismo de ação de uma classe de promotores revelaram o mecanismo pelo qual alguns compostos induzem a lignificação (Ferrarese et al., 2000, Santos et al., 2004, Salvador et al., 2013).

Nesse contexto, como a lignina promove resistência e proteção do grão, o objetivo deste trabalho foi analisar o conteúdo de lignina no tegumento de grãos de soja de plantas cultivadas no campo, após a aplicação foliar do promotor P1.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido de outubro de 2017 a março de 2018, na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá. O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados em cinco repetições e as parcelas mediram 3,0 m de comprimento e 5,0 m de largura, totalizando 15,0 m<sup>2</sup>. Para evitar possíveis contaminações, foi descontado 0,5 m de bordadura. Dessa forma, a área útil das parcelas foi de 8 m<sup>2</sup>, sendo 4,0 m de comprimento e 2 m de largura. A semeadura foi realizada no dia 19 de outubro de 2017, utilizando a cultivar BMX potência RR, com espaçamento entrelinhas de 0,45 m. O controle de doenças, insetos-praga e plantas daninhas foi efetuado conforme as recomendações da variedade.

A aplicação foi feita através da pulverização foliar, no estágio R5.1, na velocidade de 1 m s<sup>-1</sup>, utilizando um pulverizador costal modelo XR11003 pressurizado por CO<sub>2</sub> a 38 lb pol<sup>-2</sup>. O tratamento apresentou testemunhas, sem promotor, e plantas tratadas com promotor na concentração de 2,5 mmol L<sup>-1</sup>. Para melhor espalhamento

do promotor sobre as folhas, foi utilizado um adjuvante (Aureo®) na concentração de 0,5% V/V.

A colheita das plantas foi realizada no mês de março de 2018, no estádio R9, coletando-se 5 plantas de cada parcela. Após a colheita, foram separadas as sementes das plantas de cada parcela e, posteriormente, as sementes foram embebidas com água durante 12 horas para a remoção do tegumento. As amostras foram transferidas para uma estufa a 60°C e, após a secagem, a biomassa foi triturada em um moinho.

Para determinar o conteúdo de lignina, 300 mg de biomassa foram homogeneizados em 7 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,0) e transferidas para tubos de centrífuga de 15 mL. O material foi centrifugado por 5 minutos a 3200 rpm e lavado por sucessivas agitações com auxílio de um bastão de inox e centrifugação, de acordo com a sequência: cinco vezes com 7 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,0); cinco vezes com 7 mL de Triton® 1% (v/v) preparado em tampão fosfato (pH 7,0); seis vezes com 7,0 mL de NaCl 1,0 M também em tampão (pH 7,0); seis vezes com 7,0 mL de água destilada e duas vezes com 5,0 mL de acetona. O precipitado foi seco em estufa a 60°C por 24h. O material obtido foi definido como a fração da parede celular isenta de proteínas. Após a parede celular isenta de proteínas, 20 mg desta biomassa foi adicionada a tubos de vidro com rosca contendo 0,5 mL do reagente brometo de acetila 25% (preparado em ácido acético glacial gelado). Os frascos foram aquecidos por 30 minutos em banho maria a 70°C. Após este procedimento, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e a reação foi interrompida pela adição de 0,9 mL de NaOH 2 M. Em sequência, 0,1 mL de hidroxilamina-HCl 7,5 M e 6 mL de ácido acético glacial, foram adicionados. Para a obtenção do sobrenadante, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 3200 rpm e o conteúdo de lignina foi quantificado por espectrofotômetro a 280 nm e os valores foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> de parede celular isenta de proteínas (PCIP) de acordo com a curva padrão (Adaptado de SU, 2005).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise para determinar a significância das diferenças entre as amostras realizando o teste *t de student* com P≤0,05, através do programa Graph Pad Prism® (Versão 6,0).

## **Resultados e Discussão**

Na Figura 1, observou-se aumento significativo de 44% no conteúdo de lignina em tegumentos de grãos de soja. Como o conteúdo de lignina aumenta a resistência ao dano mecânico, garantindo a manutenção da qualidade dos grãos, além de proporcionar sementes tolerantes à deterioração em armazéns (França Neto; Krzyzanowski, 2003), bem como ao ataque de percevejos fitófagos (Alvarez et al., 1997; Capeleti et al., 2005), esse resultado nos permite inferir que a nossa metodologia pode ser extremamente eficiente à proteção de sementes, podendo originar uma nova classe de agroquímicos naturais, biodegradáveis e atóxicos, capazes de sinalizar e aumentar a produção do conteúdo de lignina e, conseqüentemente, atuar contra a deterioração e diminuir os danos causados pelo ataque de percevejos, reduzindo, assim, o uso de pesticidas sintéticos.

Dessa forma, a eficiência da nossa técnica oferece uma alternativa ao uso de organismos geneticamente modificados, permitindo ajustar facilmente a intensidade da biossíntese de lignina, bastando para isso modificar a concentração do promotor, podendo ser ajustada para diferentes variedades e condições de manejo.

## **Conclusão**

A partir dos resultados pode-se concluir que a aplicação do promotor em plantas de soja é eficiente no aumento do conteúdo de lignina em tegumentos.

## Referências

- ALVAREZ, P. J. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MANDARINO, J. M. G.; FRANÇA NETO, J. B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 2, p. 209-214, 1997.
- CÂMARA, G. M. S. **Introdução ao agronegócio da soja**. Piracicaba: ESALQ, 2015. 30 p.
- CAPELETI, I.; FERRARESE, M. L. L.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE FILHO, O. A new procedure for quantification of lignin in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed coat and their relationship with the resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 33, n. 2, p. 511-515, 2005.
- COSTA, A. B.; KUENEMAN, E. A.; MONTEIRO, P. M. F. D. Varietal differences in soybeans for resistance to physical damage of seed. **Soybean Genetics Newsletter**, v. 14, p. 73-76, 1987.
- EMBRAPA. **Soja em números (safra 2017/2018)**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 28 mai. 2019.
- FERRARESE, M. L. L.; SOUZA, N. E.; RODRIGUES, J. D.; FERRARESE FILHO, O. Ferulic acid uptake by soybean root in nutrient culture. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 22, p. 121-124, 2000.
- FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Estratégias do melhoramento para produção de sementes de soja no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS - MELHORAMENTO DE PLANTAS E PRODUÇÃO DE SEMENTES NO BRASIL, 7., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. 1 CD-ROM.
- HUTH, C. **Lignina no tegumento de semente de soja: deterioração por umidade e dano mecânico e tamanho de amostra para o teste tetrazólio**. 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- SALVADOR, V. H.; LIMA, R. B.; SANTOS, W. D. dos; SOARES, A. R.; BÖHM, A. F.; MARCHIOSI, R.; FERRARESE, M. L. L.; FERRARESE-FILHO, O. Cinnamic acid increases lignin production and inhibits soybean root growth. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, e69105, 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0069105.
- SANTOS, W. D. dos; FERRARESE, M. L. L.; FINGER, A.; TEIXEIRA, A.C.N. e FERRARESE-FILHO, O. Lignification and related enzymes in *Glycine max* root growth-inhibition by ferulic acid. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 6, p. 1203-1212, 2004.
- SILVA, A. C.; LIMA, E. P. C.; BATISTA, H. R. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação. In: ENCONTRO DE ECONOMIA CATARINENSE, 5., 2011, Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis: UNESC, 2011.
- SU, G.; NA, Z.; ZHANG, W.; LIU, Y. Light promotes the synthesis of lignin through the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediate by diamine oxidases in soybean hypocotyls. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 1297-1303, 2005.

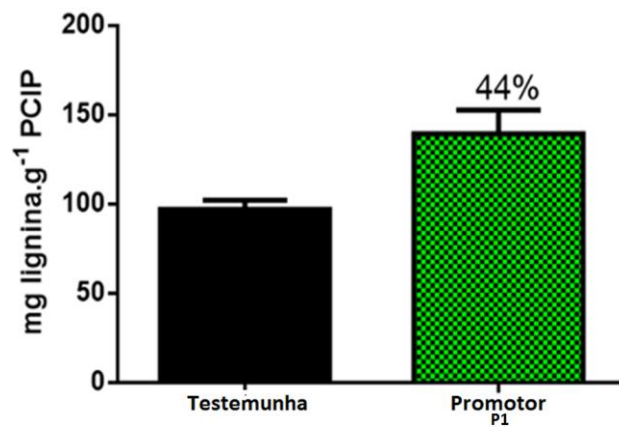


Figura 1. Conteúdo de lignina no tegumento da soja.