

## Promotor de lignificação aumenta a lignina em tegumento de semente de soja

GONZAGA, D.E.R.<sup>1</sup>; MARTINS, G.G.<sup>1</sup>; FILHO, E.R.M.<sup>1</sup>; JOIA, B.M.<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 lignina é um dos mais importantes polissacarídeos relacionado ao crescimento e rigidez celular encontrado na parede celular de vegetais. Sua síntese está relacionada a diferentes tipos de estresse, podendo ser estresses bióticos (Liu et al., 2018), como os ataques de pragas e patógenos comumente encontrados em cultura de soja, ou abióticos, constituindo assim uma importante barreira de proteção natural (Ithal et al., 2007). Além disso, esse polímero orgânico possui papel importante na resistência mecânica, servindo de suporte para o desenvolvimento do vegetal (Zheng et al., 2017; Liu et al., 2018).

Um dos problemas atuais encontrados na redução de qualidade das sementes de soja é o delgado tegumento dos grãos, que, por apresentar baixa quantidade de lignina, contribui para o aumento do dano mecânico no processamento da colheita (Costa et al., 1987). Com a finalidade de manter a posição no cenário de produção de soja mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (Embrapa, 2018), são necessários estudos relacionados ao melhoramento e manutenção da qualidade das sementes (França Neto; Krzyzanowski, 2003).

Por oferecer resistência mecânica, maiores conteúdos de lignina aumentam a resistência ao dano mecânico de sementes (Alvarez et al., 1997; Capeleti et al., 2005). Dessa forma, estudos realizados na via de biossíntese da lignina revelaram o mecanismo de ação de uma classe de moléculas que induzem o aumento no conteúdo de lignina (Ferrarese et al., 2000; Santos et al., 2004; Salvador et al., 2013).

Diante desta situação, avaliou-se nesse trabalho o conteúdo de lignina no tegumento de sementes de soja de plantas cultivadas no campo, após a aplicação foliar do promotor P8, responsável por atuar na indução de lignificação.

### Material e Métodos

Durante a safra 2017/2018, o experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá, localizada no noroeste do Estado do Paraná. O delineamento experimental foi instalado em blocos inteiramente casualizados em cinco repetições, aplicando o promotor de lignificação em plantas no estádio R5.1 em uma única dose, na concentração de 8 mM; e uma testemunha adicional sem promotor. O tratamento químico foi aplicado com o auxílio do pulverizador costal pressurizado por CO<sub>2</sub> a 38 lb pol<sup>-2</sup>, na velocidade de 1 m s<sup>-1</sup>, o que propiciou um volume de calda equivalente a 380 L ha<sup>-1</sup>. Para melhor espalhamento do promotor sobre as folhas, foi utilizado um adjuvante (Aureo<sup>®</sup>) na concentração de 0,5% V/V.

As parcelas constaram de 3,0 m de comprimento e 5,0 m de largura, totalizando 15,0 m<sup>2</sup>, porém, 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. O plantio foi realizado 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 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 pelo teste *t de student* com  $P \leq 0,05$ , através do programa Graph Pad Prism® (Versão 6,0).

## **Resultados e Discussão**

Na Figura 1, observou-se aumento significativo de 23% de lignina no tegumento dos grãos de soja. Além do conteúdo de lignina atuar na proteção contra danos mecânicos de colheita, pode proporcionar maior tolerância ao ataque de percevejos (Alvarez et al., 1997; Capelleti et al., 2005), bem como a possibilidade de maior tempo de armazenamento (França Neto; Krzyzanowski, 2003).

Esse aumento no conteúdo de lignina também sugere o aumento da proteção contra patógenos, pois a deposição de lignina parece interferir com a capacidade dos fungos de promover a digestão enzimática dos componentes da parede celular, reduzindo a capacidade do patógeno em penetrar na célula (Siranidou et al., 2002; Lattanzio et al., 2006; Liu et al., 2018).

Dessa forma, esses resultados sugerem que o promotor de lignificação P8 pode atuar como indutor na biossíntese de lignina, possuindo grande potencial para gerar uma nova classe de agroquímicos naturais, capazes de potencializar a produção do conteúdo de lignina. A nossa técnica além de ser uma alternativa para modular a intensidade da indução de lignificação de acordo com a cultivar utilizada, pode ser uma alternativa ao uso de herbicidas sintéticos.

## **Conclusão**

Pode-se concluir que a aplicação do promotor P8 é eficiente no aumento do conteúdo de lignina em tegumentos de sementes de soja.

## 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.
- 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.
- ITHAL, N.; RECKNOR, J.; NETTLETON, D.; MAIER, T.; BAUM, T. J.; MITCHUM, M. G. Developmental transcript profiling of cyst nematode feeding cells in soybean roots. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 20, p. 510-525, 2007.
- LATTANZIO, V.; LATTANZIO, V. M. T.; CARDINALI, A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. **Phytochemistry**, v. 37, p. 23-67, 2006.
- LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. Lignins: biosynthesis and biological functions in plants **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 335, 2018. 16 p. DOI:10.3390/ijms19020335.
- 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. DOIS: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.
- SIRANIDOU, E.; KANG, Z.; BUCHENAUER, H. Studies on symptom development, phenolic compounds and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to Fusarium head blight. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 200-208, 2002 .

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.

ZHENG, M.; JIN, C.; SHI, Y.; LI, Y.; YIN, Y.; YANG, D.; LUO, Y.; PANG, D.; XU, X.; LI, W. Manipulation of lignin metabolism by plant densities and its relationship with lodging resistance in wheat. **Scientific Reports**, v. 7, e41805, 2017.

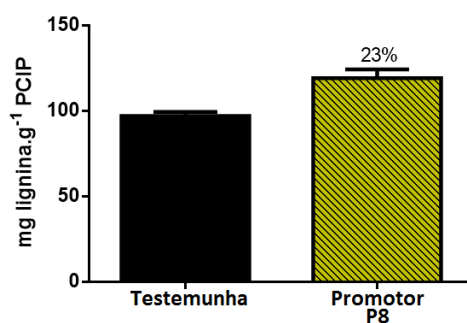


Figura 1. Conteúdo de lignina no tegumento da soja.