

Indução na via dos fenilpropanoides promove aumento de lignina em caule de plantas de soja

GONZAGA, D.E.R.¹; MARTINS, G.G. ¹; ALMEIDA, A.M.1; KOGA, A.N. ¹; RIOS, F.A.²; SANTOS, W.D. dos¹

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

Introdução

A lignina é um polímero orgânico responsável por aumentar a rigidez da parede celular vegetal e, conseqüentemente, dos caules das plantas. Um fator natural de deposição de lignina em plantas é a idade das células, ou seja, quanto mais novas, menor o conteúdo de lignina, possuindo maior capacidade de crescimento. Em condições de estresses, como déficit hídrico, células foliares de determinadas plantas sinalizam para a produção de lignina, sendo o efeito mais intenso em células jovens (Vicent et al., 2005).

Além de reduzir a qualidade dos grãos, o acamamento é responsável por dificultar a colheita das plantas de soja, podendo também reduzir a produtividade devido a redução do enchimento de grãos (Lamego et al., 2015). A possibilidade da utilização de reguladores de crescimento vegetal é uma das alternativas, podendo atuar no desenvolvimento da planta, limitando a dimensão de estruturas vegetais sem comprometer a produtividade (Tayama et al., 1992).

Como o Brasil ocupa a posição de segundo maior produtor de soja, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (Embrapa, 2018), novas tecnologias e programas de melhoramento, bem como adaptações à tecnologia são necessárias para o Brasil manter a posição de respaldo internacional (Silva et al., 2011). Diante disso, estudos realizados na via de biossíntese da lignina, visando compreender o mecanismo de ação de sinalizadores que induzem a lignificação, apresentaram o mecanismo pelo qual determinados compostos atuam na indução de lignina (Ferrarese et al., 2000; Santos et al., 2004; Salvador et al., 2013). Diante do exposto, devido à importância da lignina em caule de plantas de soja, o objetivo desse trabalho foi analisar o conteúdo de lignina em caules de plantas de soja cultivadas no campo, após a aplicação foliar do promotor P5.

Material e Métodos

O ensaio foi conduzido durante a safra 2017/2018, na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá. O experimento foi instalado em blocos inteiramente casualizados em cinco repetições e em um único estágio de desenvolvimento da planta (R5.1). Além disso, uma única dose do promotor de lignificação foi utilizada nas plantas tratadas, na concentração de 5,0 mM; e uma testemunha adicional sem promotor. O tratamento químico foi aplicado com o auxílio do pulverizador costal pressurizado por CO₂ a 38 lb *pol*², na velocidade de 1ms⁻¹, o que propiciou um volume de calda equivalente a 380 L ha⁻¹. Para melhor espalhamento do promotor sobre as folhas, foi utilizado um adjuvante (Aureo[®]) na concentração de 0,5% V/V.

As parcelas mediram 3,0 m de comprimento e 5,0 m de largura, totalizando 15,0 m². Para evitar possíveis contaminações, foi descontado 0,5 m de bordadura. Assim, a área útil das parcelas foi de 8 m², 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 semeadura de 0,45 m. O controle de doenças, insetos-praga e plantas daninhas foi efetuado conforme as recomendações da variedade.

Na colheita da soja, realizada no mês de março de 2018, no estádio R9, foram coletadas cinco plantas de cada parcela. Após a colheita, os caules das plantas de cada parcela foram triturados em um moinho e as biomassas resultantes foram acondicionadas em estufa a 60°C.

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⁻¹ de parede celular isenta de proteínas (PCIP) de acordo com a curva padrão (Adaptado de Su et al., 2005).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise para determinar a significância das diferenças entre as amostras. Para isso, utilizou-se o teste *t de student*, todos a 5% de probabilidade, através da utilização do programa Graph Pad Prism® (Versão 6,0).

Resultados e Discussão

O conteúdo de lignina foi influenciado pelo tratamento empregado, obtendo-se 33% de aumento no conteúdo de lignina do caule de plantas de soja.

Como o conteúdo de lignina nas estruturas caulinares aumenta a resistência ao acamamento (Li et al., 2016; Zheng et al., 2017; Liu et al., 2018), de acordo com o resultado, pode-se inferir que o método de aplicação foliar de promotor de lignificação em plantas de soja pode ser um novo artifício para aumentar a rigidez da parede celular e, conseqüentemente, atuar na resistência ao acamamento.

Diante disso, a linha de pesquisa pode contribuir para originar uma nova classe de agroquímicos capazes de atuar como indutores para o aumento de lignina, sem a necessidade de intervenções genéticas e utilização de compostos tóxicos. Além disso, pode-se ajustar facilmente a intensidade da biossíntese de lignina, bastando modular a concentração do promotor, podendo ser ajustada para diferentes cultivares.

Conclusão

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

Referências

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.

LAMEGO, F. P.; REINEHR, M.; CUTTI, L.; AGUIAR, A. C. M.; RIGON, C. A. G.; PAGLIARINI, I. B. Alterações morfológicas de plântulas de trigo, azevém e nabo quando em competição nos estádios iniciais de crescimento. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 13-22, 2015.

LI, H.; YANG, Y.; WANG, Z.; GUO, X.; LIU, F.; JIANG, J.; LIU, G. BpMADS12 gene role in lignin biosynthesis of *Betula platyphylla* Suk by transcriptome analysis. **Journal of Forest Research**, v. 27, n. 5, p. 1111-1120, 2016.

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. 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 H₂O₂ mediate by diamine oxidases in soybean hypocotyls. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 1297-1303, 2005.

TAYAMA, H. K.; LARSON, R. A.; HAMMER, P. A.; ROLLS, T. J. **Tips on the use of chemical growth regulators on floriculture crops**. Columbus: Ohio Florists' Association, 1992. 92 p.

VINCENT, D.; LAPIERRE, C.; POLLET, B.; CORNIC, G.; NEGRONI, L.; ZIVY, M. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves: a proteomic investigation. **Plant Physiology**, v. 137, n. 3, p. 949-960, 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, p. 41805, 2017.

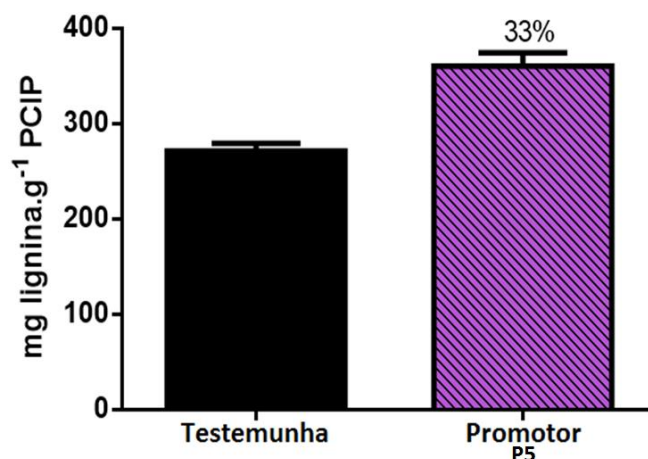


Figura 1. Conteúdo de lignina no caule da soja.