

## **Inibidor da biossíntese de lignina promove aumento da digestibilidade em plantas de soja para silagem**

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 soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa proveniente do continente asiático que possui grande importância no cenário econômico mundial. Segundo a Embrapa (2018), atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor de grãos de soja no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Além disso, a soja por ser uma oleaginosa rica em proteínas, serve de base para a alimentação humana e para animais ruminantes (Roessing et al., 2005).

Devido ao aumento das culturas de milho, cana-de-açúcar, algodão e eucalipto, às áreas de pastagens estão cada vez menores e, por conta disso, é imprescindível a adoção de tecnologias que proporcionem uma bovinocultura de ciclos curtos com o objetivo de aumentar o ganho de peso dos ruminantes. Assim, a dieta dos ruminantes, quando não composta por pastagens, é composta por silagens de gramíneas, geralmente de milho, que apresenta baixa concentração proteica e, por conta disso, é um fator limitante para a alimentação de animais com grande demanda nutricional, sendo necessária a utilização de concentrados proteicos, o que encarece a produção animal (Rigueira, 2007).

A utilização de silagem de leguminosas apresenta-se como boa alternativa para aumentar os níveis proteicos na dieta dos animais, pois além de apresentar alta palatabilidade. O teor de matéria seca, no período ideal para colheita, está entre 30 e 40%, possibilitando compactação maior e mais rápida quando comparada com às gramíneas (Gavioli, 2011).

Estudos realizados na via dos fenilpropanoides (Santos et al., 2008) evidenciaram que, em determinadas concentrações, alguns inibidores enzimáticos dessa via elevam a digestibilidade do bagaço de cana-de-açúcar em até 250% (Santos; Buckeridge, 2011). Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a digestibilidade da biomassa de plantas soja para silagem, cultivadas no campo, após a pulverização do inibidor da enzima coniferaldeído desidrogenase.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido de outubro de 2017 a fevereiro de 2018, na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá.

O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados em cinco repetições. As parcelas mediram 3,0 m de comprimento e 5,0 m de largura, totalizando 15,0 m<sup>2</sup>. A área útil das parcelas foi de 8 m<sup>2</sup>, sendo 4,0 m de comprimento e 2 m de largura, pois 0,5 m de bordadura foi descontado para evitar possíveis contaminações. 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 cultivar.

A aplicação do inibidor foi feita através da pulverização foliar, na velocidade de 1 ms<sup>-1</sup>, utilizando um pulverizador costal modelo XR11003 pressurizado por CO<sub>2</sub> a 38 lb *pot*<sup>2</sup>. O tratamento foi organizado da seguinte forma: testemunha sem aplicação e inibidor na concentração de 1,0 mmol L<sup>-1</sup>, no estádio V3. Na Tabela 1, são

apresentadas as condições climáticas no momento da aplicação. Para melhor espalhamento do inibidor sobre as folhas, foi utilizado um adjuvante (Aureo®) na concentração de 0,5% V/V. A Tabela 2 mostra a concentração do inibidor por área aplicada.

A colheita das plantas foi realizada no dia 1 de fevereiro de 2018, coletando-se 5 plantas de cada parcela, no estágio de semente cheia (R6), sendo a época mais adequada para a colheita da soja para silagem devido ao alto valor proteico e produção de matéria seca. Após a colheita, as plantas de soja de cada parcela foram trituradas em uma ensiladeira, formando uma única biomassa, pretendendo simular o que acontece no campo, onde a planta inteira é triturada e armazenada para servir de alimentação para ruminantes. Posteriormente, a biomassa foi transferida para uma estufa de secagem com ventilação forçada e, após a secagem, a amostra de cada parcela foi retriturada em um moinho faca e armazenada em estufa até o momento das análises.

Para os ensaios de digestibilidade da biomassa lignocelulósica, os açúcares solúveis da biomassa foram retirados de acordo com os métodos de Souza *et al.* O material resultante (AIR-resíduo insolúvel em álcool) foi seco a 60°C e utilizado nas etapas seguintes. Após a secagem, para a realização da digestibilidade enzimática, foram pesados 15 mg da biomassa (AIR) em microtubos e suspensos em tampão acetato (50 mmol L<sup>-1</sup>, pH 5,0), juntamente com 20 U mL<sup>-1</sup> de xilanase obtida do extrato de *Aspergillus niveus* para um volume total de reação de 1,0 mL. As amostras, junto com um controle (amostra sem enzima), foram incubadas a 50 °C, sendo realizadas as análises após 4 horas de digestão. Após a incubação, o sobrenadante foi analisado pelo método do DNS (Miller, 1959) para detecção de açúcares redutores liberados durante o processo. Os açúcares foram então quantificados por espectrofotômetro a 540 nm e os valores foram expressos em mg g<sup>-1</sup> de biomassa.

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

## Resultados e Discussão

Na Figura 1, pode-se observar um aumento significativo de 30% na digestibilidade das plantas de soja que foram tratadas com o inibidor enzimático no estágio V3 e colhidas no ponto de silagem (R6).

O resultado obtido pela aplicação do inibidor enzimático da via de síntese da lignina resultou no mesmo aumento obtido pela técnica de CRISPR/Cas9. Assim, a aplicação foliar do inibidor apresenta-se como uma alternativa vantajosa ao uso de organismos geneticamente modificados. Por ser um composto natural, além de não oferecer riscos ao meio ambiente, a técnica permite ajustar facilmente a intensidade da inibição, bastando para isso modificar a concentração do modulador. Desse modo, a técnica pode ser ajustada para diferentes variedades, culturas e condições de manejo.

Plantas de soja tratadas com o inibidor se apresentam como uma nova alternativa para a produção de forragem contribuindo com o aumento do ganho de peso de ruminantes em ciclos mais curtos, além de reduzir os custos com concentrados proteicos.

## Conclusão

A partir dos resultados, pode-se concluir que a aplicação do inibidor em plantas jovens de soja (estádio V3), na concentração de 1,0 mmol L<sup>-1</sup>, e colhidas no estágio R6, é eficiente no aumento da sacarificação enzimática.

## 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.

GAVIOLI, I. L. de C. **Silagens de soja e de ponta de cana-de-açúcar no desempenho de cordeiros**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Instituto de Zootecnia, Nova Odessa.

MILLER, J. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

RIGUEIRA, J. P. S. **Silagem de soja na alimentação de bovinos de corte**. 2007. 62 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ROESSING, A. C.; SANCHES, A. C.; MICHELLON, E. As perspectivas de expansão da soja. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 43., 2005, Ribeirão Preto. **Instituições, eficiência, gestão e contratos no sistema agroindustrial**: anais. Ribeirão Preto: Sober: Pensa: UERJ: Embrapa Florestas: FEA-RP: USP, 2005. 1 CD-ROM.

SANTOS, W. D. dos; FERRARESE, M. L. L.; NAKAMURA, C. V.; MOURÃO, K. S. M.; MANGOLIN, C. A.; FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid: the possible mode of action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1230. DOI: 10.1007/s10886-008-9522-3. 2008.

SANTOS, W.D. dos; BUCKERIDGE, M. S. **Processo para aumentar a digestibilidade da parede celular de uma planta, composição para inibição de enzimas constituintes da via dos fenilpropanóides e uso de moduladores ou inibidores químicos**. BR 020110095739, 14 set. 2011. (Instituto Nacional de Propriedade Industrial, Patente).

SOUZA, A. P. de; KAMEI, C. L. A.; TORRES, A. F.; PATTATHIL, S.; HAHN, M. G.; TRINDADE, L. M.; BUCKERIDGE, M. S. How cell wall complexity influences saccharification efficiency in *Miscanthus sinensis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 14, p. 4351-65, 2015.

Tabela 1. Condições climáticas da Fazenda Experimental de Iguatemi durante a aplicação do inibidor enzimático da via dos fenilpropanóides em plantas de soja.

Umidade relativa do ar (%)	Temperatura (°C)	Vento (Km/h)
67	25	14

Tabela 2. Massas e volumes de calda aplicados por hectare em cada tratamento

Estádio / Tratamento	Massa/hectare	Vol. calda ha <sup>-1</sup>
V3 / 2,0 mmol L <sup>-1</sup>	158 g	380 L ha <sup>-1</sup>

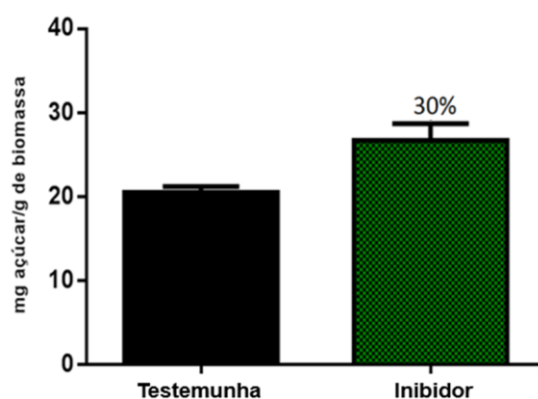


Figura 1. Sacarificação da soja após 4 h de digestão enzimática.