



EFEITO DO TRATAMENTO COM INIBIDORES ENZIMÁTICOS DA VIA DOS FENILPROPANOIDES SOBRE A DIGESTIBILIDADE DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA DE *BRACHIARIA DECUMBENS*

Isabela Mendes Bonfim (PIBIC/CNPq), Luiz Emílio Vicentin Alves, Osvaldo Ferrarese-Filho, Wanderley Dantas dos Santos (Orientador), e-mail: wdsantos@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Biológicas/
Maringá, PR.

Ciências Biológicas/ Bioquímica

Palavras-chave: Digestibilidade, lignina, capim-braquiária.

Resumo:

Os polissacarídeos que constituem a parede celular de forrageiras são a principal fonte de alimento para os ruminantes. No entanto, a lignina envolve estes polissacarídeos dificultando sua digestão enzimática. A via dos fenilpropanoides é responsável pela síntese de lignina. Assim, o tratamento das plantas com inibidores desta via pode reduzir a síntese de lignina e aumentar a digestibilidade da biomassa. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos inibidores de lignificação I-01 e I-02 sobre a digestibilidade e o conteúdo de lignina em capim braquiária. Os tratamentos com ambos os inibidores resultaram em aumentos entre 20 e 30% na digestibilidade, sem alterações significativas nos teores de lignina.

Introdução

A pecuária está entre as principais atividades agrícolas do Brasil (Macedo, 2006). A parede celular de forrageiras é o principal fonte de alimento para ruminantes. No entanto, sua biomassa é apenas parcialmente utilizada como fonte de energia nutricional pelos herbívoros. As enzimas digestivas dos herbívoros hidrolizam os polissacarídeos constituintes da parede celular liberando açúcares que servem como nutrientes. Contudo, além dos polissacarídeos, a lignocelulose pode apresentar diferentes concentrações





de lignina. Este polímero, envolve os polissacarídeos e reduz o acesso das enzimas digestivas aos polissacarídeos dificultando a digestão enzimática e reduzindo a qualidade da forragem (Moore e Jung, 2001). Sendo assim, técnicas capazes de modificar o processo de lignificação podem aumentar a digestibilidade das pastagens contribuindo para elevar a produtividade e reduzir a área plantada necessária para a criação de gado.

A via dos fenilpropanoides é responsável pela síntese da lignina e de diversos outros compostos fenólicos com extensa variedade estrutural e funcional como pigmentos, antioxidantes e moléculas sinalizadoras (Canilha et al., 1998). Tratamentos com inibidores enzimáticos podem reduzir a síntese de lignina de forma controlada, ou produzir modificações em sua estrutura que promovam a digestibilidade da biomassa lignocelulósica. Assim, neste projeto, propomos tratar plantas de capim braquiária com os inibidores da via dos fenilpropanoides a fim de verificar seus efeitos sobre a digestibilidade e o conteúdo de lignina.

Materiais e métodos

Preparação e cultivo das plantas

Os ensaios de campo foram conduzidos no Centro de Treinamento em Irrigação (CTI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os inibidores foram aplicados sobre o capim-braquiária presente no local, logo após a roçada. As análises foram realizadas 30 dias após a aplicação. Foram feitas aplicações em dose única dos inibidores I-01 e I-02 em diferentes concentrações, com 6 repetições em parcelas de 7,5 m².

Ensaio de digestibilidade

A biomassa seca e triturada foi incubada com etanol 80% a 55° C sob agitação de 200 rpm e então foi centrifugada (13000 g, 5 min) para retirada de açúcares solúveis. O procedimento foi repetido até remoção completa dos açúcares solúveis. Os extratos de parede celular obtidos foram lavados com acetona para remoção do etanol, centrifugados (2x, 13000 g, 5 min) e secos em estufa a 60° C por 24 h. Amostras do precipitado insolúvel em álcool (AIR) de tecido de capim braquiária (15 mg) foram ressuspensas em tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,5, com xilanase de *Aspergillus niveus* 20 U mL⁻¹ e incubadas a 50° C por 24 h. Após incubação foram analisados os açúcares redutores liberados pelo método do DNS (Miller,





1959). A digestibilidade foi expressa como mg de açúcar redutor g⁻¹ de biomassa.

Quantificação de Lignina

A biomassa foi lavada exaustivamente para remoção de proteínas e outros interferentes. O conteúdo de lignina foi determinado na biomassa isenta de proteína pelo método da lignina solúvel em brometo de acetila (Morrison, 1972). Em tubo de centrífuga, adicionou-se 20 mg da biomassa e 0,5 ml de brometo de acetila 25 %. As amostras foram aquecidas a 70° C por 30 min e então transferidas para banho de gelo. A seguir, adicionou-se 0,9 ml de NaOH 2 M, 0,1 ml de hidroxilamina-HCl 7,5 M e 4 ml de ácido acético glacial gelado. As amostras foram centrifugadas (1000 x g, 5 min) e o sobrenadante diluído para leitura em espectrofotômetro a 280 nm. A concentração de lignina foi determinada de acordo com uma curva padrão e expressa em mg de lignina g⁻¹ de parede celular.

Resultados e Discussão

A figura 1 mostra que os tratamentos com os inibidores I-01 e I-02 promoveram um aumento de até 30% na digestibilidade nas maiores concentrações testadas, sem alteração significativa nos teores de lignina. Na menor concentração o inibidor I-01 aumentou a digestibilidade em torno de 20%, O inibidor I-02, por sua vez só afetou a digestibilidade na maior concentração testada.

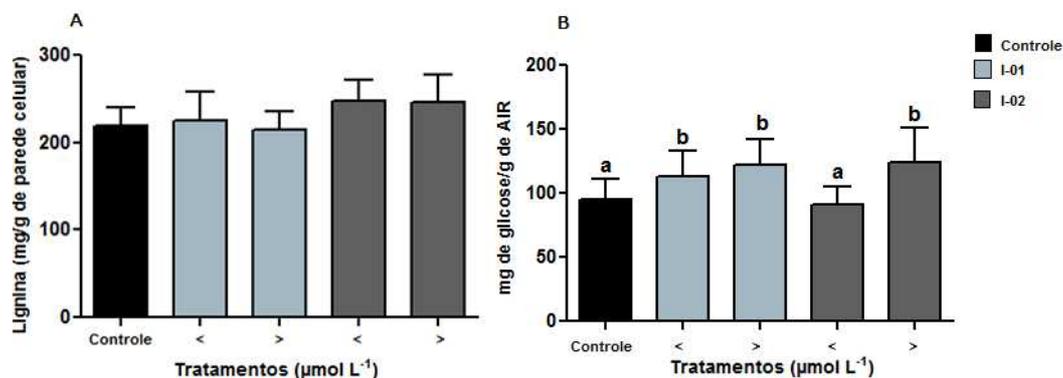


Figura 1 – A) Teor de lignina. B) Digestibilidade. < e > indicam a maior e a menor concentração utilizada de cada inibidor. Barras indicam valores médios ± erro padrão da média (n =6) dos parâmetros avaliados em capim braquiária tratado com os inibidores I-01 e I-02. Letras distintas são diferentes de acordo com teste de Scott–Knott (P≤0,05).





Conclusões

Os resultados demonstram que os tratamentos com inibidores da via dos fenilpropanoides são uma alternativa eficiente para reduzir a recalcitrância do capim braquiária. A técnica pode ser utilizada para aumentar a produtividade pecuária.

Agradecimentos

Ao professor Wanderley Dantas dos Santos pela orientação e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Referências

MACEDO, L.O.B. Modernização da pecuária de corte bovina no Brasil e a importância do crédito rural. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 36, p. 83-95, 2006.

MOORE, K. J.; JUNG, H.J. Lignin and fiber digestion. **Journal Range Manage**, v. 54, p. 420-430, 2001.

CANILHA, L., MILAGRES, A. M. F., SILVA, S. S., Silva, J. B. A., Felipe, M. G. A., ROCHA, G. J. M., CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, v.44, p. 48-54, 2010.

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

MORRISON, I.M. A semi-micro method for the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Ayr, v. 23, p. 455-463, 1972.

