

APLICAÇÃO DE INIBIDORES ENZIMÁTICOS DA VIA DOS FENILPROPANOIDES EM PLANTAS DE SOJA VISANDO AUMENTO DA DIGESTIBILIDADE.

Evandro Ribeiro Machado Filho (PIBIC/CNPq/FA/UEM),
Diego Eduardo Romero Gonzaga, Wanderley Dantas dos Santos (Orientador).
E-mail: evandromachadofilho@gmail.com, diegoerg@hotmail.com
wdsantos@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Bioquímica

Palavras-chave: ruminantes, silagem, lignina.

Resumo:

A silagem de soja é uma boa alternativa para suplementar animais devido a sua alta concentração proteica. Como a lignina interfere na eficiência da digestão, o objetivo desse trabalho foi avaliar a digestibilidade da biomassa de soja para silagem após a aplicação foliar de inibidores das enzimas 4CL, C4H e CALDH da via de biossíntese de lignina. O experimento foi realizado no campo em Iguatemi, PR, utilizando o delineamento de blocos inteiramente casualizados, com cinco repetições. O experimento foi composto de plantas tratadas em dose única de cada inibidor e plantas testemunhas, sem inibidor. A aplicação dos inibidores foi realizada através da pulverização foliar quando as plantas atingiram o estágio fenológico V6 (40 dias após a germinação). A semeadura da cultivar BMX potência RR foi realizada com espaçamento entrelinhas de 0,45 m. Os açúcares foram quantificados por espectrofotometria após quatro e vinte e quatro horas de digestão. A aplicação foliar dos inibidores enzimáticos da via dos fenilpropanoides em plantas de soja no campo proporcionou aumento da digestibilidade em até 30% de forma consistente ($P \leq 0,05$).

Introdução

A forragem em pastejo é uma forma simples de alimento para ruminantes, porém a disponibilidade de forragem no Brasil pode variar de acordo com as condições climáticas, possuindo maior disponibilidade no verão e crescimento reduzido no inverno (GOBETTI et al., 2011).

Uma prática adotada para contornar esta situação é a utilização de silagens de gramíneas, entretanto apesar da facilidade de cultivo e da alta capacidade de fermentação, a silagem de milho, por exemplo, apresenta baixa concentração proteica e por isto 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; GOBETTI et al., 2011).

A silagem de soja, em cultivo isolado ou associada a outras culturas, pode suplementar ruminantes. Além de possuir alta concentração de proteína (40%), pode garantir menores custos de produção quando comparado com os concentrados

proteicos (EVANGELISTA et al., 2003). O estudo do desempenho de cordeiros da raça Santa Inês, avaliado por Lima et al (2008), alimentados com silagem em consórcio de milho-soja, bem como silagem de milho com concentrados proteicos e silagem de soja exclusivo, evidenciaram que a silagem de soja exclusivo oferece maior ganho médio de peso diário em ovinos, equivalente a silagem de milho suplementada com concentrados proteicos.

Como a lignina interfere na conversão da celulose em açúcares fermentescíveis diminuindo a eficiência da sacarificação, estudos realizados na via dos fenilpropanoides comprovaram que em determinadas concentrações, alguns inibidores enzimáticos dessa via proporcionam aumento na digestibilidade do bagaço de cana-de-açúcar em até 250% (DOS SANTOS & BUCKERIDGE, 2018). Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar a digestibilidade da biomassa de plantas de soja cultivadas no campo após a pulverização foliar de inibidores das enzimas 4CL, CALDH e C4H da via de biossíntese de lignina.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá localizada no noroeste do Estado do Paraná durante a safra 2017/2018. O delineamento experimental foi realizado em cinco repetições em blocos de 9,0 m² inteiramente casualizados. A semeadura da cultivar BMX potência RR foi realizada no dia 19 de outubro de 2017, com espaçamento entrelinhas de 0,45 m. O controle de doenças, insetos-praga e plantas daninhas foi realizado.

Os inibidores das enzimas foram aplicados através da pulverização foliar quando as plantas atingiram o estágio fenológico V6. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal modelo XR11003 pressurizado por CO₂, o que proporcionou um volume de calda equivalente a 380 L ha⁻¹. O experimento apresentou plantas testemunhas, sem a aplicação dos inibidores e plantas tratadas com inibidores das enzimas 4CL, C4H e CALDH, em dose única de cada inibidor. Para melhor espalhamento do inibidor sobre as folhas utilizou-se um adjuvante (Aureo[®]) na concentração de 0,5% V/V. A Tabela 1 mostra as concentrações utilizadas de cada inibidor.

Tabela 1: Concentração dos inibidores enzimáticos utilizados na pulverização foliar

Inibidor	Concentração
Inibidor da enzima 4CL	1,0 mM
Inibidor da enzima 4CL	2,0 mM
Inibidor da enzima C4H	1,0 µM
Inibidor da enzima C4H	2,0 µM
Inibidor da enzima CALDH	0,5 mM
Inibidor da enzima CALDH	1,0 mM

A colheita foi realizada quando as plantas atingiram o estágio fenológico R6, sendo a época mais adequada para a colheita da soja para silagem devido ao alto valor proteico e produção de matéria seca, descontando 0,5 m de bordadura para evitar possíveis contaminações. Cinco plantas de cada parcela foram colhidas.

Após a colheita, as plantas de cada parcela foram trituradas em uma ensiladeira em conjunto, formando uma única biomassa, pretendendo simular o que acontece no campo. Posteriormente, a biomassa foi transferida para uma estufa de secagem com ventilação forçada e, após a secagem, a biomassa de cada parcela foi retriturada em

um moinho faca e armazenada em uma estufa de secagem a 60 °C até o momento das análises.

Para os ensaios de digestibilidade da biomassa lignocelulósica, os açúcares solúveis da biomassa foram removidos. O material resultante livre de açúcares solúveis (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 de AIR em microtubos e suspensos em tampão acetato (50 mmol L⁻¹, pH 5,0), juntamente com 20 U mL⁻¹ 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. Após a incubação, uma alíquota de 100 µL do sobrenadante foi analisada para a detecção de açúcares redutores liberados durante o processo. Os açúcares foram quantificados após quatro e vinte e quatro horas de sacarificação por espectrofotômetro a 540 nm e os valores foram expressos em mg.g⁻¹ de AIR.

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

Resultados e Discussão

De acordo com a Figura 1, após 4 horas de digestibilidade, obtivemos aumento significativo de 30% na sacarificação de plantas tratadas com o inibidor da enzima 4CL na concentração de 2,0 mM. Após 24 horas de digestibilidade (Figura 2), as plantas tratadas com os inibidores das enzimas 4CL (1mM) e CALDH (0,5mM), proporcionaram aumentos consistentes de 11% e 16%, respectivamente.

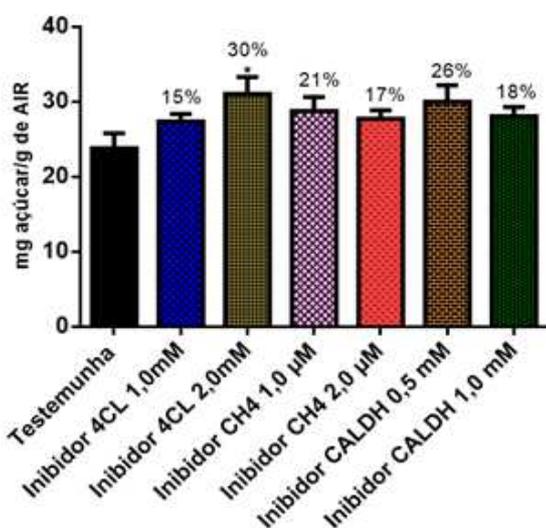


Figura 1. Digestibilidade da soja após 4 horas de digestão. Barras marcadas com asterisco (*) foram diferentes do controle pelo teste de Dunnett, (P≤0,05).

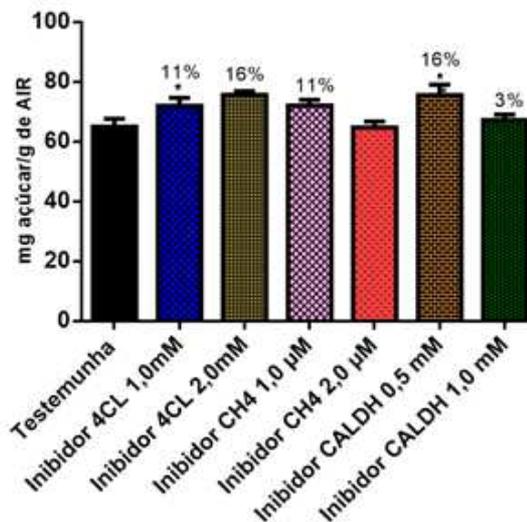


Figura 2. Digestibilidade da soja após 24 horas de digestão. Barras marcadas com asterisco (*) foram diferentes do controle pelo teste de Dunnett, (P≤0,05).

Como a lignina dificulta a conversão da celulose em açúcares livres reduzindo a eficiência da sacarificação e as plantas de soja apresentam alto teor proteico, oferecemos uma estratégia de utilização da planta de soja para silagem tratada com inibidores enzimáticos da via de biossíntese de lignina a fim de oferecer maior

possibilidade de ganho de peso em ruminantes. Além disso, o método apresentado oferece uma alternativa ao uso de organismos geneticamente modificados e permite ajustar a intensidade da inibição, bastando para isso modificar a concentração do inibidor.

Conclusões

A aplicação de inibidores das enzimas 4CL e CALDH é eficiente no aumento da digestibilidade da biomassa de plantas de soja para silagem.

Agradecimentos

BASF, FEI, BIOPLAN, NAPD, Sítio Gonzaga, CNPq.

Referências

DOS SANTOS, W.D. E BUCKERIDGE, M. S. **Patente Depositada no Instituto Nacional de Propriedade Industrial sob o número 020110095739**, Rio de Janeiro, 2018.

EVANGELISTA, A. R.; RESENDE, P. M.; MACIEL, G. A. **Uso da soja [Glycine max (L.) Merrill] na forma de forragem**. Lavras: UFLA, 2003. 36p.

GOBETTI, S. T. C., NEUMANN, M., OLIVEIRA, M. R., OLIBONI, R. Produção e utilização da silagem de planta inteira de soja (Glicine max) para ruminantes. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Guarapuava, v. 7, n. 3, p. 603-616, 2011.

LIMA, J. A. et al. Desempenho ponderal de cordeiros da raça Santa Inês alimentados com silagem de soja. In: 45ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45, 2008, Lavras. **Anais...** Lavras/UFLA: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008b. (CD ROM).

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