APLICAÇÃO FOLIAR DE INDUTOR DE LIGNIFICAÇÃO EM PLANTAS DE SOJA VISANDO AUMENTAR O TEOR DE LIGNINA NAS FOLHAS.

Ellen Bruna Tacone (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Diego Eduardo Romero Gonzaga (Coorientador), Wanderley Dantas dos Santos (Orientador) e-mail: wdsantos@uem.br

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

Área e sub-área do conhecimento: Ciências agrárias / Fisiologia de plantas

Palavras-chave: resistência, doença foliar, lignina.

Resumo:

A lignina é uma macromolécula fenólica produzida pelas plantas responsável por atuar na resistência contra o ataque de patógenos. Alguns aleloquímicos quando em contato com as plantas, são metabolizados e responsáveis por aumentar o conteúdo de lignina nos vegetais. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o conteúdo de lignina e a sacarificação enzimática de folhas após a aplicação foliar de indutor de lignificação em plantas de soja. O experimento foi conduzido no Sítio Gonzaga em Mandaguaçu/PR, com delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições de plantas testemunhas e plantas tratadas com indutor na concentração de 19 mM. A aplicação foi realizada através da pulverização foliar quando as plantas atingiram o estádio fenológico V4. As plantas tratadas com o indutor de lignificação apresentaram aumento significante de 9,96% de lignina nas folhas. Com relação à sacarificação enzimática, não houve diferenças significativas em relação à testemunha. Dessa forma, conclui-se que o indutor de lignificação é eficiente para aumentar o conteúdo de lignina na folha da cultura da soja.

Introdução

A cultura da soja possui grande importância para o cenário econômico, pois explora mais de 127 milhões de hectares. Na safra 2021/22, o Brasil deverá atingir 272,5 milhões de toneladas em uma área de 40,9 milhões de hectares, o que garantiu a posição de maior produtor mundial (CONAB, 2021). Diversos fatores bióticos e abióticos podem contribuir para a diminuição do potencial de rendimento de grãos. Algumas espécies de fungos como o *Phakopsora pachyrhizi,* responsável por provocar a ferrugem “asiática” e o *Phakopsora meibomiae,* responsável por ocasionar a ferrugem “americana”, causam doenças foliares na soja e reduzem a produtividade da cultura (YORINORI et al.,2004).

A lignina é uma macromolécula fenólica, tridimensional e amorfa que compõe a parede celular vegetal, sendo uma das moléculas mais abundantes encontradas na natureza. Esse polímero está associado à celulose e confere rigidez, impermeabilidade, resistência a ataque de patógenos e a danos mecânicos. O tecido

mais lignificado, além de ser mais resistente à penetração de fungos e enzimas que degradam a parede celular, restringe a passagem de água e nutrientes para o hospedeiro. Alguns aleloquímicos são responsáveis por induzir a lignificação das plantas e, ao entrar em contato com estes compostos, a planta os absorve e os metaboliza como se fossem intermediários da via de biossíntese de lignina (DOS SANTOS et al., 2008). Nesse sentido, esses compostos podem originar uma nova classe de agroquímicos biodegradáveis capazes de induzir a resistência foliar contra o ataque de patógenos.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido a campo, no Sítio Gonzaga em Mandaguaçu/PR. A semeadura foi realizada com espaçamento de 0,50 m e o delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com dois tratamentos e cinco repetições, onde cada parcela consistiu de uma área bruta de 15 m^2, separadas por 1 m de área de bordadura para evitar possíveis contaminações. Dessa forma, as plantas testemunhas não receberam tratamento e as plantas tratadas receberam a aplicação do indutor de lignificação em dose única na concentração de 19 mM no estádio de desenvolvimento V4. O tratamento químico foi aplicado através de pulverização foliar, por meio de pulverizador costal com um volume de calda equivalente a 200 L/ha. A colheita das folhas foi realizada retirando-se 10 plantas, em sequência, na área central das parcelas no estádio R5.5. Posteriormente, todas as folhas de cada planta foram destacadas. Após a colheita, as amostras passaram pelo processo de secagem e, em seguida, a biomassa foi triturada em um moinho do tipo “bola”. Depois de trituradas, 0,06 g de biomassa foram lavados por sucessivas agitações para a remoção de interferentes e o material resultante foi definido como a parede celular isenta de proteínas (PCIP). A biomassa contendo a PCIP (0,02g) foi adicionada em tubos de vidro com rosca contendo 0,5 mL do reagente brometo de acetila 25%, preparado em ácido acético resfriado. Os frascos foram aquecidos por 30 minutos em banho maria a 70°C e, após este procedimento, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e a reação foi interrompida com a adição de 0,9 mL de NaOH 2,0 M. Em sequência, adicionou-se 0,1 mL de hidroxilamina-HCl 7,5 M e 4 mL de ácido acético. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos e o sobrenadante foi utilizado para a realização das leituras 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 PCIP (Adaptado de MOREIRA-VILAR et al., 2014). Para os ensaios de sacarificação da biomassa lignocelulósica, foram retirados os açúcares solúveis da biomassa, conforme descrito por Gonzaga et al (2017). Após a não detecção de açúcares solúveis, 15 mg do material resultante (AIR - resíduo insolúvel em álcool), foi transferido para micro tubos e suspendidos em tampão acetato (50 mmol L^{-1} , pH 5,0), juntamente com 20 U mL^{-1} de celulase *Novozymes* para um volume total de reação de 1,0 mL. As amostras, junto com o controle (amostra sem enzima), foram incubadas a 50 °C por 24 horas, sendo realizadas as análises após 4 e 24 horas de sacarificação. Após a incubação, uma alíquota de 100 µL do sobrenadante foi analisada pelo método do DNS para a detecção de açúcares redutores liberados

durante o processo. Os açúcares foram quantificados por espectrofotometria a 540 nm e os valores foram expressos em mg g^{-1} de AIR.

Resultados e Discussão

As plantas que receberam o tratamento químico de indutor de lignificação apresentaram aumento significante de 9,96% de lignina total na folha (Figura 1). De acordo com a função da lignina, essa nova tecnologia pode aumentar a proteção das folhas contra a incidência de doenças, como a mancha-alvo, causada pelo fungo *Corynespora cassiicola*, e a ferrugem asiática causada por fungos como o *Phakopsora pachyrhizi*, que pode causar desfolha precoce e comprometer, posteriormente, o enchimento dos grãos. Além disso, o tratamento realizado ainda no estádio vegetativo garante que, ao entrarem no estádio de florescimento, época de maior incidência de doenças foliares, as plantas estejam mais lignificadas e, consequentemente, com maior resistência ao ataque de fungos e pragas. Com relação a sacarificação enzimática realizada após 4 h e 24h de incubação (Figura 2), não houveram diferenças significativas em relação à testemunha.

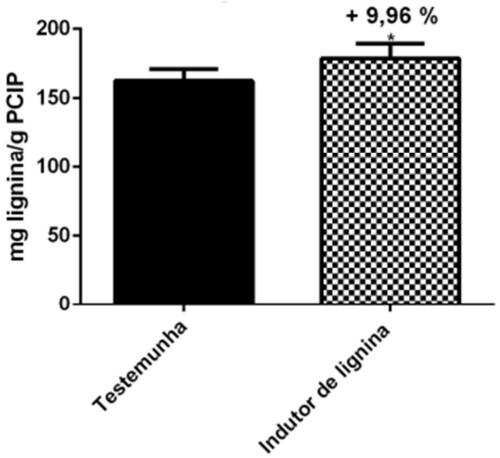

Figura 1 - Conteúdo de lignina total em folhas de soja testemunhas e tratadas com o indutor de lignificação. Barra marcada (*) é significante a 95% de confiança.

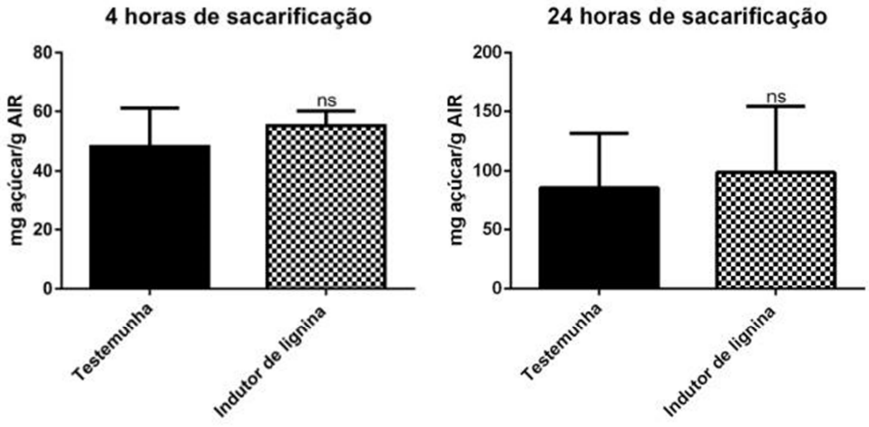

Figura 2 - Sacarificação enzimática da biomassa lignocelulósica após 4h e 24h. Barra marcada (ns) não é significante a 95% de confiança.

Conclusões

A aplicação do indutor de lignina na cultura da soja, no estádio de desenvolvimento V4, estimula a lignificação das folhas. Os resultados sugerem que essa tecnologia apresenta potencial para o desenvolvimento de uma nova classe de agroquímicos capazes de estimular a resistência vegetal. Pesquisas adicionais estão sendo desenvolvidas para avaliar o seu efeito diretamente sobre a prevenção e controle de doenças foliares.

Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária, Universidade Estadual de Maringá, Fortgreen/Origin Enterprises, Sítio Gonzaga.

Referências

DOS SANTOS W. D., FERRARESE M. L. L., NAKAMURA C. V., MOURÃO K. S. M., MANGOLIN C. A., FERRARESE-FILHO, O. Lignification Induced by Ferulic Acid. The Possible Mode of Action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1230–1241, 2008.

CONAB. **Produção de soja**, 2021.

YORINORI, J. T., JÚNIOR, J. N., LAZZAROTTO, J.J. Ferrugem II asiática da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle. **Embrapa soja**. Documentos 247, 2004

GONZAGA, D. E. R., FREITAS, L, D., JOIA, B. M., DOS SANTOS, W. D. Método Rápido e Econômico para a remoção de Açúcares Solúveis da Biomassa Lignocelulósica em Ensaios de Digestibilidade. In: Anais do simpósio de bioquímica e biotecnologia, Londrina, Galoá, 2017.

MOREIRA VILAR, F. C., SIQUEIRA SOARES, R. C., FINGER TEIXEIRA, A.,OLIVEIRA, D, M., FERRO. A. P., ROCHA. G. J., FERRARESE, M. L. L., DOS SANTOS, W. D., FERRARESE FILHO, O. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than klason and thioglycolic acid methods. **Public Library of Science** (Plos one), 9,10, 1-7, 2014.