ANÁLISE DO TEOR DE LIGNINA TOTAL ATRAVÉS DO MÉTODO DE ACETILBROMIDA EM ESPÉCIES DE PLANTAS NATIVAS DA CAATINGA

Gabriela Xavier Franco Feitosa [1], Eduarda Cavalcante Fernandes [2], Ana Karolina Alves do Nascimento [3], Francisco Matheus da Silva [4], Jullyana Cristina Magalhães Silva Moura Sobczak [5]

RESUMO

Estudos comprovam que a lignina está relacionada com a eficiência do transporte de água em plantas e também fornece rigidez às paredes celulares. O presente trabalho visa analisar o teor de ligninas em espécies nativas da caatinga, assim como o efeito do estresse hídrico sobre a biossíntese de lignina e suas relações com a resistência à seca nestas espécies e verificar se o teor de lignina é um bom preditor de resistência à seca em plantas nativas da caatinga. As espécies vegetais utilizadas para a realização da pesquisa serão coletadas na Fazenda Experimental Piroás da UNILAB no município de Redenção, Ceará, Brasil, onde a vegetação predominante é a Floresta Tropical Sazonalmente Seca, localmente chamada Caatinga. Serão estudadas 20 espécies vegetais da caatinga, sendo marcados em campo cinco indivíduos adultos de cada espécie, onde serão utilizados no monitoramento fenológico, medidas caulinares, medidas de potencial hídrico e utilizados para as coletas de amostras caulinares para análises de lignina. As amostras caulinares para cortes histológico e análises bioquímica serão coletadas na estação chuvosa e na estação seca e os experimentos serão conduzidos no Laboratório de Botânica da UNILAB.

Palavras-chave:

Estresse hídrico. Acetilbromida. Lignina. Caatinga.

[1] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: francoxgabriela30@gmail.com
[2] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: eduarda88179@gmail.com
[3] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: kahnascimento567@gmail.com
[4] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: mtsilva341@gmail.com
[5] UNILAB, ICEN, Docente, e-mail: sobczak@unilab.edu.br

INTRODUÇÃO

A lignina é uma molécula fenólica altamente complexa que só é menos abundanteem plantas do que a celulose. A estrutura da lignina ainda não é completamente conhecida, mas sua presença é fundamental para a rigidez das células e tecidos e na resistência a estresses bióticos a abióticos (Raes et al., 2003; Cabané et al.,2004; Taiz & Zeiger, 2009). Juntamente com a celulose e a hemicelulose, a lignina um dos principais constituintes da planta, sendo responsável pela sua resistência. É um biopolímero aromático amorfo, tridimensional, formado via polimerização oxidativa. Ele ocorre na parede celular de plantas superiores em diferentes composições, como, por exemplo: em madeiras duras, de 25 a 35%; madeiras macias, de 18 a 25%; e gramíneas, de 10 a 30% (Bononi, 1999; Lars, 2000).

O teor de lignina presente nos resíduos vegetais está relacionado com a velocidade e a intensidade de sua degradação. A mineralização dessa massa vegetal é dependente de fatores ambientais, como a temperatura, disponibilidade hídrica e de oxigênio, da composição química da palhada, especialmente da relação C/N, os teores de lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis (Herman et al., 1977; Ng KeeKwong et al., 1987; Siqueira & Franco, 1988). A lignina, além das funções inerentes à fisiologia das plantas, apresenta-se como uma barreira de defesa física e química, dificultando a penetração de microrganismos fitopatogênicos (Davis & Hahlbrock, 1987), consumo por insetos (Cooley, 1988), protegendo as plantas contra os fatores bióticos e abióticos, advindos do ambiente. Essas funções justificam-se por ser encontrada principalmente na parede celular e na lamela média de células xilemáticas e de outras partes de diferentes origens citológicas, como: folha, caule, casca e raízes (Firmino et al., 2006).

Objetivou-se com as atividades do projeto conhecer o local onde os estudos serão realizados, delimitar o território das plantas e alcançar no total de 20 espécies de plantas nativas sendo que deveria ocorrer uma seleção e marcação em campo de cinco indivíduos de cada espécie a serem utilizados nas análises, que essas análises seriam o acompanhamento fenológico de cada espécie, como também análise bioquímica e análise de potencial hídrico.

METODOLOGIA

As primeiras atividades realizadas do projeto foram marcar 20 espécies vegetais nativas da Caatinga na área da Fazenda Experimental Piroás da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB. Para cada espécie selecionada, foram marcadas em campo 7 repetições biológicas, sendo todas as 7 repetições para o acompanhamento fenológico; 2 são para as análises bioquímicas; 2 repetições biológicas para medição do potencial hídrico; 1 repetição biológica para cortes histológicos; e 2 amostras para o herbário localizado na UNILAB.

Cortes histológicos

Os cortes histológicos caulinares foram realizados em uma repetição biológica de cada espécie para a realização dos testes com os reagentes de Phloroglucinol e Maule. Foi medido e cortado 50 cm de caule a partir do ápice, sendo dividido a partir do topo em 3 recorrentes partes de 15 cm em 15 cm, a partir da utilização de uma régua. Pela divisão do caule obteve-se as seguintes partes: caule 1 (ápice caulinar), caule 2 (intermediário) e caule 3 (base caulinar), no qual foi retirado diâmetro central (medição entre 7 cm e 8 cm) dos 15 cm caulinares. Os cortes histológicos ocorreram da seguinte maneira: utilizando uma lâmina de barbear para cortar em finas camadas retiradas do centímetro central (ápice, intermediário e basal). Juntamente ao caule foi feito as separações de folhas velhas e novas para também serem realizados os cortes histológicos ocorridos das seguinte maneira: os cortes histológicos foram feitos na região mediana da folha, na metade do comprimento e da largura foliar na região da nervura central, feitos tanto com as folhas novas e velhas.

Phloroglucinol-HCl

Foi preparado 50 mL de floroglucinol 2% em etanol 95%. Acrescentamos um pouco antes do uso 25 mL de HCl concentrado. Obtivemos estocado no escuro. O teste quando feito corou de violeta avermelhado. O teste é bastante sensível ao coniferaldeído da lignina. Montamos nas lâminas de microscopia em glicerina, cobrimos com a lamínula e visualizamos diretamente no microscópio de luz e na lupa. Fotografamos com uma câmera digital para microscopia. Realizamos determinadas anotações da objetiva utilizada em cada foto.

Reação de Maule
Colocamos os cortes histológicos em um vidro de relógio contendo permanganato de potássio a 1%, e aguardamos 5', na temperatura ambiente. Após isso descartamos essa solução. Lavamos os cortes em água destilada 2 vezes. Colocamos os cortes em um vidro de relógio contendo ácido clorídrico a 3% até a cor mudar do preta ou marrom escuro para o marrom claro. Após isso descartamos essa solução. Colocamos os cortes em um vidro de relógio contendo hidróxido de amônio concentrado. Observamos a coloração vermelho púrpura para hardwoods e alguns taninos, e uma coloração marrom para softwoods. Montamos nas lâminas de microscopia, cobrirmos com lamínula e visualizamos imediatamente em microscópio de luz e na lupa. Fotografamos com câmera digital para microscopia. Anotamos a objetiva utilizada em cada foto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento foi possível realizar os cortes nas seguintes espécies: Angico, Camará, Camunzé, Capim (Elefante,Braquiária, Mombaça) Cassaco, Cipó de Escada, Cipó de Leite, Coco Catolé, Inharé, Jiquiri, Juazeiro, Jucá, Mandacarú, Mariana, Melosa, Mofumbo, Mororó e Pacoté. Sendo aplicado as colorações dos reagentes Maule e Phloroglucinol no qual determina a presença de lignina em cada planta.

CONCLUSÕES

A etapa de coloração dos cortes histológicos mostra-se importante n o estudo de características anatômicas e histológicas dos vegetais. A etapa seguinte será a de obtenção do teor de lignina nas espécies vegetais supracitadas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao programa PIBITI, financiado pelo CNPq, órgão financiador da bolsa durante o desenvolvimento do projeto de inovação concedida à bolsista, bem como os moradores locais da Comunidade Piroás, pelas informações acerca das espécies botânicas de interesse.

REFERÊNCIAS

CABANÉ, M. et al. Condensed lignins are synthesized in poplar leaves exposed to ozone. Plant Physiol., v. 134, n. 2, p. 586-594, 2004.

COOLEY, P. D. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. Oecologia, v. 74, p. 531-536, 1988.

CHARLES et al., 2008. Physiological basis of UV-C induced resistance to Botrytis cinerea in tomato fruit: IV. Biochemical modification of structural barriers. Postharvest Biology and Technology 47 (2008) 41-53.

CORREIA, M. E. F.; ANDRADE, A. G. Formação de serrapilheira e ciclagem de

nutrientes. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. Eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Gênesis, 1999. p. 197-225.

DAVIS, K. R.; HAHLBROCK, K. Induction of defense responses in cultured parsley cells by plant cell wall fragments. Plant Physiol. Biochem., n. 84, n. 4, p. 1286-90, 1987.

FIRMINO, A. et al. Alterações ligno-anatômicas em Solanum gilo Raddi por aplicação de cálcio e boro como estratégia de defesa. Ci. Agrotec., v. 30, n. 3, p. 394-401, 2006.

HERMAN, W. A.; McGILL, W. B.; DORMAAR, J. F. Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. Canadian J. Soil Sci., v. 57, p. 205-215, 1977.

LARS, H. et al. Do the extracellular enzymes cellobiose dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation? FEBS, v. 477, n. 1, p. 79-83, 2000.

MOREIRA-VILAR et al., 2014. The Acetyl Bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues tha klason and thioglicolic acid methods. Plos One, 9 (10).

NG KEE KWONG, K. F. et al. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. Plant Soil, v. 102, n. 1, p. 79-83, 1987.

RAES, J. et al. Genome-wide characterization of the lignifications toolbox in Arabidopsis. Plant Physiol., v. 133, n. 3, p. 1051-1071, 2003.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasilia: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988. 236 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719 p.