

---

EFEITO DO OXIGÊNIO SOBRE A FORMAÇÃO DA  
LIGNINA DE *IPOMOEA BATATAS* EM AMBIENTE  
CONTROLADO

---

BRUNO GONZAGA AGAPITO DA VEIGA  
Bolsista do CNPq, IF - UFRRJ  
HEBER DOS SANTOS ABREU  
Dr., Prof Adjunto, DPF - IF - UFRRJ  
NÍDIA MARJEROWICZ  
Dr<sup>a</sup>, Prof<sup>a</sup> Adjunto, DCF - IB - UFRRJ  
ANA CRISTINA PORTUGAL P. DE CARVALHO  
Mestre, Pesquisadora da PESAGRO-RIO  
VALDEREDO COELHO PINTO  
Laboratorista da PESAGRO-RIO

R E S U M O

**E**sta pesquisa trata da lignificação em plantas cultivadas em condições de atmosfera controlada de oxigênio. A espécie utilizada foi a *Ipomoea batatas* (L.) Lam – batata doce, desenvolvida por micropropagação. A lignina foi extraída pelo método de Klason, sendo realizados posteriormente espectros infravermelhos, que revelaram um perfil estrutural diferente na lignina de plantas cultivadas em condições de atmosfera controlada de oxigênio, quando comparadas com as testemunhas. Plantas sob tratamento (0,1 kg/cm<sup>2</sup> - O<sub>2</sub>) apresentaram aproximadamente 14,4 mg / 596,8 mg de amostra de tecido seco, enquanto as testemunhas apresentaram 5,3 mg. A quantidade de extrativos (extração em acetona) das plantas crescidas em atmosfera de oxigênio (0,1kg/cm<sup>2</sup>-O<sub>2</sub>)foi aproximadamente de 0,9495 mg do tecido da planta seca, enquanto as testemunhas apresentaram 0,9317 mg / 496,3 mg de amostras de tecido seco.

**Palavras-chaves:** Lignina, oxigênio, cultura de tecidos.

A B S T R A C T

OXYGEN EFFECT ON LIGNINS ACTYVITY IN  
CONTROLLED ENVIRONMENT ON *IPOMOEA BATATAS*  
This research deals with lignin formation in plants cultivated under altered oxygen atmosphere conditions. This experiment was carried out with *Ipomoea batatas* (L.) Lam in appropriated culture medium. Klason lignin was prepared from stem and leaf of plants. Infrared spectra showed that plants grown in altered oxygen condition produced lignin with different structural profile compared with blank samples. Estimated lignin content from plants grown under oxygen (0.1 kg/cm<sup>2</sup> - O<sub>2</sub>) was approximately 14.4mg/596.8 mg of dried plants tissues, while standard samples showed 5.3mg. Extractive content (acetone extraction) from plants grown

under altered oxygen condition ( $0.1 \text{ kg/cm}^2 - \text{O}_2$ ) was approximately  $0.9495 \text{ mg/596.3 mg}$  of dried plants tissue, while standard samples showed  $0.9317 \text{ mg}$ .

**Key words:** Lignin, oxygen, tissue culture.

## INTRODUÇÃO

Ligninas são substâncias da classe das macromoléculas fenilpropanóidicas de unidade constitucional básica,  $\text{C}_3\text{C}_6$ , distribuídas amplamente entre os vegetais superiores. Esse material é considerado, depois da celulose, o polímero natural renovável mais abundante da face da Terra detendo cerca de 30% dos carbonos da biosfera (FENGEL & WEGENER, 1984).

A lignina atualmente emerge como constituinte químico relevante no sistema de defesa das plantas, atuando como agente contra doenças provocadas por micro-organismos patogênicos (MASSAL *et al*, 1987; DAVIS & HAHNBROCK, 1987) e principalmente contra herbívoros (COLEY, 1988), problemas relevantes no que tange a grandes prejuízos em extensas culturas florestais e agrícolas.

Objetivando-se o estudo de parâmetros ideais de oxigenação para o crescimento saudável dos vegetais, avaliou-se o mecanismo de atuação de  $\text{O}_2$  à taxas acima do normal, traçando um perfil experimental para a produção de maiores níveis lignínicos nas folhas e no caule, como premissa para o desenvolvimento de possíveis técnicas de defesa natural estimuladas.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A polimerização via oxidação desidrogenativa dos precursores da lignina ocorre na parede celular iniciada através da formação dos radicais fenóxicos correspondentes (CARPITA & GIBEAUT, 1993).

A presença de enzimas como lacase e/ou peroxidase na parede celular sugere ação

oxidativa sobre os precursores da lignina. Em níveis baixos de teor de oxigênio (experimento "in vitro") plantas desenvolvem baixo teor de ligninas (ABREU, 1994). Recentes estudos propõem a ação do oxigênio atmosférico existente há milhões de anos atrás sobre o perfil lignínico de vários taxons botânicos. Neste contexto o índice de lenhosidade observada em tais taxons coaduna com a hipótese da influência da variação do teor de oxigênio atmosférico sobre a formação de diferenciados níveis de lenhosidade nos taxons botânicos estudados (BOSISIO, 1995) (fig. 1).

De outra forma, a degradação da lignina também ocorre na maioria dos casos via oxidação seja através de fatores biológicos, químicos e físicos. A ação antioxidante da lignina assume um papel de importância sobre este aspecto. A presença de níveis elevados de lignina nas plantas, sugere maior resistência à ação oxidativa de fatores bióticos (organismos patógenos) e abióticos (luz).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido com uma olerícola de ciclo rápido, *Ipomoea batatas* (L.) Lam – a batata doce, no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, da Área de Olericultura da Estação Experimental de Itaguaí (EEI), na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO - RIO).

Os explantes iniciais usados foram segmentos nodais, contendo três gemas axilares, obtidos a partir de plântulas da cultivar "Rosinha do Verdão", mantidos no laboratório da EEI, através de micropropagação.

Os segmentos nodais foram excisados com

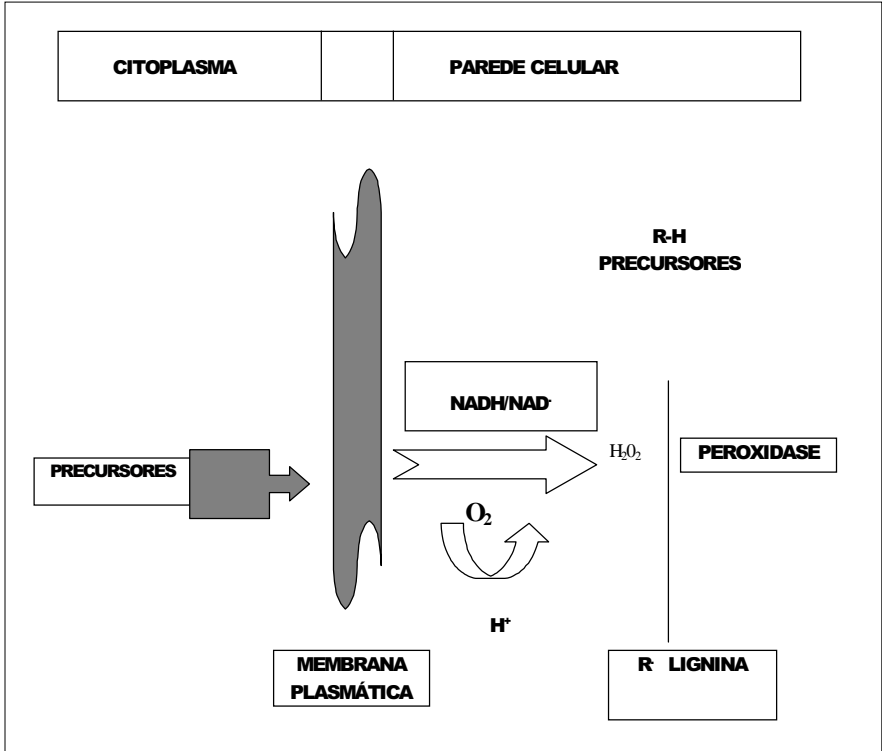


Figura 1. Atividade Oxidativa e a Formação da Lignina na Parede Celular

auxílio de bisturi, pinças e estiletos esterilizados, bem como suas folhas eliminadas, em capela de fluxo laminar.

Os explantes extraídos assepticamente foram colocados em dez tubos de ensaio de 150 mm X 20 mm, com olivas laterais, contendo 30 ml do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 0,1 mg/l de benzilaminopurina (BAP), 0,2 mg/l de ácido indolacético (AIA), 4,0 mg/l de adenina, 30 g/l de sacarose e 7 g/l de agar (ARAÚJO *et al*, 1992). O pH foi ajustado em 5,7 e o meio de cultura esterilizado a 121 ° C por 15 minutos.

Os tubos, contendo um explante cada, foram fechados com rolas de borracha e conectados à um sistema de distribuição de  $O_2$  com uma válvula reguladora da passagem do oxigênio, ambos tubos de vidros especiais

desenvolvidos pelo Departamento de Química/ICE/UFRRJ.

Em seguida o sistema foi vedado com parafina e levado à câmara de crescimento, onde foi submetido a uma luminosidade de 3300 Lux, umidade relativa do ar de 80 a 90%, temperatura de 25±3° C, fotoperíodo de 16 horas e pressão de 0,1 kg/cm<sup>2</sup> de  $O_2$  puro.

As testemunhas constituíram-se de explantes com o mesmo tratamento e submetidas às mesmas condições de cultivo (meio de cultura, luminosidade de 3300 Lux, umidade relativa do ar de 80 a 90%, temperatura de 25±3° C, e fotoperíodo de 16 horas), entretanto, em atmosfera normal, em tubos de vidro vedados com plástico transparente rolopack, o que permitiu trocas gasosas com o ambiente da câmara de crescimento.

Após dois meses de acompanhamento semanal, os tubos foram abertos e as plantas foram secadas em estufa à 60 °C e picadas em moinho de facas (tipo Wiley).

Atingido o peso constante, foi realizada a extração quantitativa da lignina através do método “Lignina de Klason” (ABREU & ALBUQUERQUE, 1996). Posteriormente, a lignina extraída foi solubilizada em KBr, e analisada qualitativamente através dos espectros no Infravermelho tanto para o material sob tratamento quanto para a testemunha.

O material extraído em acetona foi também pesado.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente, as plantas-testemunha de batata doce apresentavam visualmente maior vigor que as plantas sobre atmosfera controlada de O<sub>2</sub>. Após trinta dias, observou-se que a altura das plantas tratadas com O<sub>2</sub> era aproximadamente três vezes maior do que a das testemunhas.

Ao mesmo tempo, as plantas submetidas ao tratamento com O<sub>2</sub> apresentaram desenvolvimento foliar inferior ao observado nas plantas testemunhas. Estas tendências mantiveram-se até o final do experimento.

A resposta tardia quanto ao tratamento pode, supostamente, ser atribuída aos eventuais vazamentos no início do experimento, que obrigaram a remontagem do sistema.

Devido a contaminação de quatro explantes sob controle, os testes de extração quantitativa de lignina foram realizados com seis explantes sob atmosfera com 0,1 kg/cm<sup>2</sup> de O<sub>2</sub> e seis testemunhas.

Na análise da lignina de Klason, o material proveniente das plantas tratadas com O<sub>2</sub> apresentava-se visualmente mais fibroso do que as testemunhas, o que pode ser comprovado pela Tabela 1.

Tabela 1. Resultados da análise quantitativa de lignina na parte aérea de seis plântulas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam, sob atmosfera com 0,1 kg/cm<sup>2</sup> de O<sub>2</sub> e seis em condições de atmosfera normal após dois meses de desenvolvimento em câmara de crescimento. EEI/PESAGRO – RIO. 1998.

Tratamento	Peso seco em mg
Tratamento com	
0,1 kg/cm <sup>2</sup> de O <sub>2</sub>	14,4
Testemunha	5,3

O peso do material extraído em acetona encontra-se na Tabela 2, apresentando uma tendência para maior quantidade de extrativos no material tratado com níveis elevados de oxigênio.

Tabela 2. Peso do material extraído em acetona da parte aérea de seis plântulas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam, sob atmosfera com 0,1 kg/cm<sup>2</sup> de O<sub>2</sub> e seis em condições de atmosfera normal após dois meses de desenvolvimento em câmara de crescimento. EEI/PESAGRO – RIO. 1998.

Tratamento	Peso seco em g
Tratamento com	
0,1 kg/cm <sup>2</sup> de O <sub>2</sub>	0,9495
Testemunha	0,9317

A análise espectral foi baseada nos dados obtidos do espectro no infravermelho das ligninas isoladas, entretanto ela foi prejudicada face a complexidade de mudança estrutural ocorrida durante o processo de isolamento da lignina de Klason. Mesmo assim os espectros das ligninas das plantas testemunhas e dos

exemplares expostos a presença de oxigênio em níveis elevados mostraram significativas diferenças.

A avaliação precisa desses espectros necessita de maior aprofundamento, principalmente no que tange as alterações na

estrutura química das ligninas em meio ácido. Isto significa que nas condições experimentais utilizadas, o processo de formação das ligninas em plantas tratadas foi influenciado pela presença do oxigênio em nível mais alto do que nas condições normais (Figuras 2 e 3).

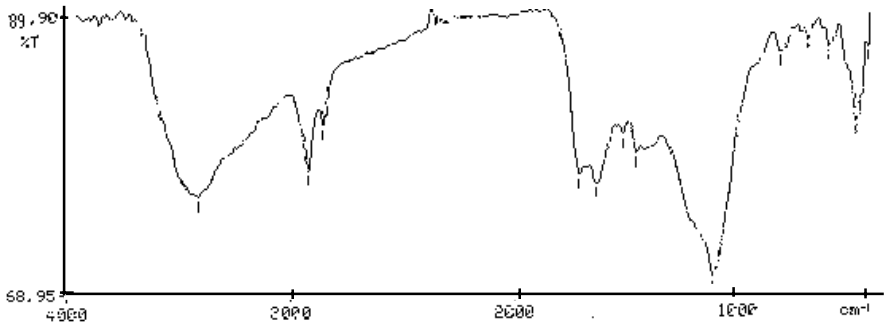


Figura 2 - Espectro no Infravermelho da lignina da parte aérea de seis plântulas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam, sob atmosfera com 0,1 kg/cm<sup>2</sup> de O<sub>2</sub>, após dois meses de desenvolvimento em câmara de crescimento. UFRRJ,1998.

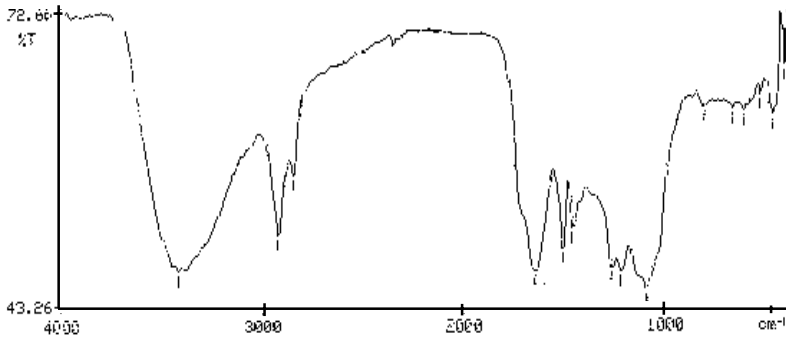


Figura 3. Espectro no Infravermelho da lignina da parte aérea de seis plântulas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam, sob condições de atmosfera normal, após dois meses de desenvolvimento em câmara de crescimento. UFRRJ, 1998.

Apesar dos dados experimentais não representarem estatisticamente o modelo ideal, o trabalho permitiu tecer algumas considerações sobre a utilização do oxigênio no estudo do crescimento de vegetais. Os dados permitiram também atribuir o efeito antioxidante sobre os extrativos e especialmente as ligninas.

## CONCLUSÕES

Os dados experimentais indicaram que a ação do oxigênio atmosférico em níveis elevados foram toleráveis. Foi observado também que nesta condição o oxigênio conduziu modificação química e morfológica nas plantas

utilizadas. O perfil espectral das ligninas sugeriu a possibilidade de alterar o nível de lignificação em plantas cultivadas.

#### L I T E R A T U R A      C I T A D A

- ABREU, H. S. *Biossíntese da Lignificação*. UFRRJ, Seropédica, 1994.
- ABREU, H. S. & ALBUQUERQUE, C. E. C. *Receituário Químico*. UFRRJ. Itaguaí, 1996.
- ARAÚJO, L.C., MARTINS, V.V.A., CARVALHO, A.C.P.P. *Avaliação de meios de cultura na regeneração de plântulas de cultivares de Batata-doce, através da cultura de meristemas "in vitro"*. Hort. Bras. v.10, n. 1, p. 48, 1992 (resumos).
- BOSÍSIO, B. M. *Tendência evolutiva vegetal via quantificação lignínica*. Dissertação. Fiocruz, RJ., p.200,1995.
- CARPITA, N. C. & GIBEAUT, D. M. *Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the wall during growth*. The Plant Journal, v.3, n.1, p.1-30., 1993.
- DAVIS, K. R. & HAHNBROCK, K. *Induction of defense responses in cultured parsley cells by plant cell wall fragments*. Plant Physiol. Biochem, n.85, p.1286-90, 1987.
- FENGEL, D. & WEGENER, G. *Wood, Chemistry, Ultrastructure, Reaction*. (ED) Walter de Gruyter. Berlin, p.67,1984.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture*. Physiol. plant., n.15, p.473-97, 1962.