

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO NA EXPRESSÃO GÊNICA DE CAFEOL-COA 3-O METILTRANSFERASE EM *Coffea arabica*

Matheus Montozo Correa Silva<sup>1</sup>, Conceição de Maria Batista de Oliveira<sup>1</sup>,  
Fernanda Ianuxauskas Dechechi<sup>1</sup>, Guilherme Ferreira Sirtoli<sup>1</sup>, Suzanny Oliveira  
Mendes<sup>1</sup>, Franciele Barros de Souza Sobreira<sup>2</sup>, Taís Cristina Bastos Soares<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto  
Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, theusmontozo@gmail.com,  
conceicaoooliveira@gmail.com, fernandadechechi@hotmail.com, guilhermeferreirasirtoli@gmail.com,  
suzannymendes@gmail.com.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto  
Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, francielesouza@gmail.com,  
tcbsoares@gmail.com

### Resumo

A produção de café é constantemente ameaçada por plantas daninhas, e o glifosato é o principal herbicida utilizado no controle químico, reduzindo custos com mão de obra e o custo de produção. A eficiência de aplicação visa reduzir a intoxicação das plantas de café, entretanto, fatores como a época de aplicação e o tipo de ponta de pulverização podem interferir na deriva. A enzima Caffeoyl-CoA 3-O Metiltransferase (CCoAOMT), atua na biossíntese dos monolignóis, nas folhas, participa da produção de lignina, conferindo resistência contra patógenos e pragas. Neste estudo, objetivou-se analisar a expressão do gene CCoAOMT em folhas de café arábica, em relação a ponta e época de aplicação do glifosato. Os resultados não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, independentemente do tipo de ponta de pulverização ou da época de aplicação. Os tratamentos utilizando a ponta de pulverização tipo Leque apresentaram aumento na expressão do gene, em relação ao tratamento controle. A expressão gênica de CCoAOMT em *Coffea arabica*, não foi influenciada pela aplicação de glifosato.

**Palavras-chave:** Cafeeiro. CCoAOMT. RT-qPCR. Deriva. Herbicida.

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas – Biologia Molecular.

### Introdução

Há mais de 150 anos o Brasil é o maior produtor, maior exportador e o segundo maior consumidor de café do mundo (ABIC, 2022). Dos 2,26 milhões de hectares plantados no país, o Espírito Santo é responsável por mais de 30% da produção. Deste total, mais de 1,5 milhões de hectares é destinado ao café arábica (*Coffea arabica*), liderando a geração de emprego e renda no estado (CONAB, 2023).

Plantas daninhas são uma das principais causas da queda do potencial produtivo das lavouras e, para diminuir a interferência destas na produção de café, o manejo com o controle químico tem favorecido a produtividade e redução de custo de produção, uma vez que seu uso reduz mão de obra em capinas periódicas, proporciona menor incidência de pragas e melhor conservação do solo (MESQUITA *et al.*, 2016). O glifosato é um herbicida muito utilizado em lavouras de café, sistêmico, sem seletividade e pós-emergente, controla efetivamente essas plantas através da inibição da enzima EPSPs (5-enolpiruvato-chiquimato-3-fosfato sintase) (YAMADA e CASTRO, 2007). Uma das moléculas mais eficientes para o controle seletivo de plantas daninhas, com ação em diversos estádios de desenvolvimento das mesmas (MANEIRA, 2017).

O operador deve regular o equipamento e aplicar o herbicida adequadamente para um controle efetivo, tendo o bico composto pelo conjunto (corpo, peneira, ponta e capa), cuja ponta, é responsável pela formação das gotas. As pontas de jato cônico e de jato plano, ou cone e leque, respectivamente, são peças responsáveis pela acurácia e eficiência na aplicação (EMBRAPA, 2005).

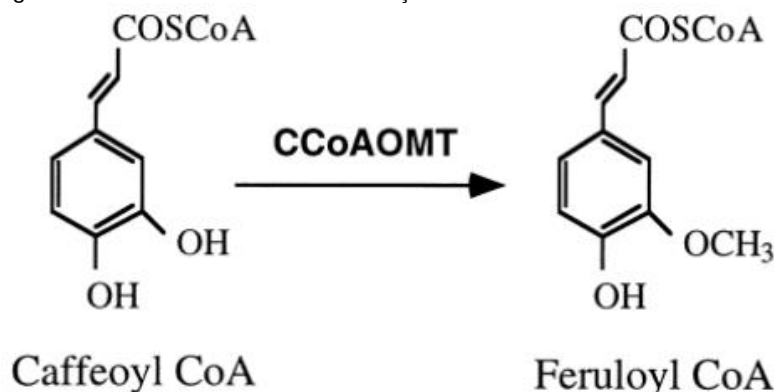
# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A época de maior infestação de plantas daninhas, é no período de maior pluviosidade quando ocorre maior extração de nutrientes, essas plantas causam maiores perdas na produção de café além de coincidir com o florescimento e frutificação (ANDEF, 2004). Atentar-se ao período crítico de competição e evitar impactos negativos na produção é importante para implementar estratégias de controle efetivas.

Ao longo do desenvolvimento do cafeeiro, são ativados genes, como aqueles relacionados com a síntese de cafeína, ácidos clorogênicos e monolignóis, sendo estes últimos produtos do metabolismo dos fenilpropanóides (MONTEIRO *et al.*, 2004). Cafeoil-CoA 3-O Metiltransferase (CCoAOMT) tem sido estudada na resposta de defesa das plantas e participa ativamente da via da lignificação, desempenhando papel essencial na biossíntese da lignina, a lignificação é um processo bioquímico que abrange a biossíntese dos monolignóis (WANG; BALINT-KURTI, 2016.).

Modificações na expressão dessas enzimas podem acarretar efeitos indesejáveis como menor resistência ao ataque de pragas e doenças, enquanto que o aumento da expressão do gene CCoAOMT reproduz maior lignificação (ZHANG *et al.*, 2020). A enzima CCoAOMT catalisa a primeira reação de transferência de metil no metabolismo fenilpropanóide e sintetiza feruloil-CoA a partir de cafeoil-CoA (Figura 1), a regulação negativa de CCoAOMT resulta na diminuição nas unidades da lignina (YE *et al.*, 2001).

Figura 1 - CCoAOMT catalisa a metilação de Cafeoil-CoA em Feruloil-CoA.



Fonte: YE *et al.*, 2001.

Objetivou-se com o presente trabalho, analisar a expressão gênica quantificada pela técnica de RT-qPCR, para investigar a expressão de CCoAOMT, envolvido na resposta de defesa das plantas, em folhas de café arábica submetido ao manejo químico de plantas daninhas com aplicações de glifosato em diferentes épocas e utilizando diferentes tipos de ponta de pulverização.

## Metodologia

O experimento foi conduzido em parceria com o INCAPER, na Fazenda Experimental em Venda Nova do Imigrante - ES, a partir de uma lavoura de café arábica (*Coffea arabica*, variedade Catuaí 144) bem estabelecida e em plena produção. Instalado em esquema fatorial 3 x 2 (3 épocas de aplicação do glifosato; 2 tipos de ponta de pulverizador), mais a parcela controle, em delineamento de blocos ao acaso, com três repetições. A Tabela 1 apresenta detalhadamente os diferentes tratamentos utilizados no experimento.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos.

| Tratamento | Época de aplicação do glifosato                                         | Tipo de ponta de pulverizador |
|------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| T1         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena dezembro.                           | Cone                          |
| T2         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena fevereiro.                          | Cone                          |
| T3         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena dezembro;<br>1ª quinzena fevereiro. | Cone                          |
| T4         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena dezembro.                           | Leque                         |
| T5         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena fevereiro.                          | Leque                         |
| T6         | 1ª quinzena outubro;<br>1ª quinzena dezembro;<br>1ª quinzena fevereiro. | Leque                         |
| Testemunha | Sem aplicação (roçado).                                                 | Sem aplicação (roçado).       |

Fonte: os autores.

Folhas jovens totalmente expandidas foram coletadas a partir de cada representante dos tratamentos, em seguida foram congeladas em nitrogênio líquido, transportadas em gelo seco e armazenadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFES - Campus Alegre, em freezer a -80 °C. O RNA total foi isolado utilizando o Kit Purelink (Thermo Scientific) de acordo com as instruções do fabricante. A concentração do RNA foi determinada utilizando o NanoDrop 2000® (Thermo Scientific) e a qualidade foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Os RNAs foram tratados com a enzima DNase (Promega ou Invitrogen). Após o tratamento com DNase, o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado utilizando o Kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega), seguindo as recomendações dos fabricantes.

As análises de expressão gênica realizadas seguem as orientações do “The Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (MIQE)”. Utilizando três replicatas biológicas e três replicatas técnicas (BUSTIN *et al.*, 2009). As reações quantitativas em cadeia da polimerase (qPCR) foram conduzidas utilizando o Kit GoTaq qPCR Master Mix®. As amplificações foram realizadas no equipamento LightCycler 96® Roche, com os procedimentos: pré-incubação (95 °C por 120 segundos); amplificação (95 °C por 15 segundos; 60 °C por 60 segundos (40 ciclos)); e melting (95 °C por 10 segundos; 65 °C por 60 segundos; 97 °C por 1 segundo).

O valor de expressão do gene CCoAOMT relativa foi obtido, através da normalização do gene alvo, com os genes de referência/endógenos. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA). O gráfico foi realizado com auxílio do software R (R Core Team 2017) e RStudio.

## Resultados

Os resultados da análise de variância, não apresentaram diferença significativa na expressão do gene CCoAOMT entre os tratamentos, independentemente do tipo de ponta de pulverização ou da época de aplicação de glifosato, em comparação ao tratamento controle (roçado), conforme apresenta a Tabela 2.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Tabela 2 - Quadro de Análise de Variância.

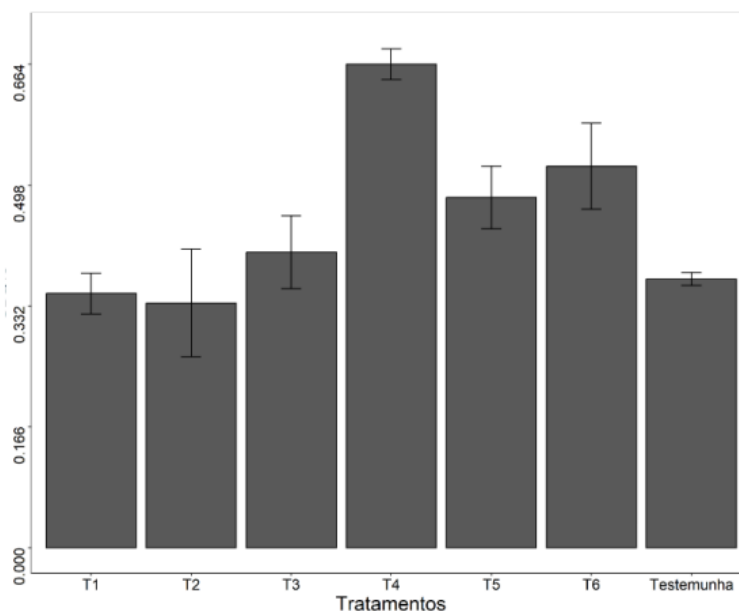
| FV              | GL       | QM      | P-valor              |
|-----------------|----------|---------|----------------------|
| Épocas          | 2        | 0,01466 | 100,00 <sup>ns</sup> |
| Pontas          | 1        | 0,16723 | 8,86 <sup>ns</sup>   |
| Épocas x Pontas | 2        | 0,01706 | 36,84 <sup>ns</sup>  |
| Resíduo         | 12       | 0,01570 | –                    |
| Média           | 0,46005  | –       | –                    |
| CV (%)          | 27,23576 | –       | –                    |

FV = (Fator de variância); GL = (Grau de liberdade); QM = (Quadrado médio); P-valor = (Probabilidade); ns = (Não significativo).

Fonte: os autores.

Ao analisar o nível de expressão gênica em cada tratamento (Figura 2), as variações evidenciaram que a expressão foi maior no T4 (0,664) e menor no T2 (0,336), comparado à testemunha (0,369).

Figura 2 - Expressão gênica de CCoAOMT em café arábica sob aplicação de glifosato nos diferentes tratamentos.



**T1** = (2 aplicações, ponta Cone: 1a quinzena outubro; 1a quinzena dezembro); **T2** = (2 aplicações, ponta Cone: 1a quinzena outubro; 1a quinzena fevereiro); **T3** = (3 aplicações, ponta Cone: 1a quinzena outubro; 1a quinzena dezembro; 1a quinzena fevereiro); **T4** = (2 aplicações, ponta Leque: 1a quinzena outubro; 1a quinzena dezembro); **T5** = (2 aplicações, ponta Leque: 1a quinzena outubro; 1a quinzena fevereiro); **T6** = (3 aplicações, ponta Leque: 1a quinzena outubro; 1a quinzena dezembro; 1a quinzena fevereiro); **Testemunha** = (Sem aplicação, roçado). Barras = Erro padrão.

Fonte: os autores.

## Discussão

Na análise de expressão gênica de CCoAOMT, normalizada por UBQ10, foi possível observar o nível de expressão deste gene em relação aos tratamentos, com destaque para T4 (2 aplicações: ponta de pulverização tipo Leque, em outubro e dezembro), com maior nível de expressão do gene (0,664). Lepelley, *et al.*, (2007), observaram que, o perfil de expressão de CCoAOMT e o nível de transcrição deste gene durante o desenvolvimento da folha do cafeeiro, tendem a aumentar com o consequente fortalecimento das paredes celulares à medida que a folha amadurece.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Foi possível analisar no presente estudo, um aumento na expressão de CCoAOMT nos tratamentos T3, T4, T5 e T6. O aumento na expressão de CCoAOMT reflete em maior lignificação e cumprindo suas funções como a defesa das plantas, fornecendo suporte estrutural, rigidez física, resistência mecânica e barreira de defesa contra patógenos e insetos, sem comprometer a produção do cafeeiro. Esse aumento pode ajudar na adaptação das plantas a ambientes externos adversos e prejudiciais (MARCHESINI, 2013; ZHANG *et al.*, 2020).

O aumento na expressão gênica, foi observado na maioria dos tratamentos, sendo T4 e T6 os que apresentaram maior expressão de CCoAOMT. Entretanto, T1 e T2 não apresentaram aumento na expressão de CCoAOMT comparado ao tratamento controle. A biossíntese da lignina vegetal é regulada pelo gene CCoAOMT, quando tem sua atividade reduzida, o impacto negativo pode causar florescimento tardio, hastes delgadas e arqueadas (ZHANG *et al.*, 2020), além de perder a capacidade de suporte mecânico e defesa contra patógenos (WANG; BALINT-KURTI, 2016.)

A ponta tipo Leque favoreceu a expressão do gene, possivelmente por ter maior eficiência na redução de deriva, em relação a ponta tipo cone. De acordo com a EMBRAPA (2005) a ponta tipo Leque é indicada para aplicação de herbicida pós emergente sistêmico e eficiente na redução da deriva. As pontas são componentes essenciais dos pulverizadores e podem garantir a eficiência, bem como a eficácia do produto fitossanitário, quando selecionada corretamente, permite a eficiência de diversas atividades com tamanho de gotas e vazão adequada para cada situação específica (SASAKI *et al.*, 2016; UCHÔA, 2019).

O controle das plantas daninhas é feito principalmente com herbicidas de pós-emergência, concentrando-se na época do início da estação chuvosa e quente. Nesse contexto, é importante destacar que o controle é frequentemente feito nessa época e possivelmente não teve deriva na aplicação de glifosato, não demonstrando redução significativa na expressão de CCoAOMT em plantas de café. A falta de interferência na expressão sugere que a lignificação e a resistência do cafeeiro não foram afetadas, reforçando a possibilidade de utilização do glifosato como opção eficiente de manejo, sem comprometer a defesa das plantas de café (VIANA *et al.*, 2010).

A utilização do glifosato, além de aumentar o potencial produtivo, controla as plantas daninhas de forma eficiente mesmo na época chuvosa, selecionando corretamente a ponta de aplicação, ampliando a qualidade e a efetividade, saudável desenvolvimento e fitossanidade do cafeeiro (SILVA; SILVA, 2007; VIANA *et al.*, 2010; RONCHI *et al.*, 2017). Uma vez que a expressão gênica de CCoAOMT não foi significativamente afetada pelo glifosato nos tratamentos utilizados, esses resultados estão em concordância com estudos anteriores que respaldam a utilização do herbicida no manejo de plantas daninhas.

O conhecimento acerca da regulação da biossíntese de fenilpropanóides possibilita estudos visando controle genético de doenças e a resistência do cafeeiro (MAGNÓLIA *et al.*, 2007). No entanto, é importante estudos futuros considerando outros parâmetros, para compreender melhor a resposta das plantas de café ao glifosato, incluindo a expressão de outros genes além do CCoAOMT relacionados à defesa das plantas.

## Conclusão

A expressão do gene CCoAOMT não foi afetada significativamente pela presença do glifosato em folhas de cafeeiro arábica, nas três épocas de aplicação e com a utilização de dois modelos de pontas de pulverização.

## Referências

- ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. Indicadores da Indústria de Café. 2022. Disponível em: <<https://estatisticas.abic.com.br/>> Acesso em: abril 2023.
- ANDEF. Associação Nacional de Defesa Vegetal. Manual de tecnologia de aplicação. Campinas. São Paulo: Linea Creativa, 2004.
- BUSTIN, S.; BENES, V.; GARSON, J. *et al.* The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments, Clinical Chemistry, Volume 55, Issue 4, 1, Pages 611–622 (2009).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira Café Safra 2023, primeiro levantamento 2023. 2023. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: março 2023.
- EMBRAPA. Catálogo de pontas de pulverização. Hypro. 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355291/25169473/CatalogoBicosPulverizacaoHypro.pdf/cbfada0b-e7c0-91f4-dbaa-fa827b998d52?version=1.0>>. Acesso em: maio 2023.
- LEPELLEY, M. *et al.* Chlorogenic acid synthesis in coffee: An analysis of CGA content and real-time RT-PCR expression of HCT, HQT, C3H1, and CCoAOMT1 genes during grain development in *Coffea canephora*. *Plant Science*, v. 172, p. 978 – 996, 2007.
- MAGNÓLIA, A. *et al.* Exploração do banco de dados CafEST em busca de prováveis genes de *Coffea arabica* envolvidos na biossíntese de fenilpropanóides. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, EMBRAPA Café. 2007.
- MANEIRA, R. Utilização de Manganês e Glifosato na soja RR. Informativo Técnico Nortox. Edição 02, 2017.
- MARCHESINI, A. B. Estudo Sistemático da deposição de lignina em genótipos contrastantes de cana-de-açúcar. Tese. UNICAMP- Campinas, SP: 2013.
- MESQUITA, C. M. de; *et al.* Manual do café: implantação de cafezais *Coffea arábica* L. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016. 50 p. il.
- MONTEIRO, M. B. O. *et al.* Bioquímica da Lignificação de Células Xilemáticas. *Floresta e Ambiente*, v. 11, p.48-57, 2004.
- RONCHI, C. P.; CARVALHO, F. P. de; SILVA, A. A. Café Conilon. Manejo Integrado de Plantas Daninhas. INCAPER. 2a Edição p. 383-397. Vitória, ES. 2017.
- SASAKI, R. S. *et al.* Espectro das gotas produzidas por pontas de jato plano duplo defasado com indução de ar. *Revista Engenharia na Agricultura - REVENG*. v. 24, n. 3, p. 211-218, 2016.
- SILVA, A. A.; SILVA, J. A. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007, p. 367.
- UCHÔA, M. R. Tecnologia de Aplicação de defensivos e uso da Telemetria em uma propriedade no município de Campo Novo do Parecis-MT. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2019.
- VIANA, R. G. *et al.* Distribuição volumétrica e espectro de gotas de pontas de pulverização de baixa deriva. *Planta Daninhas*. Viçosa, v. 28, n. 2, p. 439-446, 2010.
- WANG, G.; BALINT-KURTI, P. J. Maize Homologs of CCoAOMT and HCT, Two Key Enzymes in Lignin Biosynthesis, Form Complexes with the NLR Rp1 Protein to Modulate the Defense Response. *Plant Physiology*, v. 171, n. 3, p. 2166-2177, 2016.
- YAMADA T.; CASTRO, P. R. de C. Efeitos do glifosato nas plantas: Implicações fisiológicas e agrônomicas. IPNI - International Plant Nutrition Institute. Encarte técnico. Informações Agronômicas no 119 - Set/2007.
- YE, Z. -H. *et al.* Caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase and lignin biosynthesis. *Phytochemistry* (57). 2001.
- ZHANG, Y. *et al.* Ectopic expression of an antisense BpCCoAOMT gene from *Betula platyphylla* Suk. affects growth and development of tobacco due to lignin content reduction. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. v. 29, n. 2, p. 266-275, 2020.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo financiamento do projeto (Edital: RESOLUÇÃO FAPES Nº 257/2019 - REDE INOVA CAFÉ - Processo N. - Termo de Outorga N. 003/2020). Conduzido em parceria com o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER). Nas dependências da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Campus de Alegre, no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (BQMOL).