

PATRICIA DA COSTA ZONETTI

**TEORES DE LIGNINA E CRESCIMENTO DE RAÍZES DE SOJA
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA, RESISTENTE AO GLIFOSATO EM
RESPOSTA À MUDANÇA DE TEMPERATURA**

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PATRICIA DA COSTA ZONETTI

**TEORES DE LIGNINA E CRESCIMENTO DE RAÍZES DE SOJA
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA, RESISTENTE AO GLIFOSATO EM
RESPOSTA À MUDANÇA DE TEMPERATURA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2007**

PATRICIA DA COSTA ZONETTI

**TEORES DE LIGNINA E CRESCIMENTO DE RAÍZES DE SOJA
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA, RESISTENTE AO GLIFOSATO EM
RESPOSTA À MUDANÇA DE TEMPERATURA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em:

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me dar força e proteção durante todos os passos que tenho dado.

Ao Professor Doutor, orientador e amigo OSVALDO FERRARESE FILHO, pelo exemplo de profissionalismo, pela orientação segura e confiança durante todo o período do desenvolvimento desse trabalho.

À Professora Doutora MARIA DE LOURDES LUCIO FERRARESE, pela orientação no desenvolvimento das práticas laboratoriais, pela amizade, carinho e incansável dedicação nas orientações.

Aos FUNCIONÁRIOS do Laboratório de Bioquímica Vegetal da Universidade Estadual de Maringá, Flausina Aparecida Cenerini, Gisele Adriana Bubna, Aparecida Maria Dantas Ramos e Gisele Novakowski, pela amizade e carinho depositados durante quatro anos de convivência e não mediram esforços para o término desta tese.

À LETICIA SAYURI SUZUKI e EDICLÉIA APARECIDA BONINI, colegas de Laboratórios e amigas de momentos difíceis, pela ajuda nos ensaios experimentais, pelos momentos de descontração e pela valiosa contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

Aos demais COLEGAS DO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA VEGETAL, pela compreensão, amizade e companheirismo conquistados.

A todos AMIGOS, que estiveram presente em minha vida, durante o período de 2003 a 2007, pelo incentivo constante, pelo carinho e palavras de consolo.

Ao Professor Doutor PEDRO CÉSAR DOS SANTOS, que não mediu esforços para auxiliar na análise dos dados. Pela amizade e pelo exemplo de vida e profissionalismo.

À UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela oportunidade concedida.

À Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola - Coodetec, pelo fornecimento das sementes.

Aos PROFESSORES do Programa de Pós-graduação em Agronomia,

pelos ensinamentos e pela amizade.

Aos meus PAIS, Luiz Carlos Zonetti e Ismênia da Costa Claro Zonetti, sem os quais, esse trabalho não teria sentido. Pelo incansável estímulo nos momentos difíceis, pelo carinho, amor e, sobretudo por estarem presente nessa etapa de minha vida.

Ao meu ESPOSO, Lincon Ricardo de Almeida Leite, pelos fins de semanas ausentes e por me acompanhar durante toda a trajetória de minha formação de pós-graduanda.

Por fim, quero agradecer a TODOS que de alguma forma puderam contribuir com o desenvolvimento desse trabalho.

BIOGRAFIA

PATRICIA DA COSTA ZONETTI, filha de Luiz Carlos Zonetti e Ismênia da Costa Claro Zonetti, nasceu na cidade de Cafelândia, Estado de São Paulo, no dia 15 de junho de 1977.

Graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), em Maringá, Paraná, em fevereiro de 1999.

Obteve o título de Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, em Ilha Solteira, São Paulo, em setembro de 2001.

Em março de 2003, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, na Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I	3
TEORES DE LIGNINA NOS TEGUMENTOS E NAS RAÍZES DE CULTIVARES DE SOJA (<i>Glycine max</i> (L). Merrill) TRANSGÊNICAS RESISTENTES AO GLIFOSATO E RESPECTIVAS CULTIVARES PARENTAIS	3
Resumo	3
Abstract	5
1 INTRODUÇÃO	6
2 MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 CULTIVARES E SISTEMA EXPERIMENTAL	9
2.1.1 Cultivares	9
2.1.2 Sistema experimental	9
2.2 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	11
2.2.1 Crescimento da raiz: comprimento relativo da raiz primária, biomassas fresca e seca das raízes	11
2.2.2 Determinação do teor de lignina das raízes	11
2.2.3 Determinação dos teores de lignina e de fenóis nos tegumentos das sementes	12
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4 CONCLUSÕES	24
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO II	28

EFEITOS DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO E NA LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE SOJA (<i>Glycine max</i> (L). Merrill) CULTIVAR TRANSGÊNICA RESISTENTE AO GLIFOSATO E CULTIVAR CONVENCIONAL	28
Resumo	28
Abstract	29
1 INTRODUÇÃO	30
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 CONDUÇÃO DO ENSAIO	33
2.2 TRATAMENTOS	33
2.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	33
2.3.1 Medidas de crescimento	33
2.3.1.1 Determinação do comprimento relativo da raiz primária	34
2.3.1.2 Determinação das biomassas frescas e secas	34
2.3.2 Determinação dos teores de lignina nas raízes	34
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO III	46
LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE SOJA (<i>Glycine max</i> (L). Merrill), CULTIVAR TRANSGÊNICA RESISTENTE AO GLIFOSATO E CULTIVAR PARENTAL, EM RESPOSTA À REDUÇÃO DE TEMPERATURA	46
Resumo	46
Abstract	47
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 CULTIVARES E TRATAMENTOS	50
2.2 SISTEMA EXPERIMENTAL	50
2.2.1 Germinação das sementes	50
2.2.2 Transferência das plântulas para o sistema experimental	51

2.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	51
2.3.1 Determinação do comprimento relativo da raiz primária, biomassas fresca e seca das raízes de plântulas aclimatadas à baixa temperatura	51
2.3.2 Determinação dos teores de lignina das raízes de plântulas aclimatadas à baixa temperatura	52
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4 CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	61
CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
APÊNDICES	65
ANEXOS	77

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Quadrados médios dos contrastes de cultivares transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para variável comprimento relativo da raiz primária (cm)	15
Tabela 2	Comprimento relativo da raiz primária (cm) de plântulas de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 – CD 214RR e CD 201. Contraste 2 – CD 213RR e OC 14	16
Tabela 3	Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para variável biomassa fresca da raiz por plântula (g)	17
Tabela 4	Biomassa fresca da raiz por plântula (g) de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 - CD 214RR e CD 201. Contraste 2 - CD 213RR e OC 14	18
Tabela 5	Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para a variável teor de lignina na raiz (mg LTGA g ⁻¹ raiz)	20
Tabela 6	Valores médios do teor de lignina (mg LTGA g ⁻¹ raiz) em raízes de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 - CD 214RR e CD 201. Contraste 2 - CD 213RR e OC 14	21
Tabela 7	Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais para variável teor de lignina no tegumento (mg LTGA g ⁻¹ tegumento)	22

Tabela 8	Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais para variável teor de fenóis totais em tegumento ($\text{mg g tegumento}^{-1}$)	22
Tabela 9	Valores médios dos teores de lignina (mg LTGA g^{-1} tegumento) e de fenóis totais ($\text{mg g tegumento}^{-1}$) nos tegumentos de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais. Contraste 1- CD 214RR e CD 201. Contraste 2- CD 213RR e OC 14	23

CAPÍTULO II

Tabela 1	Valores médios do comprimento relativo da raiz primária (cm) de plântulas de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas	37
Tabela 2	Valores médios de biomassa fresca (g) das raízes de plântulas de soja, cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas	38
Tabela 3	Valores médios de biomassa seca (g) das raízes de plântulas de soja, cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas	39
Tabela 4	Valores médios de lignina mgLTGA/g raiz de raízes de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas	40

CAPÍTULO III

Tabela 1	Valores médios do comprimento relativo de raízes (cm) de plântulas de soja cultivares de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas	56
Tabela 2	Valores médios de biomassa fresca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas	56
Tabela 3	Valores médios de biomassa seca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas	57
Tabela 4	Valores médios dos teores de lignina (mg LTGA g^{-1} raiz) em raízes plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas	58

APÊNDICE A

Tabela 1A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de comprimento relativo da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	66
Tabela 2A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa fresca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	66
Tabela 3A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa seca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	67
Tabela 4A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	67
Tabela 5A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de lignina do tegumento de sementes de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	67
Tabela 6A	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de fenóis totais do tegumento de sementes de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201	68

APÊNDICE B

Tabela 1B	Análise de variância dos dados obtidos no experimento comprimento da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas	69
Tabela 2B	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja	69
Tabela 3B	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja	69
Tabela 4B	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa fresca de raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas	70
Tabela 5B	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja	70
Tabela 6B	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja	70

Tabela 7B	Análise de variância dos dados obtidos no experimento biomassa seca de raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas	71
Tabela 8B	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa seca de raízes de plântulas de soja	71
Tabela 9B	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa seca de raízes de plântulas de soja	71
Tabela 10B	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de teor de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas	72
Tabela 10B	Análise de variância dos dados obtidos no experimento de teor de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas	72
Tabela 12B	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Teor de lignina de raízes de plântulas de soja	72
APÊNDICE C		
Tabela 1C	Análise de variância dos dados obtidos no experimento comprimento da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura	73
Tabela 2C	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja	73
Tabela 3C	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja ...	73
Tabela 4C	Análise de variância dos dados obtidos de biomassa fresca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura	74
Tabela 5C	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa fresca das raízes de plântulas de soja	74
Tabela 6C	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa fresca das raízes de plântulas de soja ...	74

Tabela 7C	Análise de variância dos dados obtidos de biomassa seca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura	75
Tabela 8C	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa seca das raízes de plântulas de soja	75
Tabela 9C	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa seca das raízes de plântulas de soja	75
Tabela 10C	Análise de variância dos dados obtidos do teor de lignina em raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura	76
Tabela 11C	Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Teor de lignina das raízes de plântulas de soja	76
Tabela 12C	Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Teor de lignina das raízes de plântulas de soja	76

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1 Recipientes baseados em sistemas de cultivo hidropônico, com mangueiras para aeração. Local de incubação das plântulas: câmara de germinação tipo B.O.D. – Laboratório de Bioquímica Vegetal – UEM, Maringá - PR 10
- Figura 2 Comprimento relativo da raiz primária de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D) 14
- Figura 3 Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D) 17
- Figura 4 Teores de lignina em mg LTGA g⁻¹ raiz de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D) 19

CAPÍTULO II

- Figura 1 Biomassa fresca (g) de raízes de soja RR e parental, em diferentes temperaturas 38
- Figura 2 Biomassa seca (g) de raízes de soja, RR e parental, em diferentes temperaturas 38
- Figura 3 Teores de lignina em mg LTGA g⁻¹ raiz de raízes de plântulas de soja RR e parental, em diferentes temperaturas 41

CAPÍTULO III

- Figura 1 Comprimento relativo (cm) da raiz primária de plântulas de soja cultivar RR e parental, ao longo de 96 horas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR 54
- Figura 2 Biomassa fresca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental, submetidas a um período de incubação de 96 horas em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR 55

Figura 3	Biomassa seca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental, submetidas a um período de incubação de 96 horas em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR	55
Figura 4	Teores de lignina em mg LTGA/g raiz em soja cultivar RR e parental (D213RR e OC 14) após 96 horas, sob fotoperíodo de 12 horas, em diferentes temperaturas	58

RESUMO

ZONETTI, Patrícia da Costa, D.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2007. **Teores de lignina e crescimento de raízes de soja convencional e transgênica, resistente ao glifosato em resposta à mudança de temperatura.** Professor Orientador: Dr. Osvaldo Ferrarese Filho. Professores Conselheiros: Dr^a. Maria de Lourdes Lucio Ferrarese e Dr. Carlos Alberto Scapim.

A presente tese é composta de três trabalhos descritos separadamente. O primeiro teve por objetivo realizar um estudo comparativo entre cultivares de soja RR (resistente ao glifosato) e respectivas parentais quanto aos teores de lignina e crescimento das raízes, assim como os teores de lignina e de fenóis totais nos tegumentos das sementes. Foram comparados dois grupos: 1) cultivares CD 213RR e OC 14 e 2) cultivares CD 214RR e CD 201. As cultivares transgênicas apresentaram maior crescimento da raiz primária, em relação às suas parentais. Houve diferença significativa nos teores de lignina apenas para o primeiro grupo em avaliação, em que a cultivar transgênica apresentou maiores teores nas raízes e menores nos tegumentos. Quanto aos conteúdos de fenóis, constataram-se diferenças nos dois grupos avaliados, sendo o maior valor obtido para as cultivares RR, em ambos os casos. No segundo estudo, sementes das cultivares CD 213RR e OC 14 foram germinadas e, a seguir, mantidas durante quatro dias em sistema hidropônico nas temperaturas de 25, 27,5, 30 e 32,5°C, com o objetivo de avaliar o crescimento e lignificação das raízes. A análise dos dados revelou a ocorrência de interferência positiva da temperatura em todas as variáveis analisadas. A cultivar RR apresentou menor crescimento do sistema radicular e maior lignificação da raiz. O terceiro estudo foi realizado com as cultivares CD 213RR e OC 14. O objetivo foi avaliar o efeito da redução da temperatura na lignificação e crescimento das raízes. Para isto, as sementes foram germinadas a 25°C e, após três dias, transferidas para as temperaturas: 10, 15, 20 e 25°C, permanecendo por quatro dias sob sistema hidropônico. O aumento da temperatura promoveu aumento no crescimento da raiz assim como afetou positivamente a lignificação das raízes. A cultivar RR apresentou maiores

valores para as características em estudo.

Palavras-chave: lignificação, soja transgênica, estresse por temperatura.

ABSTRACT

ZONETTI, Patrícia da Costa, D.S., State University of Maringá, February, 2007. **Lignin contents and root growth of glyphosate resistant and non-resistant soybean: influence of temperature.** Adviser: Dr. Osvaldo Ferrarese Filho. Advisor: Dr Maria de Lourdes Lucio Ferrarese and Dr. Carlos Alberto Scapim.

The present work is contains by three studies. The objective of the first study was to compare transgenic soybean cultivars, resistant to glyphosate, to their respective conventional parental cultivars, by quantification of lignin contents, the growth of seedlings roots, lignin content of the seed coats and total phenolics (PhAs). Two groups were compared: 1) Cultivars CD 213RR and OC 14 and 2) Cultivars CD 214RR and CD 201. Transgenic cultivars showed higher root growth than their respective parental cultivars. Significant difference in the lignin contents were observed only in the first group; the transgenic cultivar showed higher contents in roots and lesser in seed coats. Both transgenic cultivars showed higher levels of PhAs, compared with their parental cultivars. In the second study, seeds of the cultivars CD 213RR and OC 14, were germinated and transferred at 25, 27,5, 30 and 32,5°C for four days in hydroponic systems. The objective was to evaluate the roots growth and lignification. Data analysis showed the influence of temperature in all evaluated parameters. RR cultivar showed lesser growth and higher lignification of the roots. The third study were carried out with the cultivar CD 213RR and OC 14. The objective was to evaluate the effects of low temperatures, on lignification and root growth. After 3 days of germination at 25°C, seedlings were transferred to the hidroponic systems, at 10, 15, 20 e 25°C for four days. Results showed that low temperature decreased the roots growth and the lignification of the roots. RR cultivars showed higher values on the evaluated parameters.

Keywords: lignification, transgenic soybean, temperature stress.

INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill), originária da China, foi domesticada por volta do século XI a.C. Com o passar do tempo, a planta foi introduzida em diferentes países do mundo. No Brasil, a primeira referência sobre a cultura da soja data de 1882, no Estado da Bahia. Atualmente, o país é considerado o segundo maior produtor mundial de soja, e grande exportador dessa oleaginosa.

A planta, proveniente de regiões de clima temperado, foi adaptada ao clima tropical e subtropical a partir dos anos 70, época em que ocorreu grande expansão da cultura. O mercado da soja continua se expandindo e, nos últimos anos, deu grande salto, sobretudo, em decorrência do desenvolvimento de cultivares mais produtivas e com outras características de interesse do agricultor como a tolerância às doenças, aos insetos e aos herbicidas. Algumas dessas características têm sido alcançadas por meio de tecnologia do DNA recombinante. É o caso das plantas de soja modificadas geneticamente, resistentes ao glifosato (RR).

Glifosato [*N*-(fosfometil) glicina] é utilizado na agricultura brasileira desde 1978 por meio de formulações designadas herbicidas, como o pós-emergente Roundup® Ready, o qual, dentre outras implicações, é eficiente inibidor da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSP sintase; E.C. 2.5.1.19). A enzima EPSP sintase participa da via metabólica do chiqu, responsável pela síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como a fenilalanina e a tirosina. Esses aminoácidos, além de constituírem proteínas importantes para o desenvolvimento da planta, participam da via dos fenilpropanóides, principal caminho para a síntese de compostos fenólicos, dentre eles os monolignóis, precursores da lignina. Ao obstruir a via do chiqu, pela inibição da EPSP sintase, o glifosato pode afetar não só a produção de proteínas da soja, mas também a via metabólica geradora de lignina.

A soja RR codifica uma variante da enzima EPSP sintase, que possui baixa afinidade com o glifosato, conferindo-lhe resistência a esse herbicida. Estudos sobre os efeitos dessa modificação genética síntese de lignina são,

sendo de interesse para a caracterização do material genético.

Além de seu potencial genético, a produtividade da soja depende de condições ambientais de solo e de clima. Dentre os elementos do clima, a temperatura é um fator crucial no desenvolvimento da cultura. Em situações adversas de temperatura, ocorrem mudanças bioquímicas e fisiológicas que permitem à planta ajustar-se à condição de estresse, podendo afetar o seu crescimento e vigor.

A redução, no crescimento e na produção de grãos, submetidos às temperaturas adversas podem estar associadas ao metabolismo de fenilpropanóides, o que resultaria em alterações, que afetariam a biossíntese de lignina.

Torna-se relevante confrontar a relação entre lignificação e crescimento das cultivares transgênicas e suas respectivas parentais, sob tais condições, visto que a EPSP sintase está envolvida na síntese de fenóis e nas reações fisiológicas ao estresse de temperatura. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivos: a) comparar a lignificação nas raízes de plântulas de soja transgênica resistente ao glifosato (cultivares CD 213RR e CD 214RR) e suas respectivas cultivares convencionais (OC 14 e CD 201) assim como os conteúdos de lignina e de fenóis totais nos tegumentos dessas cultivares; b) avaliar os efeitos de diferentes temperaturas na lignificação e no crescimento de raízes de plântulas de soja das cultivares CD 213RR e OC 14; c) avaliar os efeitos do estresse de baixa temperatura na lignificação e no crescimento das raízes de plântulas de soja das cultivares CD 213RR e OC 14.

CAPÍTULO I

TEORES DE LIGNINA NOS TEGUMENTOS E NAS RAÍZES DE CULTIVARES DE SOJA (*Glycine max* (L). Merrill) TRANSGÊNICAS

RESISTENTES AO GLIFOSATO E RESPECTIVAS CULTIVARES PARENTAIS

RESUMO. A soja modificada geneticamente, resistente ao glifosato (RR), codifica uma variante da enzima EPSP sintase. Essa variante enzimática apresenta baixa afinidade ao herbicida, conferindo à planta resistência ao produto. A EPSP sintase está envolvida na via de biossíntese de lignina. Levando-se em conta essa alteração enzimática, o objetivo do presente trabalho foi verificar se a soja modificada geneticamente, resistente ao glifosato, apresenta diferença nos teores de lignina das raízes e dos tegumentos, em comparação com sua cultivar parental. Para esses propósitos, foram avaliadas as cultivares CD 214RR e CD 213RR e suas respectivas cultivares parentais CD 201 e OC 14. Para a avaliação das raízes, plântulas com três dias de germinação foram mantidas durante 24, 48, 72 e 96 horas em solução nutritiva, em câmara de germinação do tipo B.O.D. Após esses períodos, foram avaliados os teores de lignina por meio do método do ácido tioglicólico. Obteve-se, nesse ensaio, o comprimento relativo da raiz primária e as biomassas fresca e seca do sistema radicular. Os tegumentos das sementes foram retirados manualmente, secos em estufa a 80°C por 24 horas. Após esse período, procedeu-se a determinação dos teores de lignina, pelo método do ácido tioglicólico, e de fenóis totais, pelo método colorimétrico. Foi realizado estudo de contrastes para comparar cultivares e as respectivas parentais. Foram significativas as interações cultivar *versus* tempo de incubação para as variáveis: crescimento da raiz, biomassa fresca e teor de lignina nas raízes. As cultivares transgênicas apresentaram maior crescimento da raiz primária. A cultivar transgênica CD 213RR apresentou maiores teores de lignina nas raízes, após 72 e 96 horas de incubação, em relação à sua parental OC 14 e menores teores de lignina nos tegumentos. Entre o outro grupo avaliado, CD 214RR e CD 201, não foi constatada diferença significativa para os teores de lignina nas raízes e tegumento das sementes. As cultivares transgênicas apresentaram maiores quantidades de fenóis totais no tegumento em relação às suas respectivas parentais.

Palavras-chave: Soja RR, lignina, fenóis totais.

**LIGNIN CONTENTS IN SEED COAT AND SEEDLINGS ROOTS OF
GLYPHOSATE-RESISTANT AND CONVENTIONAL SOYBEAN (*Glycine max*
(L). Merrill)**

ABSTRACT. Genetically modified soybean encodes a different form of the enzyme EPSP synthase. This variation results in low catalytic affinity to the molecule of glyphosate herbicide, so conferring to the plant resistance to this herbicide. EPSP synthase acts in the biosynthetic pathway of lignin. Taking this enzymatic modification into account, the objective of the present work was to verify if glyphosate resistant soybean is different of its respective conventional cultivar, with respect to seedlings roots and seed coat lignin contents. For this purpose, transgenic cultivars CD 214RR and CD 213RR were evaluated together with their respective parental cultivars, CD 201 and OC 14. Roots were obtained after three days seedlings and then incubated in nutritive solution for 24, 48, 72 and 96 hours in a chamber with 12 hours of photoperiod, at 25°C. After incubation, lignin contents of the dry roots were evaluated by the thioglycolic acid method. Growth data and also fresh and dry biomasses of the roots were obtained. Seed coats were manually peeling and then dried in oven-drying at 80°C for 24 hours. After, the lignin contents were determined using the thioglycolic acid method while the total phenolics were determined colorimetrically. Statistical analysis compared transgenic and conventional by contrast analysis. Cultivar x incubation time interaction was significant for root growth, fresh biomass and lignin levels. Transgenic cultivars showed higher root growth. The transgenic cultivar CD 213RR showed higher levels of lignin in the roots, at 72 and 96 hours fo incubation, when compared with its parental OC 14, and a lower lignin level in seed coat. No significant differences were observed in the lignin contents of roots and seed coats for CD 214RR and CD 201. Transgenic cultivars showed higher levels of total phenolics in seed coat when compared to their respective parental cultivars.

Keywords: RR soybean, lignin, total phenols.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de cultivares resistentes a herbicidas surge como alternativa no controle de plantas daninhas no sistema de cultivo. A obtenção de culturas resistentes ao glifosato (princípio ativo do herbicida Roundup® Ready) tem sido realizada desde os anos 80 (SHAH et al., 1986; GASSER et al., 1988; PADGETTE et al., 1995). Nessa linha de pesquisa, dentre as inúmeras espécies, a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tornou-se alvo da atenção dos pesquisadores por se destacar como planta de grande retorno econômico.

glifosato influencia vários processos fisiológicos no vegetal como inibição da síntese de clorofila, estímulo da síntese de etileno e redução da síntese protéica (GALLI; MONTEZUNNA, 2005). Além dos processos citados, o glifosato age como inibidor específico da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSP sintase), envolvida na via biossintética de aminoácidos aromáticos, conhecida como via do chiquimato (STEINRUCKEN; AMRHEIN, 1980).

A via chiquimato converte precursores de carboidratos, derivados da glicólise e da rota das pentoses fosfato, em aminoácidos aromáticos como a fenilalanina e a tirosina (ANEXO A). inibe a enzima EPSP sintase, e bloquea uma das reações dessa via, ou seja, a que converte o ácido 5-fosfochiquímico em ácido 3-enolpiruvil-5-fosfochiquímico (PADGETTE et al., 1995).

A soja modificada geneticamente (cultivar RR) codifica uma variante da enzima EPSP sintase que possui baixa afinidade ao glifosato, conferindo à planta resistência a esse herbicida (HARRISON et al., 1996). As linhagens de soja resistentes ao glifosato podem ser obtidas pela inserção de um gene da bactéria *Agrobacterium* sp CP4 que codifica uma variante da enzima EPSP sintase (PADGETTE et al., 1995; VON PINHO, 2002).

Pouco se conhece sobre essa modificação genética no que tange ao metabolismo secundário das plantas, em especial a biossíntese de lignina. A via de fenilpropenóides, na qual se insere a EPSP sintase, representa o caminho principal do metabolismo secundário de fenóis nas plantas.

Os compostos fenólicos das plantas são geralmente caracterizados

como metabólitos aromáticos que possuem uma ou mais hidroxilas ligadas ao anel aromático, formando um grupo fenol. Os fenóis vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos; alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e há, ainda, aqueles que são grandes polímeros insolúveis (BUCHANAN et al., 2000). Estes conduzem à síntese de derivados secundários como: isoflavonóides, fitoalexinas, antocianinas e lignina (TAIZ; ZEIGER, 2004).

lignina é um polímero proveniente da polimerização de uma ou mais unidades precursoras de três monolignóis: os álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico (ANEXOS A, B e C). Uma vez polimerizado, os resíduos, derivados de cada um desses precursores, são denominados, H (*p*-hidroxifenil), G (guaiacil) e S (siringil), e os polímeros, enriquecidos com esses componentes são referidos como ligninas tipos H, G ou S (DEAN, 1997). De um modo geral, as plantas vasculares produzem lignina com o intuito de enrijecer seus tecidos condutivos e, formar barreira a fim de evitar a perda excessiva de água (CAPELETI, 2003). A importância da lignificação está associada principalmente ao suporte mecânico dos órgãos das plantas (BOUDET, 2000; BOUDET et al., 2003).

O conteúdo considerado adequado de lignina pode variar de acordo com o interesse do produtor ou empresa, a espécie em questão e dependendo do órgão que está sendo analisado. No eucalipto (*Eucalyptus* sp), o elevado teor de lignina nos tecidos do caule é prejudicial à obtenção de polpa de celulose e papel (ENDT et al., 2000). Em forrageiras, o alto teor de lignina na parte aérea determina baixa digestibilidade, caracterizando pastagens de qualidade (LACERDA, 2001). Levando em conta a quantidade de lignina na raiz, pressupõe-se que alta quantidade de lignina ofereça à planta maior sustentação no solo. No entanto, em excesso, pode levar à redução do crescimento do órgão. No tegumento de soja, foi verificada correlação positiva entre o conteúdo de lignina desses e os mecanismos de resistência aos danos mecânicos, em que o maior conteúdo de lignina no tegumento ofereceu maior resistência ao dano mecânico, e, portanto, maior vigor para as sementes (CAPELETI et al., 2005).

o envolvimento da enzima EPSP sintase na via metabólica de síntese de lignina aliado ao fato de que a soja transgênica resistente ao glifosato (RR) apresenta uma variante dessa, torna-se importante avaliar o conteúdo de lignina nesse material genético. Nesse contexto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar os teores de lignina e o crescimento das raízes de plântulas de soja transgênica resistente ao glifosato (cultivares CD 213RR e CD 214RR) e suas respectivas cultivares parentais (OC 14 e CD 201), assim como comparar os teores de lignina e de fenóis totais nos tegumentos das sementes desses cultivares.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CULTIVARES E SISTEMA EXPERIMENTAL

2.1.1 Cultivares

Foram utilizadas sementes de soja das cultivares transgênicas resistentes ao glifosato CD 213RR e CD 214RR, e suas respectivas parentais convencionais OC 14 e CD 201, cedidas pela Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola Ltda. - Coodetec, Cascavel, Paraná. As sementes foram provenientes da safra 2004/2005, produzidas do campo experimental na cidade de Palotina, Paraná.

2.1.2 Sistema experimental

As sementes foram, previamente, desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante três minutos e, em seguida, lavadas com água deionizada. Após esse procedimento, as sementes foram depositadas entre três folhas de papel germitest (CEL-060), umedecidas, enroladas e acondicionadas em béqueres contendo um pequeno filme de água para manutenção da umidade. Os rolos de papel foram acondicionados em câmara de germinação (Tecnal TE 400, Brasil) a 25°C e 80% de umidade relativa no escuro. Após três dias de germinação, foram plântulas uniformes para a montagem do sistema experimental.

Para execução do protocolo experimental, foram construídos, nas oficinas da Universidade Estadual de Maringá, recipientes apropriados baseados em sistemas de cultivo hidropônico (FERRARESE, 2000) (Figura 1 e ANEXO D). Cada sistema experimental foi constituído de: 1) um recipiente vítreo, medindo 15 cm de altura e 9 cm de diâmetro, adaptado sobre uma base de acrílico de 2,5 cm de altura; 2) uma placa de acrílico, que serve como suporte para as plântulas, contendo 25 orifícios de 5 mm, suspensa por uma coluna ajustável, atarraxada a um suporte afixado na abertura do recipiente; 3)

uma mangueira sorológica para aeração; 4) um filtro com membrana de difluoreto de polivinilideno, com poro de tamanho 0,45 μm (Millipore[®]) acoplada à mangueira e a 5) uma mini-bomba valvulada para o apropriado aeramento da solução nutritiva contida no recipiente.



Figura 1 – Recipientes baseados em sistemas de cultivo hidropônico, com mangueiras para aeração. Local de incubação das plântulas: câmara de germinação tipo B.O.D. – Laboratório de Bioquímica Vegetal – UEM, Maringá - PR.

Cada sistema experimental, constituído de 25 plântulas, foi mantido em câmara de germinação (Tecnal TE 400, Brasil) a 25°C e 80% de umidade relativa, com sistema de fotoperíodo de 12 horas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) meia-força (ANEXO E) (SANTOS et al., 2004), tamponada com fosfato de sódio e potássio 17 mM (pH 6,0) e mantidos sob aeração contínua.

2.2 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

2.2.1 Crescimento da raiz: comprimento relativo da raiz primária e biomassa fresca e seca das raízes

s comprimentos das raízes primárias de 25 plântulas, com três dias de desenvolvimento com auxílio de régua milimetrada (comprimento inicial). Após a obtenção das medidas, as plântulas foram transferidas para o sistema experimental, descrito anteriormente, permanecendo por 24, 48, 72 e 96 horas. Após o período pré-determinado, o comprimento da raiz (comprimento final). O comprimento relativo foi obtido pela diferença entre os comprimentos final e inicial, expresso em centímetros.

Após a obtenção das medidas finais, as raízes foram excisadas e, com auxílio de balança analítica, foi obtido a biomassa fresca, expresso em gramas. A matéria fresca foi levada à estufa com circulação de ar forçada por 24 horas a 80°C. Após esse período, o material foi levado à balança analítica, obtendo-se a biomassa seca, expressa em gramas.

2.2.2 Determinação do teor de lignina das raízes

Para a quantificação de lignina, nas raízes de plântulas de soja, foi utilizado o ácido tioglicólico, que se complexa com a lignina, formando o complexo lignotioglicólico, conforme descrições de Chen et al. (2000) e Ferrarese et al. (2002).

Após o período de incubação, em solução nutritiva (24, 48, 72 e 96 horas), as raízes foram cortadas e levadas à estufa a 80°C. O material seco (0,3 g) foi macerado em gral de porcelana com 7 mL de tampão fosfato de sódio e potássio (50 mM, pH 7,0). O material foi transferido para tubo de centrífuga de 15 mL. A seguir, foi efetuada centrifugação a 1500 xg, por 4 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o material restante submetido a mais duas centrifugações com 7,0 mL da mesma solução tampão. O material foi ressuscitado em 7,0 mL de Triton X-100 (dissolvido em 1% de tampão fosfato) e centrifugado, por duas vezes consecutivas eliminando-se o sobrenadante. O precipitado foi ressuscitado com 7 mL de solução de NaCl

1 M (preparado no tampão) e centrifugado. O sobrenadante foi eliminado, repetindo a operação por mais uma vez. O precipitado restante foi ressuspenso com 7,0 mL de água destilada e centrifugado por 4 minutos a 1500xg, desprezando-se o sobrenadante.

Em seguida, o precipitado obtido foi ressuspenso com 7,0 mL de acetona e centrifugado por 4 minutos a 1500 xg, por duas vezes consecutivas, e o sobrenadante foi eliminado. O precipitado foi acondicionado em estufa, a 60°C, durante 24 horas, seguido de resfriamento em dessecador a vácuo. O precipitado obtido representa a parede celular, isenta de proteínas (CHEN et al., 2000; FERRARESE et al., 2002). O material obtido foi acondicionado em tubos de centrífuga, com rosca, juntamente com a mistura reativa de 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M, e aquecido por 4 horas a 95°C, em banho-maria. Após a reação, o material foi centrifugado a 1500 xg, durante 15 minutos. O precipitado foi lavado três vezes com água destilada e o produto da reação, o ácido lignotioglicólico (LTGA), foi extraído com 7,0 mL de NaOH 0,5 M, a 30°C, por 18 horas, em incubadora (Marconi® MA 095), com agitação de 115 oscilações · min⁻¹. A mistura resultante foi centrifugada a 1500 xg, durante 10 minutos, e o sobrenadante foi guardado. O precipitado obtido anteriormente foi lavado novamente com 3,0 mL de NaOH 0,5 M, centrifugado e o sobrenadante adicionado ao anterior. O sobrenadante obtido foi acidificado com 1,8 mL de HCl concentrado e acondicionado em *freezer*, por no mínimo 4 horas para precipitar o LTGA. O material foi centrifugado e o precipitado lavado por duas vezes com água destilada, eliminando-se o sobrenadante. O LTGA obtido foi acondicionado em estufa, a 60°C, durante 24 horas e, a seguir, armazenado em dessecador a vácuo, até análise. A determinação do LTGA foi efetuada em espectrofotômetro UV, a 280 nm, contra branco apropriado. Para isso o material seco foi dissolvido em 1 mL de NaOH 0,5 M, de forma a obter absorvância apropriada.

2.2.3 Determinação dos teores de lignina e de fenóis nos tegumentos das sementes

Inicialmente, foi retirado o tegumento das sementes manualmente, e levados à estufa (80°C) por 24 horas. O material seco foi triturado. Partindo de

0,3 g da matéria seca, procedeu-se à extração e quantificação de lignina, conforme descrito no item 2.2.2.

Para determinação dos teores de fenóis totais, foram utilizados 0,25 g de matéria seca triturada. foi em pequenos recipientes de vidro com tamparosca, contendo 5 mL de solução de HCl 2 N. Os frascos foram levados à fervura durante 30 minutos, para digestão. Após a fervura, seguida de resfriamento, o material passou pelo papel-filtro. O filtrado obtido foi diluído 150 vezes com água destilada. Aos 5 mL do filtrado diluído, foram acrescentados 0,75 mL de NaCO₃ 1,9 M e 0,25 mL de reagente de Folin-Ciocalteu. A reação ocorreu no escuro por uma hora e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 750 nm (HERRIG et al., 2002).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado em delineamento inteiramente ao acaso, esquema fatorial 4x4 (quatro cultivares x quatro tempos de incubação) com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de 25 plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias entre cultivares transgênicas e respectivas parentais foram comparadas pelo teste F com a opção “contrast” do programa SAS, a 5% de probabilidade. Para o fator tempo, realizou-se análise de regressão polinomial em cada cultivar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise de variância, que interação significativa para cultivar *versus* tempo de incubação para a variável comprimento relativo das raízes. A análise indicou significância para regressão linear em todas as cultivares, como pode ser visto nas Figuras 2A, B, C e D em que também, as equações de regressão para cada cultivar.

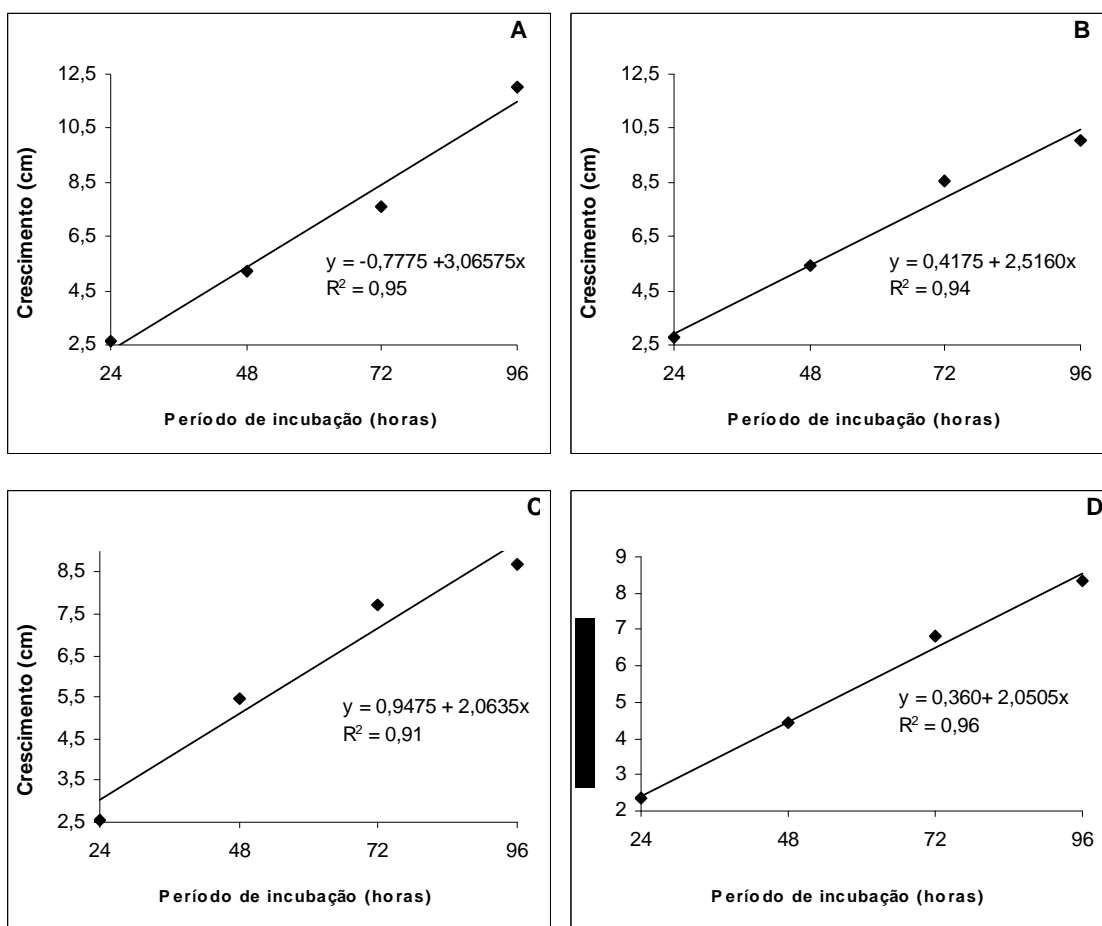


Figura 2 – Comprimento relativo da raiz primária de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D).

Pode ser que ocorreu resposta significativa da cultivar CD 213RR

(Figura 2A) em relação aos demais materiais genéticos. A cada intervalo de 12 horas de incubação, houve incremento de 3,07 cm no comprimento da raiz primária nessa cultivar. A cultivar foi a CD 201 (Figura 2D), com aumento de 2,05 cm a cada 12 horas de avaliação. A cultivar CD 214RR apresentou incremento no comprimento relativo da raiz na ordem de 2,06 cm (Figura 2C), enquanto que a cultivar OC 14 apresentou acréscimo de 2,52 cm, em média, no crescimento da raiz primária, ao longo do período de 12 horas (Figura 2B).

A comparação entre cultivares RR e suas respectivas parentais indicou diferença significativa (teste F a 5% de probabilidade) no primeiro grupo em avaliação (cultivares CD 214RR e CD 201) nos períodos de 48 e 72 horas (Tabela 1). A cultivar transgênica CD 214RR apresentou maiores comprimentos relativos da raiz primária nos dois períodos de incubação descritos anteriormente (Tabela 2). Com relação à cultivar CD 213RR e OC 14 houve diferença significativa entre esses materiais genéticos nos tempos de 72 e 96 horas de incubação (Tabela 1). A cultivar CD 213RR apresentou maior comprimento das raízes em 96 horas de incubação (Tabela 2).

Tabela 1 – Quadrados médios dos contrastes de cultivares transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para variável comprimento relativo da raiz primária (cm)

FV	QM	F	P>F
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 24 hs	0,10811250	0,29	0,5903 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 48 hs	2,16320000	5,88	0,0191 *
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 72 hs	1,54001250	4,19	0,0463 *
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 96 hs	0,21780000	0,59	0,4454 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 24 hs	0,02205000	0,06	0,8077 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 48 hs	0,08611250	0,23	0,6307 ns.
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 72 hs	1,76612500	4,83	0,0329 *
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 96 hs	7,78151250	21,15	< 0,0001 *

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F
ns = não-significativo

Tabela 2 – Comprimento relativo da raiz primária (cm) de plântulas de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas

parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 – CD 214RR e CD 201. Contraste 2 – CD 213RR e OC 14

Cultivares	Comprimento relativo da raiz primária (cm)			
	Período de incubação em solução nutritiva			
Contraste 1	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
CD 214RR	2,56	5,46	7,71	8,69
CD 201	2,33	4,43	6,83	8,36
Contraste 2				
CD 213RR	2,64	5,22	7,63	12,05
OC 14	2,74	5,43	8,58	10,08

CV= 9,63

Outra forma de o crescimento de raízes é por meio de sua biomassa fresca e seca. Nesse caso, são não só o comprimento da raiz primária, mas as dimensões dessa e das raízes secundárias. foi observado efeito significativo para a variável biomassa seca ($p>0,05$). diferença significativa na interação cultivar *versus* tempo de incubação para variável biomassa fresca das raízes. A cultivar CD 201 (Figura 3D) apresentou maior valor de biomassa fresca das raízes entre os intervalos de incubação testados. A cada intervalo de 12 horas de incubação, houve incremento de 0,08 g por plântula. A cultivar OC 14 apresentou menor incremento na biomassa fresca; em média 0,058 g a cada aumento do tempo de incubação (Figura 3B). As cultivares transgênicas, CD 213RR e CD 214RR apresentaram, em média, incremento de 0,064 e 0,069 g, respectivamente (Figura 3A e C).

O estudo comparativo entre as cultivares RR e suas respectivas parentais revelou para biomassa fresca entre o primeiro grupo em avaliação (cultivares CD 214RR e CD 201). Entre as cultivares CD 213RR e OC 14, observou-se diferença entre 48 e 72 horas de incubação em solução nutritiva (Tabela 3). A cultivar OC 14 apresentou maior valor de biomassa em ambos os períodos de incubação (Tabela 4).

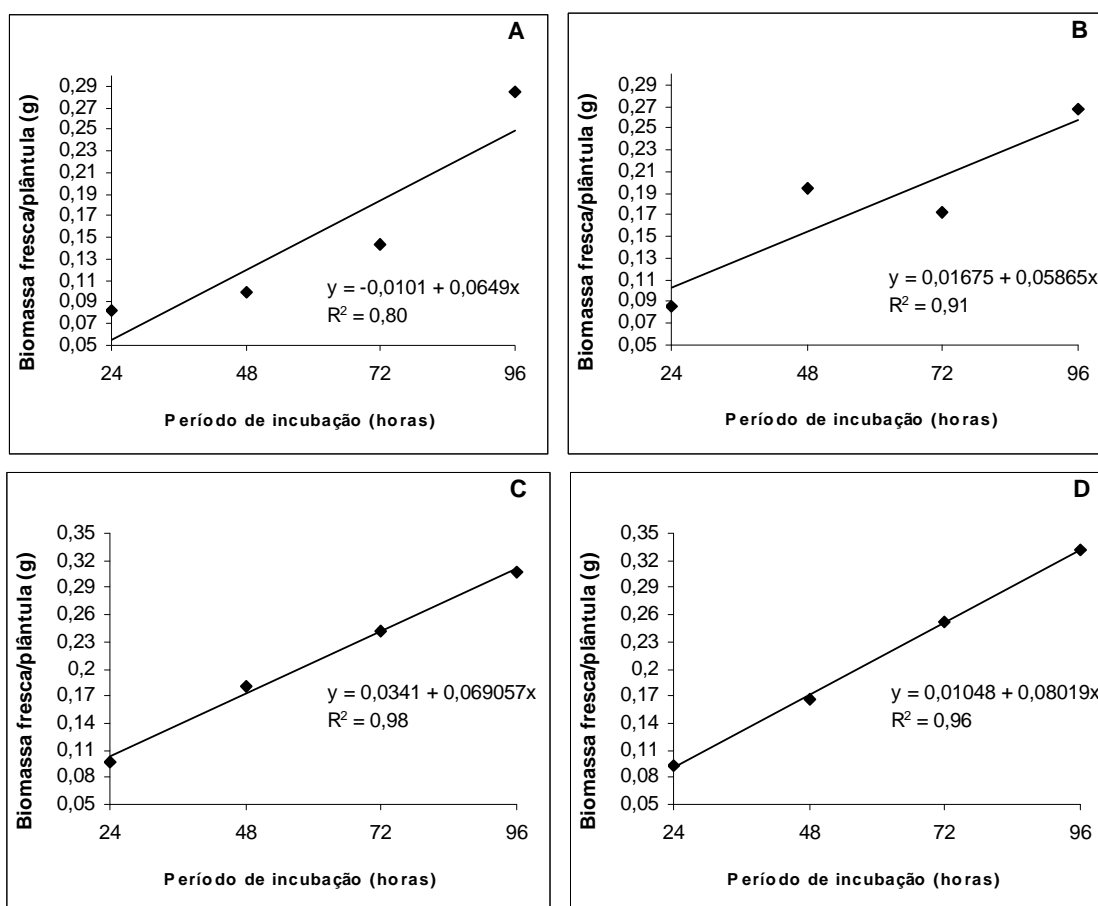


Figura 3 – Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D).

Tabela 3 – Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para variável biomassa fresca da raiz por plântula (g)

FV	QM	F	P>F
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 24 hs	0,00003232	0,10	0,7501 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 48 hs	0,00047926	1,52	0,2234 ns.
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 72 hs	0,00029476	0,94	0,3383 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 96 hs	0,00114242	3,63	0,0629 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 24 hs	0,00003200	0,10	0,7513 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 48 hs	0,00162450	5,16	0,0277 *
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 72 hs	0,00171112	5,43	0,0240 *
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 96 hs	0,00059513	1,89	0,1757 ns

* significativo a 5% pelo teste F
 ns = não-significativo

Tabela 4 – Biomassa fresca da raiz por plântula (g) de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 - CD 214RR e CD 201. Contraste 2 - CD 213RR e OC 14

Cultivares	Biomassa fresca / plântula (g)			
	Período de incubação em solução nutritiva			
Contraste 1	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
CD 214RR	0,0973	0,1814	0,2409	0,3077
CD 201	0,0924	0,1659	0,2530	0,3316
Contraste 2				
CD 213RR	0,0825	0,0992	0,1427	0,2845
OC 14	0,0865	0,1947	0,1720	0,2672

CV= 9,68

De uma forma geral, as cultivares transgênicas apresentaram maior comprimento relativo da raiz primária em alguns períodos de incubação, o entanto, menor valor de biomassa fresca do sistema radicular foi observado na cultivar CD 213RR. O menor crescimento do sistema radicular, em cultivares RR, pode ser explicado conforme sugerido por Brenbrook (2001). Segundo esse autor, a incorporação do gene da variante enzimática EPSP sintase afeta drasticamente o metabolismo dos aminoácidos aromáticos, e provoca sua diminuição.

Padgett et al. (1995) avaliaram em média 40 a 50 características da linhagem de soja transgênica 40-3-2RR e sua respectiva parental, incluindo aminoácidos aromáticos, ácidos graxos, lecitina, entre outros, e observaram redução significativa nos níveis de fenilalanina na linhagem RR. Sidhu et al. (2000) encontraram diferença significativa entre linhagens de milho RR e convencional quanto ao conteúdo de tirosina, na linhagem RR. Essas diferenças podem ser decorrentes da incorporação do gene de resistência. No entanto, deve ser levado em conta que em virtude do fato das linhagens RR serem obtidas por métodos de retrocruzamentos, elas não são 100% isogênicas com suas parentais, e é possível pequena variabilidade genética que pode interferir na característica.

Os resultados referentes aos teores de lignina nas raízes, ao longo do período de incubação, das quatro cultivares podem ser visualizados na Figura 4A, B, C e D. Dos materiais em estudos, observou-se maior resposta da cultivar CD 213RR (Figura 4A). A cada intervalo de 12 horas de incubação incremento de 3,47 mg LTGA/g raiz nos teores de lignina das raízes. A cultivar OC 14 apresentou menor aumento nos teores de lignina, ao longo do tempo de incubação, em comparação com os demais materiais. A equação de regressão indicou aumento de 2,34 mg LTGA g⁻¹ raiz, nessa cultivar (Figura 4B).

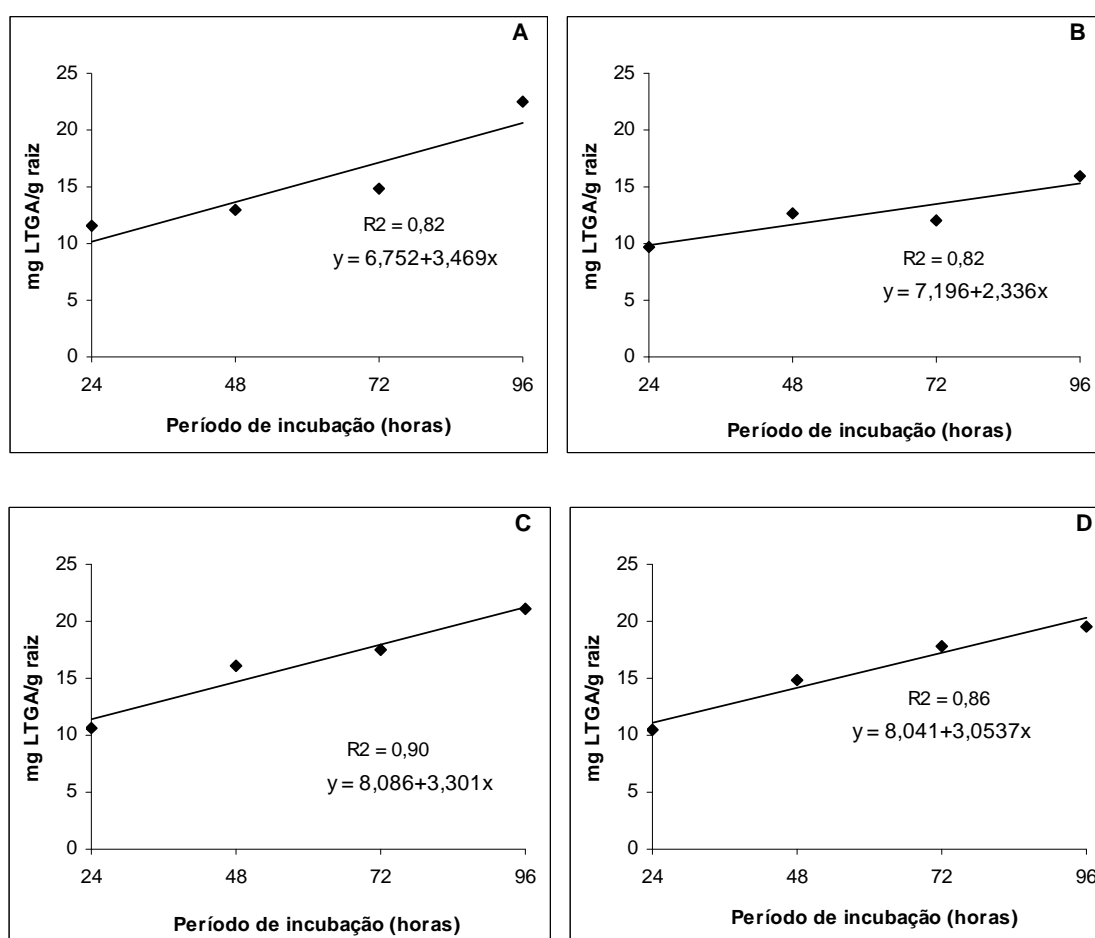


Figura 4 – Teores de lignina em mg LTGA g⁻¹ raiz de plântulas de soja submetidas a diferentes períodos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas. Cultivares: CD 213RR (A); OC 14 (B); CD 214RR (C) e CD 201 (D).

O estudo de contrastes entre os materiais RR e seus respectivos

parentais revelou diferença significativa pelo Teste F a 5% de significância somente após 72 e 96 horas de incubação, apenas entre a cultivar CD 213RR e sua parental OC 14 (Tabela 5). A cultivar CD 213RR apresentou maiores teores de lignina nas raízes nestes períodos de incubação (Tabela 6). Esse aumento, no teor de lignina, após 96 horas de incubação, na cultivar CD 213RR, foi de 6,55 mg LTGA g⁻¹ raiz (29,17%) acima do valor obtido na sua parental OC 14. Não h diferenças significativas entre CD 201 e CD 214RR (Tabela 5). Observa-se dessa forma comportamento diferenciado dos materiais RR nos tempos de incubação avaliados frente à inserção do gene da variante da EPSP sintase. É possível que essa diferença de comportamento seja resultante da base genética das cultivares CD 213RR e CD 214RR.

Tabela 5 – Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais dentro de tempo de incubação para a variável teor de lignina na raiz (mg LTGA g⁻¹ raiz)

FV	QM	F	P>F
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 24 hs	0,07605000	0,05	0,8200 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 48 hs	3,20045000	2,07	0,1567 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 72 hs	0,27751250	0,18	0,6737 ns
CD 214RR <i>versus</i> CD 201 tempo 96 hs	4,89845000	3,17	0,0814 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 24 hs	6,03781250	3,90	0,0539 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 48 hs	0,25205000	0,16	0,6882 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 72 hs	15,07005000	9,75	0,0030 *
CD 213RR <i>versus</i> OC 14 tempo 96 hs	44,50961250	28,79	< 0,0001 *

* significativo a 5% pelo teste F

ns = não-significativo

Tabela 6 – Valores médios do teor de lignina (mg LTGA g⁻¹ raiz) em raízes de

soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais em diferentes tempos de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas a 25°C. Contraste 1 - CD 214RR e CD 201. Contraste 2 - CD 213RR e OC 14

Cultivares	Teor de lignina (mg LTGA g ⁻¹ raiz) em raízes			
	Período de incubação em solução nutritiva			
Contraste 1	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
CD 214RR	10,62	16,09	17,49	21,15
CD 201	10,42	14,82	17,87	19,59
Contraste 2				
CD 213RR	11,49	12,96	14,79	22,45
OC 14	9,76	12,61	12,05	15,90

CV=8,22

Da análise dos resultados obtidos, é que o maior teor de lignina encontrado nas raízes da cultivar CD 213RR em relação à sua parental, tenha sido resultante da transferência do gene de resistência ao herbicida. Como é notório (SHAH et al., 1986; PADGETTE et al., 1995), a soja modificada geneticamente resistente ao glifosato codifica uma variante da EPSP sintase, cuja variante apresenta baixa afinidade ao herbicida, conferindo à planta resistência a esse composto, mas podendo alterar a rota dos fenilpropenóides que culmina com a biossíntese de lignina (HARRISON et al., 1996).

Com base nesses resultados, é possível crer que a cultivar transgênica RR apresenta comportamento diferenciado no metabolismo de biossíntese de lignina com relação à sua parental. No entanto, havendo estudos adicionais com outros materiais RR e outros tempos de incubação para melhor esclarecimento dessa possibilidade. Além disso, estudos com enzimas e/ou intermediários da via de fenilpropenóides poderão fortalecer esse entendimento.

No que se refere às características de tegumento, a análise revelou diferenças significativas entre as cultivares CD 213RR e OC 14 quanto ao conteúdo de lignina (Tabela 7). A cultivar RR apresentou menor conteúdo de lignina. É provável que a cultivar CD 213RR apresente maior susceptibilidade ao dano mecânico, dessa forma menor vigor das sementes. No caso dos teores de fenóis totais do tegumento, foi constatada diferença entre os dois grupos

avaliados (Tabela 8). As cultivares transgênicas apresentaram maiores quantidades de fenóis totais em relação às suas parentais (Tabela 9). Ainda que tenha apresentado maior valor de fenóis livres que a sua parental OC 14, a cultivar transgênica CD 213RR apresentou menor teor de lignina no tegumento (Tabela 9).

Tabela 7 – Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais para variável teor de lignina no tegumento (mg LTGA g⁻¹ tegumento)

FV	QM	F	P>F
CD 214RR <i>versus</i> CD 201	0,03001250	3,09	0,1041 ns
CD 213RR <i>versus</i> OC 14	0,23461250	24,18	0,0004 *

* significativo a 5% pelo teste F
ns = não-significativo

Tabela 8 – Quadrados médios dos contrastes de cultivares de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais para variável teor de fenóis totais em tegumento (mg g tegumento⁻¹)

FV	QM	F	P>F
CD 214RR <i>versus</i> CD 201	0,67977800	13,74	0,0030*
CD 213RR <i>versus</i> OC 14	0,71640450	14,48	0,0025*

* significativo a 5% pelo teste F

Tabela 9 – Valores médios dos teores de lignina (mg LTGA g⁻¹ tegumento) e de fenóis totais (mg g tegumento⁻¹) nos tegumentos de soja transgênicas resistentes ao glifosato (RR) e suas respectivas parentais. Contraste 1- CD 214RR e CD 201. Contraste 2- CD 213RR e OC 14

Cultivares	Variáveis	
Contraste 1	Lignina tegumento	Fenóis tegumento
CD 214RR	2,50	2,94
CD 201	2,62	2,36
Contraste 2		
CD 213RR	2,24	2,83
OC 14	2,58	2,23
	CV=3,96	CV=8,59

Estudos comparativos dos teores de compostos fenólicos e suas relações com a lignificação em soja resistente ao glifosato (RR) e convencional não foram descritos, até o momento, na literatura especializada. Isso, de certo modo, dificulta a análise dos dados obtidos nesse trabalho. Todavia, e ainda que trilhando o terreno especulativo, pode-se supor que alterações ocorridas na via de fenilpropanóides, provocadas possivelmente pela inserção do gene que expressa a EPSP sintase, indicam o acúmulo de fenóis totais livres não-destinados, na sua totalidade, à síntese de lignina.

De fato, é amplamente aceito que os compostos fenólicos, oriundos da via de fenilpropanóides, podem ser desviados para diferentes caminhos metabólicos, como síntese de antocianina, flavonóides, entre outros, além das reações de biossíntese de lignina (BUCHANAN et al., 2000). Fato digno de nota é que, nesse trabalho, foram determinados os teores de totais e não, especificamente, os ácidos fenólicos (ferúlico, *p*-cumárico, caféico e sinápico) efetivamente envolvidos no processo de biossíntese da lignina. Diante disso, estudos adicionais serão necessários para melhor compreensão do papel que os compostos fenólicos, em especial aqueles inseridos na via de fenilpropanóides, exercem na lignificação de cultivares de soja transgênica e respectivas parentais.

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode ser concluído que:

1) as cultivares transgênicas resistente ao glifosato (CD 213RR e CD 214RR) apresentaram maior crescimento longitudinal das raízes que as suas cultivares parentais, , menores valores de biomassas das raízes;

2) a cultivar CD 213RR apresentou maiores teores de lignina nas raízes, e menores no tegumento em comparação com sua parental OC 14;

3) as cultivares resistentes ao glifosato apresentaram maior quantidade de fenóis totais no tegumento em relação às suas parentais convencionais.

REFERÊNCIAS

BENBROOK, C. M. Troubled times amid comercial success for roundup ready soybeans: glyphosate efficacy is slipping and unstable transgene expression erodes plant pefenses and yields. **Ag Biotech Tech Infonet Technical**, n. 4, 2001, 69p. Disponível em: <<http://www.biotech-info.net/troubledtimes.html>>. Acesso em: set. de 2006.

BOUDET, A. L. Lignins and lignification: selected issues. **Plant Physiology Biochemistry**, Paris, v. 38, n. 1/2, p. 81-96, 2000.

BOUDET, A. L.; KAJITA, S.; GRIMA-PETTENATI, J.; GOFFNER, D. Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. **Trends in Plant Science**. Disponível em: <http://plants.trends.com>. Acesso em: ago. de 2003.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p.

CAPELETI, I. **Lignina de tegumentos de sementes de soja (*Glycine max* L. Merr.) e suas relações com a resistência aos danos mecânicos**. 2003. 43p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2003.

CAPELETI, I.; BONINI, E. A.; FERRARESE, M. L. L.; TEIXEIRA, A. C. N.; KRYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE-FILHO, O. Lignin content and peroxidase activity in soybean seed coat susceptible and resistant to mechanical damage. **Acta Physiologiae Plantarum**, Wasazawa, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2005,

CHEN, M.; SOMMER, A. J.; MCCLURE, J. W. Fourier transform-IR determination of protein contamination in thioglycolic acid lignin from radish seedlings, and improved methods for extractive-free cell wall preparation. **Phytochemical Analysis**, Berlin, v. 11, p. 153-159, 2000.

DEAN, J. F. D. Lignin analysis. In: DASHEK, W. V. (Ed.). **Methods in plant biochemistry and molecular biology**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 199-215.

ENDT, D. V.; COSTA, P.; ZAGO, M. K.; ZANETTINI, M. H. B.; PASQUALI, G. Genes de lignificação. **Biotecnologia Ciência & Tecnologia**, Brasília, DF, v. 3, n. 15, p. 152-159, 2000.

FERRARESE, M. L. **Absorção do ácido ferúlico e seus efeitos sobre componentes celulares e enzimas do metabolismo secundário em raízes de soja (*Glycine max* L.)**. 2000. 123p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

FERRARESE, M. L. L.; ZOTTIS, A.; FERRARESE-FILHO, O. Protein-free lignin quantification in soybean (*Glycine max*) roots. **Biologia Bratislava**, Bratislava, v. 57, n. 4, p. 541-543, 2002.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUNNA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: ACADCOM Gráfica e Editora Ltda, 2005. 66p.

GASSER, C. S.; WINTER, J. A.; HIRONAKA, C. M.; SHAH, D. M. Structure, expression, and evolution of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphatase genes of petunia and tomato. **The Journal of Biological Chemistry**, Birmingham, v. 263, n. 9, p. 4280-4289, 1988.

HARRISON, L. A.; BAILEY, M. R.; NAYLOR, M.; REAM, J. HAMMOND, D. L. The expressed protein in synthase in glyphosate-tolerant soybeans, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested and is not toxic to mice upon acute gavage administration. **The Journal of Nutrition**, Palo Alto, v. 128, p. 756-761, 1996.

HERRIG, V.; FERRARESE, M. L. L.; SUZUKI, L. S., RODRIGUES, J. D.; and Ferrarese-Filho, O. Peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activities, phenolic acid contents, and allelochemicals-inhibited root growth of soybean. **Biological Research**, Santiago, v. 35, p. 51-58, 2002.

LACERDA, R. S. **Teores de lignina estimados através do método espectrofotométrico “Lignina solúvel em brometo de acetila” de alguns cultivares de aveia**. 2001. 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PADGETTE, S. R.; KOLACZ, K. R.; DELANNAY, X.; LA VALLE, D. B. R. J.; TINIUS, C. N.; RHODES, Y. I.; BARRY, D. A.; EICHHOLTZ, D. A.; PESCHKE, V. M.; NIDA, D. L.; TAYLOR, N. B.; KISHIRE, G. M. Development, identification and characterization of glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1451-1461, 1995.

PINHO, E. V. R. V. Identificação de cultivares de soja modificada geneticamente através de marcadores morfológicos e moleculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: EMBRAPA Soja 2002. p. 17-23.

SANTOS, W. D.; FERRARESE, M. L. L.; FINGER, A., TEIXEIRA, A. C. N., FERRARESE-FILHO, O. Lignification and related enzymes in soybean root growth-inhibition by ferulic acid. **Journal of Chemical Ecology**, The Netherlands, v. 30, p. 1199-1208, 2004.

SHAH, D. M.; HORSCH, R. B.; KLEE, H. J.; KISHORE, G. M.; WINTER, J. A.; TUMER, N. E.; HIRONAKA, C. M.; SANDERS, P. R.; GASSER, C. S.; AYKENT, S.; SIEGEL, N. D.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. **Science**, Washington, DC, v. 233, p. 478-481, 1986.

SIDHU, R. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L.; MUTZ, J. N.; HOLDEN, L. R.; GEORGE, B.; OLSON, T. Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 48, n. 6, p. 2305-2312, 2000.

STEINRUCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl shikimic acid-3-phosphate synthase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 94, n. 4, p. 1207-1212, 1980.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 309-334.

CAPÍTULO II

EFEITOS DA TEMPERATURA N CRESCIMENTO E NA LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE SOJA (*Glycine max* (L). Merrill) CULTIVAR TRANSGÊNICA, RESISTENTE AO GLIFOSATO, E CULTIVAR CONVENCIONAL

RESUMO. Além de seu potencial genético, a produtividade da soja (*Glycine max* (L). Merrill) depende de condições ambientais de solo e de clima. Dentre os elementos do clima, a temperatura é um fator crucial no desenvolvimento da cultura. A elevada temperatura, dentre outras implicações, afeta o crescimento e promove alterações no metabolismo secundário das plantas. A soja transgênica, resistente ao glifosato, expressa uma variante da enzima EPSP sintase, pàchiquimato, culmina com a biossíntese de lignina. Esse fato pressupõe que essas plantas podem apresentar comportamento diferenciado das plantas convencionais. objetivo desse trabalho foi avaliar possíveis diferenças no crescimento e na lignificação das raízes de soja, resistentes ou não ao glifosato, sob diferentes temperaturas. Sementes de soja da cultivar OC 14 e da transgênica CD 213RR foram germinadas nas temperaturas de 25, 27,5, 30 e 32,5°C, três dias, as plântulas mantidas durante 96 horas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), meia força, nas temperaturas Após esse período, avaliou-se o crescimento das raízes e os teores de lignina. Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados indicaram efeitos significativos da temperatura comprimento relativo da raiz primária e biomassas da raiz. O aumento da temperatura promoveu incremento no crescimento do sistema radicular. A cultivar transgênica CD 213RR apresentou menor crescimento e maior lignificação das raízes em comparação à cultivar convencional OC 14 metabolismo diferenciado da cultivar parental no tocante à biossíntese de lignina.

Palavras-chave: soja transgênica, alta temperatura; lignificação das raízes.

EFFECTS OF TEMPERATURE ON ROOT GROWTH AND LIGNIFICATION OF GLYPHOSATE-RESISTANT AND CONVENTIONAL SOYBEAN (*Glycine*

max (L.) Merrill)

ABSTRACT. Besides its genetic potential, soybean productivity depends of environment conditions such as soil features and climate. Among climate elements, temperature is a very important feature on the culture development. High temperatures affect growth and the plant secondary metabolism, among other implications. Genetically modified soybean encodes a different form of the enzyme EPSP synthase, which is involved in important pathways of secondary metabolism, including lignin biosynthesis. Then, differences between glyphosate-resistant and conventional soybean cannot be discarded. The objective of this work was to evaluate possible differences between growth and lignin content of roots in transgenic and conventional soybean, acclimated to different temperatures. Seeds of OC 14 cultivar and its respective transgenic cultivar, CD 213RR, were germinated at 25, 27.5, 30 and 32.5°C, during three days. After, seedlings were grown for 96 hours in Hoagland half-strength nutrient solution, with 12 hours of photoperiod. After incubation, roots relative length, fresh and dry biomasses and lignin content were determined. Data were submitted to variance analysis and results indicated a significant effect to temperature and also to primary and biomass root. The temperature increase improved the roots growth. Transgenic cultivar CD 213RR showed a lower growth and a higher lignin content of roots than the conventional cultivar OC 14. Transgenic cultivar probably presents metabolic differences related to lignin biosynthesis.

Keywords: transgenic soybean; high temperature; root lignification.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo comercial da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) vem ocupando a

cada ano posição de destaque com o plantio de grandes áreas contínuas. No Brasil, segundo dados da CONAB (2007), a produção de soja, na safra 2005/2006, foi de 53,42 mil toneladas, e o Estado do Paraná se posicionou no segundo lugar no *ranking* da produção nacional.

O estabelecimento de mudanças, no sistema de cultivo, associado ao lançamento de novas cultivares, tem proporcionado ganhos produtivos nas lavouras. No entanto, embora o padrão de germinação das sementes e do desenvolvimento das plantas serem programados geneticamente essa expressão pode ser mudada por fatores ambientais incontroláveis no sistema de cultivo (SANTOS et al., 1992).

A temperatura ótima para o desenvolvimento vegetativo da soja está em torno de 30°C. No entanto, existem materiais genéticos para os quais a temperatura ótima pode chegar a 25°C ou estar entre 25 e 30°C (MIYASAKA; MEDINA, 1981). Para esses materiais mais sensíveis, o aumento de temperatura pode se tornar uma condição limitante do crescimento. O aumento da temperatura pode modificar a estabilidade das membranas celulares (TAIZ; ZEIGER, 2004), afetando diferentes processos metabólicos, em especial à fotossíntese e à respiração celular.

Quando a temperatura estressante para as plantas, elas alteram como forma de proteção o seu metabolismo primário e secundário. Afetando esse último, pode ocasionar mudanças na via metabólica dos fenilpropanóides, principal caminho para a síntese de compostos fenólicos e de lignina (DIXON; PAIVA, 1995).

A classe mais abundante de compostos fenólicos, nas plantas, é a derivada de fenilalanina. Por meio da eliminação de uma molécula de amônia, a fenilalanina se converte em ácido cinâmico, cuja reação é catalisada pela fenilalanina amônia liase (PAL), uma das enzimas mais estudada no metabolismo secundário vegetal. A PAL atua em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, de forma que a reação por ela catalisada é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos. As formações de fenilpropanóides simples, cumarinas, derivados do ácido benzóico, lignina, antocianinas, isoflavonas, taninos condensados e outros flavonóides têm início com fenilalanina (TAIZ; ZEIGER, 2004).

lignina é um polímero de fenilpropanóides (DEAN, 1997), presente nas paredes celulares. A incorporação de lignina na parede celular ocasiona rigidez estrutural e resistência dos tecidos das plantas (POLLE et al., 1994; BOUDET et al., 2003). Isso ocorre por causa do mecanismo de espessamento, que diminui a extensibilidade da parede celular em decorrência da formação de pontes difenil entre polímeros da parede, por ação das peroxidases (SÁNCHEZ et al., 1996).

O aumento da temperatura, no solo (em torno de 45°C), afeta a soja e a convencional no tocante à biossíntese de lignina (BRENBROOK, 2001). Em tais condições a produtividade de soja transgênica, no Rio Grande do Sul, mostrou desempenho semelhante ao convencional (NODARI; DESTRO, 2006). Nesse contexto, a quantificação de lignina nas raízes de soja RR e convencional poderá elucidar possíveis alterações metabólicas das plantas quando submetidas ao aumento de temperatura.

A soja modificada geneticamente, resistente ao glifosato (cultivar RR ou Roundup Ready) codifica uma variante da enzima EPSP sintase que possui baixa afinidade ao glifosato, conferindo à planta resistência a este herbicida (HARRISON et al., 1996; VON PINHO, 2002), esta enzima está inserida na via metabólica do ácido chiquímico, que culmina entre os compostos, com a síntese de lignina (STEINRUCKEN; AMRHEIN, 1980). O aumento da temperatura afeta o crescimento do vegetal, que pode ser em virtude não só da maior deposição de lignina na parede celular, mas pelo fato desta rota metabólica também culminar com a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como fenilalanina e tirosina.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento e a lignificação de raízes de soja RR e convencional, cultivadas sob diferentes temperaturas, levando em conta que a soja RR apresenta uma enzima variante pertencente à via do chiquimato, e que, sob condições adversas de temperatura, essa via metabólica está atuante nas plantas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONDUÇÃO DO ENSAIO

O ensaio foi conduzido em câmara de germinação tipo B.O.D (Tecnal TE 400, Brasil), no Laboratório de Bioquímica Vegetal da Universidade

Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

Foram utilizadas sementes de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato CD 213RR e sua parental, cultivar convencional OC 14, cedidas pela Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola Ltda - Coodetec, Cascavel, Paraná, as quais foram provenientes da safra 2004/2005, obtidas do campo experimental localizado na cidade de Palotina, Paraná.

2.2 TRATAMENTOS

As sementes foram germinar, no escuro, em câmara de germinação tipo B.O.D à temperatura de 25, 27,5, 30 e 32,5°C. Após três dias de germinação, as plântulas foram acondicionadas em sistema experimental com base no cultivo hidropônico a solução de Hoagland e Arnon (1950), meia força (SANTOS et al., 2004) tamponada com tampão fosfato de sódio e potássio 67 mM, pH 6,0. No sistema experimental, as plântulas foram mantidas por quatro, mesmas temperaturas em que foram germinadas e sob fotoperíodo de 12 horas. A solução nutritiva foi renovada a cada intervalo de 24 horas.

2.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

2.3.1 Medidas de crescimento

Após quatro dias, no sistema experimental, foram avaliados: o comprimento relativo da raiz primária das plântulas, as biomassas frescas e secas das raízes e osteores de lignina das raízes em todos os tratamentos.

2.3.1.1 Determinação do comprimento relativo da raiz primária

Para determinação do comprimento relativo da raiz primária foram medidas, com auxílio de régua milimetrada, as raízes principais de 25 plântulas (comprimento inicial). Após as medições as plântulas foram transferidas para o sistema hidropônico para cumprimento do protocolo. Em seguida os comprimentos das raízes principais foram novamente medidos e considerados como comprimento final. O comprimento relativo foi obtido pela diferença entre os comprimentos final e inicial, expresso em centímetros.

2.3.1.2 Determinação das biomassas frescas e secas

Após a determinação dos comprimentos das raízes primárias, elas foram excisadas e, com auxílio de balança analítica com precisão de 0,0001 g, foram determinadas as biomassas frescas, expressas em gramas. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar por 24 horas a 80°C. Após este período, as amostras foram retiradas da estufa e acondicionadas em dessecador a vácuo. Após resfriamento espontâneo, as amostras foram pesadas em balança analítica para obtenção das biomassas secas, expressas em gramas.

2.3.2 Determinação dos teores de lignina nas raízes

Para a quantificação de lignina nas raízes das plântulas de soja, foi utilizado o método do ácido tioglicólico (CHEN et al., 2000; FERRARESE et al., 2002). Para isso, as raízes excisadas das plântulas foram acondicionadas em estufa a 80°C. O material seco (0,3 g) foi macerado em gral de porcelana com 7 mL de tampão fosfato de sódio e potássio (50 mM, pH 7,0). O material foi transferido para tubo de centrífuga de 15 mL. A seguir, foi efetuada centrifugação, a 1500 xg, por quatro minutos. O sobrenadante foi desprezado e o material restante submetido a mais duas centrifugações com 7,0 mL da mesma solução tampão. O material foi ressuspensionado em 7,0 mL de Triton X-100 (dissolvido em 1% de tampão fosfato) e centrifugado, por duas vezes consecutivas, eliminando-se o sobrenadante. O precipitado foi ressuspensionado com 7 mL de solução de NaCl 1 M (preparado no tampão) e centrifugado. O sobrenadante foi eliminado, repetindo a operação por mais uma vez. O precipitado restante foi ressuspensionado com 7,0 mL de água destilada e centrifugado por quatro minutos a 1500 xg, desprezando-se o sobrenadante.

O precipitado obtido anteriormente foi ressuspensionado com 7,0 mL de acetona e centrifugado por quatro minutos a 1500 xg, por duas vezes consecutivas, sendo o sobrenadante eliminado. O precipitado foi acondicionado em estufa (60°C, 24 horas), e resfriado em dessecador a vácuo. O precipitado obtido representa a parede celular, isenta de proteínas (CHEN et al., 2000;

FERRARESE et al., 2002). O material obtido foi acondicionado em tubos de centrífuga, com rosca, juntamente com a mistura reativa de 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M, sendo aquecido por quatro horas a 95°C, em banho-maria. Após a reação, o material foi centrifugado a 1500 xg, durante 15 minutos. O precipitado foi lavado três vezes com água destilada e o produto da reação, o ácido lignotioglicólico (LTGA) foi extraído com 7,0 mL de NaOH 0,5 M, a 30°C, por 18 horas, em incubadora (Marconi MA095), com agitação de 115 oscilações min⁻¹. A mistura resultante foi centrifugada a 1500 xg, durante dez minutos, e o sobrenadante guardado. O precipitado obtido anteriormente foi lavado novamente com 3,0 mL de NaOH 0,5 M, centrifugado e o sobrenadante adicionado ao anterior. O material obtido foi acidificado com 1,8 mL de HCl concentrado e acondicionado em *freezer*, por no mínimo de quatro horas, para precipitar o LTGA. O material foi centrifugado e o precipitado lavado por duas vezes com água destilada, eliminando-se o sobrenadante. O LTGA obtido foi acondicionado em estufa (60°C, 24 horas) e, a seguir, armazenado em dessecador a vácuo, até análise. A determinação do LTGA foi efetuada em espectrofotômetro UV, a 280 nm, contra branco apropriado. Para isso, o material obtido seco foi dissolvido em 1 mL de NaOH 0,5 M, de forma a obter absorvância apropriada.

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado em delineamento inteiramente ao acaso, esquema fatorial 2x4 (duas cultivares x quatro temperaturas) com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de 25 plântulas. Os dados foram analisados por análise de variância, as médias entre cultivares comparadas pelo teste F a 5% de significância. Para o fator tempo, realizou-se análise de regressão polinomial em cada cultivar.

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa SISVAR da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos permitiram constatar diferença significativa no comprimento relativo da raiz, entre as cultivares. O na temperatura de 27,5°C. A cultivar OC 14 apresentou maior comprimento da raiz principal com relação à transgênica CD 213RR (Tabela 1). cada cultivar isoladamente não foram significativos

Tabela 1 – Valores médios do comprimento relativo da raiz primária (cm) de plântulas de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas

Cultivares	Temperatura			
	25°C	27,5°C	30°C	32,5°C
OC 14	17,37	19,72	17,90	18,30
CD 213RR	17,67	15,57	16,55	17,57

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

diferenças significativas, pelo teste F, entre os materiais genéticos nível de 5% de probabilidade, (Tabela 2) em que a cultivar convencional OC 14 obteve maior valor de biomassa. A temperatura interferiu no crescimento do sistema radicular de as cultivares. Como mostra na Figura 1, , com o aumento da temperatura, promoveu incremento linear na biomassa do sistema radicular e a cada aumento de 2,5°C, houve um incremento de 0,0100 g. Em relação à biomassa seca, a mesma cultivar apresentou comportamento quadrático e o ponto de máximo segundo a equação ajustada foi 28,98°C (Figura 2).

Tabela 2 – Valores médios de biomassa fresca (g) das raízes de plântulas de soja, cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas

Cultivares	Temperatura			
	25°C	27,5°C	30°C	32,5°C
OC 14	0,126	0,141	0,184	0,195

CD 213RR	0,107	0,048	0,097	0,140
----------	-------	-------	-------	-------

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

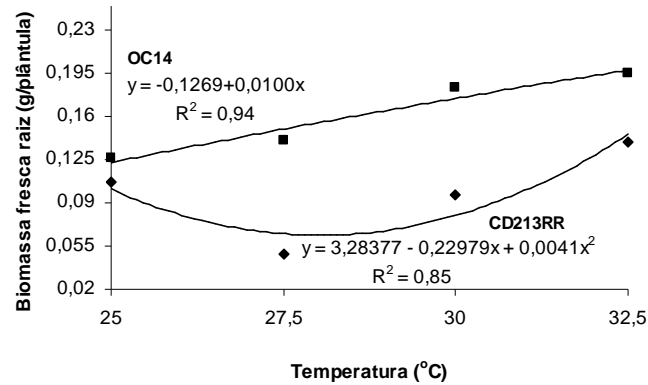


Figura 1 – Biomassa fresca (g) de raízes de soja RR e parental, em diferentes temperaturas.

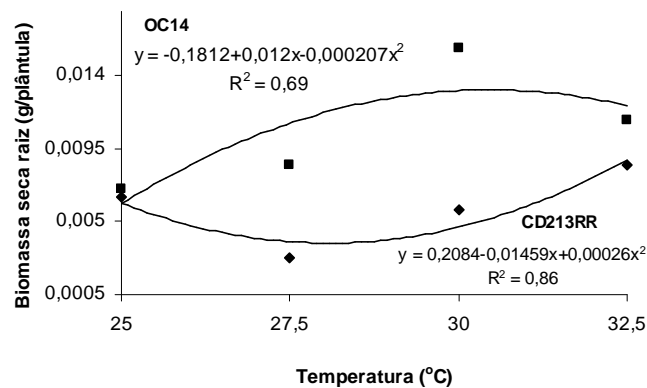


Figura 2 – Biomassa seca (g) de raízes de soja, RR e parental, em diferentes temperaturas.

Já, para a cultivar CD 213RR, observou-se queda do crescimento do sistema radicular à 27,5°C. Aumentos da biomassa fresca foram observados em temperaturas mais altas (30 e 32,5°C) Figura 1). O ponto de mínimo foi a 28,02°C, quando o valor de biomassa foi de 0,064 g. O mesmo comportamento foi observado com a biomassa seca nesta cultivar, quando o ponto de mínimo foi de 28,06°C (Figura 2).

O melhor crescimento do sistema radicular pode ser fato de que faixa

de temperatura em análise tem sido considerada ótima para o crescimento e desenvolvimento vegetativo da cultura da soja (EMBRAPA, 2003).

A Tabela 3 os dados referentes à biomassa seca das raízes. diferença significativa das cultivares somente nas temperaturas de 27,5 e 30°C, com a cultivar convencional OC 14, apresentando maiores valores de biomassa seca nas respectivas temperaturas.

Tabela 3 – Valores médios de biomassa seca (g) das raízes de plântulas de soja, cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em diferentes temperaturas

Cultivares	Temperatura			
	25°C	27,5°C	30°C	32,5°C
OC 14	0,0070	0,0085	0,0157	0,0113
CD 213RR	0,0065	0,0027	0,0057	0,0085

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

De um modo geral, pode-se destacar que o menor crescimento do sistema radicular, encontrado na cultivar transgênica CD 213RR (Tabelas 1, 2 e 3), pode ser decorrente de maior lignificação das raízes, nas temperaturas testadas (Tabela 4). Foi encontrada diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F em todas as temperaturas testadas.

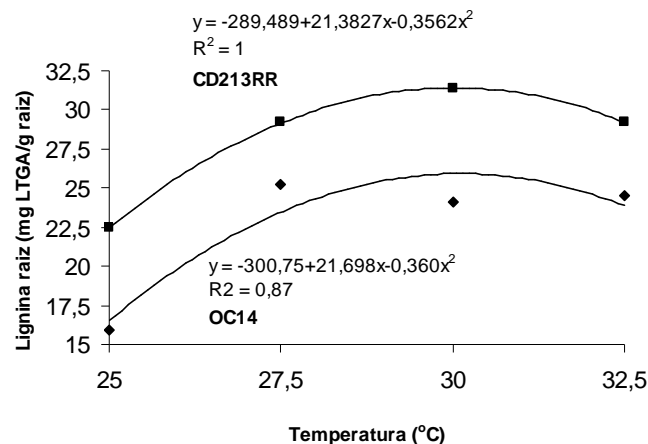
Tabela 4 – Valores médios de lignina mgLTGA/g raiz de raízes de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato e à cultivar parental em diferentes temperaturas

Cultivares	Temperatura			
	25°C	27,5°C	30°C	32,5°C
OC 14	15,91	25,28	24,10	24,47
CD 213RR	22,45	29,18	31,39	29,22

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

O comportamento dos materiais genéticos quanto ao conteúdo de lignina, expostos às diferentes temperaturas, é mostrado na Figura 3. Para as duas cultivares, a equação quadrática foi significativa. O ponto de máxima mostrou-se o mesmo a 30°C, lignina 34,65 e 26,19 mg LTGA g⁻¹, as cultivares transgênica e convencional, respectivamente. O teor de lignina, 30°C, na cultivar RR foi da ordem de 31% superior que na convencional.

Coghlan (1999) relatou que, sob climas quentes, a soja RR apresenta teores de lignina em torno de 20% do que o encontrado na soja convencional, sugerindo que isto maior susceptibilidade do caule às quebras a altura das plantas. maior susceptibilidade do caule se deve ao fato de que, aumentado os seus teores, lignina ocupa espaços primordialmente requeridos pela celulose e, torna o caule mais rígido e sem a adequada flexibilidade. Em situações de campo, o acamamento do caule é uma característica de maior relevância, neste caso maior teor de lignina, implicaria em menor índice de acamamento. Os dados obtidos no presente trabalho (Tabela 4 e Figura 3) corroboram àqueles obtidos pelo autor citado, com exceção dos resultados a 25°C. So autor constatou que a soja RR cresceu tanto quanto a convencional e sem is diferenças significativas nos conteúdos de lignina



sa

Figura 3 – Teores de lignina em mg LTGA g⁻¹ raiz de raízes de plântulas de soja RR e parental, em diferentes temperaturas.

Como relatado por Padgett et al. (1995) e Facchini et al. (2000), existem diferenças na composição de vários metabólitos da soja RR e da

convencional, incluindo os aminoácidos aromáticos. Uma das linhagens de soja RR continha menor teor de fenilalanina que a convencional. Situação semelhante foi observada em milho no que tange ao aminoácido tirosina (SIDHU et al., 2000). Como é notório, esses aminoácidos, além de constituírem importantes proteínas para o desenvolvimento das plantas, são moléculas iniciadoras da via dos fenilpropenóides, principal caminho para a síntese de compostos fenólicos, dentre esses os monolignóis que são precursores da lignina (STRACK, 1997).

É razoável supor que os baixos teores de fenilalanina, relatados para a soja transgênica na literatura, sejam decorrentes da sua utilização não-somente na via de síntese de proteínas como na de lignina, o que resulta nos aumentos observados deste polímero.

4 CONCLUSÕES

- Temperatura de 30°C provocou incremento nos valores de biomassas do sistema radicular de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14.
- A cultivar transgênica CD 213RR apresentou menor crescimento e maior lignificação do sistema radicular em relação à cultivar convencional OC 14.

REFERÊNCIAS

BENBROOK, C. M. Troubled times amid comercial success for roundup ready soybeans: glyphosate efficacy is slipping and unstable transgene expression erodes plant pefenses and yields. **Ag Biotech Tech Infonet Technical**, n. 4, 2001, 69p. Disponível em: <<http://www.biotech-info.net/troubledtimes.html>>. Acesso em: set. de 2006.

BOUDET, A. L.; KAJITA, S.; GRIMA-PETTENATI, J.; GOFFNER, D. Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. **Trends in Plant Science**. Disponível em: <http://plants.trends.com>. Acesso em: ago. de 2003.

CHEN, M.; SOMMER, A. J.; MCCLURE, J. W. Fourier transform-IR determination of protein contamination in thioglycolic acid lignin from radish seedlings, and improved methods for extractive-free cell wall preparation. **Phytochemical Analysis**, Berlin, v. 11, p. 153-159, 2000.

COGHLAN, A. Splitting headache: Monsanto's modified soybeans are cracking up in the heat. **New Scientist**, n. 20, 1999. Disponível em: <<http://www.biotech-info.net/cracking.pdf>> Acesso em: set. de 2006.

CONAB. **Área e produção das safras paranaense e brasileira 2005/06 e 2006/07**. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em: jan. de 2007.

DEAN, J. F. D. Lignin analysis. In: DASHEK, W. V. (Ed.). **Methods in plant biochemistry and molecular biology**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 199-215.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, The Netherlands, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja Região Central do Brasil 2003**: sistema de produção. Versão eletrônica. Jan/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/exigencias.htm>. Acesso em: jun. de 2006.

FANCCHINI, P. J.; HUBER-ALLANACH, K. L.; TARI, L. W. Plant Aromatic L-amino acid decarboxylases: evolution, biochemistry, regulation, and metabolic engineering applications. **Phytochemistry**, London, v. 54, n. 2, p. 121-138, 2000.

FERRARESE, M. L. L.; ZOTTIS, A.; FERRARESE-FILHO, O. Protein-free lignin quantification in soybean (*Glycine max*) roots. **Biologia Bratislava**, Bratislava, v. 57, n. 4, p. 541-543, 2002.

HARRISON, L. A.; BAILEY, M. R.; NAYLOR, M.; REAM, J. HAMMOND, D. L. The expressed protein in synthase in glyphosate-tolerant soybeans, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested and is not toxic to mice upon acute gavage administration. **The Journal of Nutrition**, Palo Alto, v. 128, p. 756-761, 1996.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981. 1062p.

NODARI, R. O.; DESTRO, D. **Relatório sobre a situação de lavouras de soja na região de Palmeira das Missões (RS), safra 2001/2002, cultivadas com cultivares convencionais e com cultivares transgênicas**. Disponível em: <greenpeace.org.br>. Acesso em: jun. de 2006.

PADGETTE, S. R.; TAYLOR, N. B.; NIDA, D. L.; BAILEY, M. R.; MACDONALD, J.; HOLTEN, L.R.; FUCHS, R. L. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to conventional soybeans. **The Journal of Nutrition**, Palo Alto, v. 126, n. 3, p. 702-716, 1995.

PINHO, E. V. R. V. Identificação de cultivares de soja modificada geneticamente através de marcadores morfológicos e moleculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: EMBRAPA Soja 2002. p. 17-23.

POLLE, A.; Otter, T.; Seifert, F. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 106, p. 53-60, 1994.

SÁNCHEZ, M.; PENA, M. J.; REVILLA, G.; ZARRA, I. Changes in dehydrodiferulic acids and peroxidase activity against ferulic and associated with cell walls during growth of *Pinus pinaster* hypocotyl. **Plant Physiology**, Rockville, v. 111, p. 941-946, 1996.

SANTOS, W. D.; FERRARESE, M. L. L.; FINGER, A., TEIXEIRA, A. C. N., FERRARESE-FILHO, O. Lignification and related enzymes in soybean root growth-inhibition by ferulic acid. **Journal of Chemical Ecology**, The Netherlands, v. 30, p. 1199-1208, 2004.

SANTOS, V. L. M. ; CALIL, A. C.; RUIZ, H. A.; ALVARENGA, E. M. SANTOS, C.M. Efeito do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 14, n. 2, p. 189-194, 1992.

SIDHU, R. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. MUTZ, J. N.; HOLDEN, L. R.; GEORGE, B.; OLSON, T. Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 48, n. 6, p. 2305-2312, 2000.

STEINRUCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl shikimic acid-3-phosphate synthase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 94, n. 4, p. 1207-1212, 1980.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (Eds.) **Plant biochemistry**. San Diego ; London: Academic Press, 1997. p. 387-416.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 309-334.

CAPITULO III

LIGNIFICAÇÃO DE RAÍZES DE SOJA (*Glycine max* (L). Merrill), CULTIVAR TRANSGÊNICA RESISTENTE AO GLIFOSATO E CULTIVAR PARENTAL, EM RESPOSTA À REDUÇÃO DE TEMPERATURA

RESUMO. O estresse causado pela baixa temperatura, dentre outras implicações, afeta o crescimento do vegetal assim como o seu metabolismo secundário. Pelo fato da soja RR apresentar variante enzimática de uma das principais vias do metabolismo secundário, ligada à síntese de lignina, s pode apresentar comportamento diferenciado, sob baixa temperatura, se comparada com sua linhagem parental. O objetivo deste trabalho foi investigar possíveis diferenças no crescimento e nos conteúdos de lignina nas raízes de soja cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental em resposta a redução de temperatura. Após três dias de germinação das sementes, as plântulas foram mantidas em solução nutritiva, às 10, 15, 20 e 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), com fotoperíodo de 12 horas. Após 96 horas, foi avaliado o comprimento relativo da raiz primária, biomassa fresca e seca das raízes e os teores de lignina. Dos resultados obtidos, foi possível constatar que o aumento da temperatura promoveu aumento no crescimento das plântulas de soja com subsequente incremento na lignificação das raízes. Dentre os materiais em estudo, tanto o comprimento relativo quanto os índices de biomassas e de lignina foram superiores na cultivar transgênica (CD 213RR).

Palavras-chave: soja transgênica; baixa temperatura; crescimento das raízes; lignificação.

**ROOT LIGNIFICATION OF GLYPHOSATE-RESISTANT AND
CONVENTIONAL SOYBEAN (*Glycine max* (L). Merrill) UNDER
ACCLIMATION TO LOW TEMPERATURES**

ABSTRACT. Low temperature stress affects plant growth and its secondary metabolism, among other implications. Genetically modified soybean encodes a different form of the enzyme EPSP synthase, which is involved in important pathways of secondary metabolism, including lignin biosynthesis. Thus, the influence of low temperatures may be different between glyphosate resistant and conventional soybean development. The objective of this work was to evaluate possible differences between growth and lignin content of roots of transgenic and conventional soybean cultivars, acclimated to low temperature. After three days of germination, seedlings were grown in nutrient solution, at 10, 15, 20 and 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) with 12 hours of photoperiod. After 96 hours, the relative root length, fresh and dry biomasses and lignin content were determined. Results showed that high temperature increased growth and lignin content of seedlings roots. Relative length, fresh and dry biomasses and also lignin content were high in transgenic soybean (CD 213RR).

Keywords: transgenic soybean; low temperature; roots growth; lignification.

1 INTRODUÇÃO

Fatores ambientais como água, luz e temperatura influenciam o crescimento, desenvolvimento e a produtividade das plantas. Sob condições de cultivo, os vegetais estão expostos a diferentes estresses, o qual é definido como um fator externo, que exerce influência desvantajosa na planta (TAIZ; ZEIGER, 2004). Dessa forma, alterações ambientais podem afetar o crescimento das plantas o que pode resultar em perda de produtividade. O estresse pela baixa temperatura é um grande problema para a produção agrícola (CVIKROVÁ, 2002), incluindo a cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), adaptada às regiões tropicais e subtropicais, que é muito sensível a este tipo de estresse ambiental. requer 25°C a 30°C para um bom desenvolvimento, e rendimento (ZHANG; SMITH, 1994).

A temperatura de resfriamento é definida como baixa, porém insuficiente para a formação de gelo. O crescimento normal das plantas afetado sob temperatura de resfriamento. O cultivo de plantas sobbaixas temperaturas pode provocar redução no vigor e na taxa de crescimento, mesmo na ausência de outros sintomas e/ou injúrias (RODRIGUES et al., 2001). Janas et al. (2000) observaram redução drástica do crescimento de raízes de soja, submetidas à 10°C. Segundo os autores, o retardamento do alongamento das raízes ocorreu após um dia de submissão das raízes à situação estressante.

Exposições à baixa temperatura provocam mudanças fisiológicas e bioquímicas que permitem ajustar-se à condição d estresse. O metabolismo secundário dos vegetais pode ser alterado nessa condição fenilalanina amônia liase) é a enzima que inicia a via dos fenilpropenóides, convertendo a fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico (ABREU, 1994). óé o principal caminho para a síntese de compostos fenólicos, dentre eles os monolignóis, precursores da lignina. A atividade dessa enzima aumenta e proporciona o acúmulo de vários fenilpropenóides como conseqüência de vários fatores bióticos e abióticos (DIXON; PAIVA, 1995). Nesse caminho,Janas et al. (2002) relataram que a atividade da PAL, em raízes de soja cultivadas a10°C, aumentou

significativamente. Nesse aspecto, se a PAL, enzima inicial da via de fenilpropanóides, é afetada por baixas temperaturas, esse fato pode implicar em mudanças nas reações de biossíntese de lignina e, por conseguinte na lignificação das plantas.

estrutural, a lignina é um polímero fenólico altamente ramificado e constituído de álcoois fenilpropanóides (BOUDET, 2000). A lignina corresponde a 15-30% da biomassa seca da parede celular representando o segundo mais abundante polímero na natureza, após a celulose. Além de proporcionar rigidez aos tecidos condutivos das plantas vasculares, a funciona como barreira contra a perda excessiva de água (BUCHANAM et al., 2000). A presença de lignina nas plantas é fundamental para as junções entre células vizinhas, expansão e enrijecimento dos tecidos que geram uma forte barreira física contra a invasão de microrganismos (BOUDET, 2000), e suporte mecânico dos órgãos (POLLE et al., 1994; BOUDET et al., 2003).

Segundo Harrison et al. (1996), a soja transgênica, resistente ao glifosato (RR), possui um gene introduzido que codifica uma variante da enzima EPSPsintase (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase). Esta enzima, assim como a PAL, participa da via biossintética e responsável pela síntese da maioria dos metabólitos secundários, aminoácidos aromáticos e lignina. ãe e

Levando-se em conta que uma das enzimas-chave para a síntese de lignina é modificada na soja transgênica resistente ao glifosato, e que sob estresse de temperatura existem relatos que indicam modificações no metabolismo secundário das plantas, é possível crer que as plantas transgênicas apresentem comportamento diferenciado da parental na biossíntese de lignina, quando submetidas à baixa temperatura. Nessa linha de raciocínio presente trabalho teve como objetivo investigar possíveis diferenças no crescimento e nos teores de lignina nas raízes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivar transgênica resistente ao glifosato e cultivar parental, em resposta à redução de temperatura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CULTIVARES E TRATAMENTOS

ementes de soja da cultivar transgênica resistente ao glifosato CD 213RR e da sua parental OC 14, provenientes da safra 2004/2005 e obtidas do campo experimental localizado na cidade de Palotina – PR. foram cedidas pela Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola Ltda. - Coodetec, Cascavel, Paraná

Para avaliar o estresse de baixa temperatura, plântulas com três dias de germinação a 25°C foram aclimatadas nas temperaturas de 10, 15, 20 por 96 horas. Como temperatura-padrão, foi utilizada 25°C, na qual as plântulas foram aclimatadas por 96 horas. Todos os sforamconduzidos em câmara B.O.D (Tecnal TE 400, Brasil), no Laboratório de Bioquímica Vegetal da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

2.2 SISTEMA EXPERIMENTAL

2.2.1 Germinação das sementes

As sementes foram previamente desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 2% durante três minutos e, em seguida, foram lavadas com água deionizada. Após esse procedimento, as sementes foram depositadas entre três folhas de papel germitest (CEL-060), umedecidas, as quais foram enroladas e acondicionadas em béqueres, contendo um pequeno filme de água para manutenção da umidade. Os rolos foram acondicionados em câmara escura (Tecnal TE 400, Brasil) a 25°C e 80% de umidade relativa. Após três dias de germinação, foram separadas 25 plântulas uniformes para a montagem de cada repetição de cada tratamento.

2.2.2 Transferência das plântulas para o sistema experimental

O sistema experimental utilizado foi descrito por Ferrarese (2000), estabelecido com base no cultivo hidropônico. Cada sistema constou de: 1) um recipiente vítreo, adaptado sobre uma base de acrílico; 2) uma placa de acrílico, que serviu como suporte para as plântulas, contendo 25 orifícios de 5 mm, suspensa por uma coluna ajustável, atarraxada a um suporte afixado na

abertura do recipiente; 3) uma mangueira sorológica para aeração; 4) um filtro com membrana de difluoreto de polivinilideno, com poro de 0,45 μm (Millipore[®]) acoplada à mangueira e a uma mini-bomba valvulada para o apropriado aeramento da solução nutritiva contida no recipiente.

Cada sistema experimental foi constituído de 25 plântulas, o qual mantido em câmara de germinação tipo B.O.D. (Tecnal TE 400, Brasil) nas temperaturas de cada tratamento (10, 15, 20 e 25°C), e 80% de umidade relativa, com fotoperíodo de 12 horas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) meia-força (SANTOS et al., 2004), tamponada com fosfato de sódio e potássio 17 mM (pH 6,0), e mantido sob aeração contínua.

2.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

2.3.1 Determinação dos comprimentos relativos das raízes primárias e das biomassas fresca e seca das raízes de plântulas aclimatadas à baixa temperatura

Os comprimentos das raízes primárias de 25 plântulas, com três dias de desenvolvimento, foram medidos com auxílio de régua milimetrada (comprimento inicial). Após a obtenção das medidas, as plântulas foram transferidas para o sistema experimental e aclimatadas em câmara de germinação tipo B.O.D. (Tecnal TE 400), a 10, 15, 20 ou 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), com fotoperíodo de 12 horas, durante 96 horas. Após o período novamente, foram medidos os comprimentos das raízes (comprimento final). O comprimento relativo foi obtido pela diferença entre os comprimentos final e inicial, expresso em centímetros. As raízes foram cortadas e, com auxílio de balança analítica, foi determinado a biomassa fresca, expressa em gramas. A matéria fresca foi acondicionada em estufa por 24 horas a 80°C, obtendo-se a biomassa seca, expressa em gramas.

2.3.2 Determinação dos teores de lignina das raízes de plântulas aclimatadas à baixa temperatura

Para a quantificação de lignina, nas raízes de plântulas de soja, foi utilizado o método do ácido tioglicólico de acordo com Chen et al. (2000) e

Ferrarese et al. (2002).

Após 96 horas de aclimação, diferentes temperaturas, as raízes foram cortadas e levadas à estufa a 80°C. O material seco (0,3 g) foi macerado em gral de porcelana com 7 mL de tampão fosfato de sódio e potássio (50 mM, pH 7,0). O material foi transferido para tubo de centrífuga de 15 mL. A seguir, foi efetuada a centrifugação, a 1500 xg, por quatro minutos. O sobrenadante foi desprezado e o material restante submetido a mais duas centrifugações com 7,0 mL da mesma solução tampão. O material foi ressuscitado em 7,0 mL de Triton X-100 (dissolvido em 1% de tampão fosfato) e centrifugado, por duas vezes consecutivas, eliminando-se o sobrenadante. O precipitado foi ressuscitado com 7 mL de solução de NaCl 1 M (preparado no tampão) e centrifugado. O sobrenadante foi eliminado, repetindo a operação por mais uma vez. O precipitado restante foi ressuscitado com 7,0 mL de água destilada e centrifugado por quatro minutos a 1500 xg, desprezando-se o sobrenadante.

precipitado obtido foi ressuscitado com 7,0 mL de acetona e centrifugado por quatro minutos a 1500 xg, por duas vezes consecutivas, e o sobrenadante foi eliminado. O precipitado foi acondicionado em estufa, a 60°C, durante 24 horas, e resfriado em dessecador a vácuo. O precipitado obtido representa a parede celular, isenta de proteínas (CHEN et al., 2000; FERRARESE et al., 2002). O material obtido foi acondicionado em tubos de centrífuga, com rosca, juntamente com a mistura reativa de 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M, sendo aquecido por quatro horas a 95°C, em banho-maria. Após a reação, o material foi centrifugado a 1500 xg, durante 15 minutos. O precipitado foi lavado três vezes com água destilada e o produto da reação, o ácido lignotioglicólico (LTGA), foi extraído com 7,0 mL de NaOH 0,5 M, a 30°C por 18 horas, em incubadora (Marconi® MA 095), com agitação de 115 oscilações min⁻¹. A mistura resultante foi centrifugada a 1500 xg durante dez minutos, e o sobrenadante guardado. O precipitado obtido anteriormente foi lavado novamente com 3,0 mL de NaOH 0,5 M, centrifugado e o sobrenadante adicionado ao anterior. O sobrenadante obtido foi acidificado com 1,8 mL de HCl concentrado e acondicionado em freezer, por no mínimo de 4 horas, para precipitar o LTGA. O material foi centrifugado e o precipitado lavado por duas vezes com água destilada, eliminando-se o sobrenadante. O

LTGA obtido foi acondicionado em estufa, a 60°C, durante 24 horas e, a seguir, foi armazenado em dessecador a vácuo, até análise. A determinação do LTGA foi efetuada em espectrofotômetro UV, a 280 nm, contra branco apropriado. Para isso, o material obtido seco foi dissolvido em 1 mL de NaOH 0,5 M, de forma a obter absorvância apropriada.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado em delineamento inteiramente ao acaso, esquema fatorial 2x4 (duas cultivares x quatro temperaturas de incubação) com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de 25 plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias entre cultivares comparadas pelo teste F a 5% de significância. Para o fator tempo realizou-se análise deregressão polinomial em cada cultivar.

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa SISVAR da Universidade Federal de Lavras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos permitiram constatar que com o aumento da temperatura houve incremento no comprimento da raiz primária das plântulas das cultivares de soja CD 213RR e OC 14. Para a cultivar CD 213RR, esse incremento foi da ordem de 3,52 cm a cada aumento de 5°C, enquanto que para OC 14 foi de 3,25 cm (Figura 1B e A). Com êciabiomassas frescas e secas, a cultivar RR apresentou incremento de 0,059 g na biomassa fresca e 0,0232 g na biomassa seca a cada aumento de 5°C, enquanto na cultivar convencional esse incremento foi de 0,0647 g e 0,02718 g na biomassa fresca e seca, respectivamente (Figuras 2B e A e 3B e A).

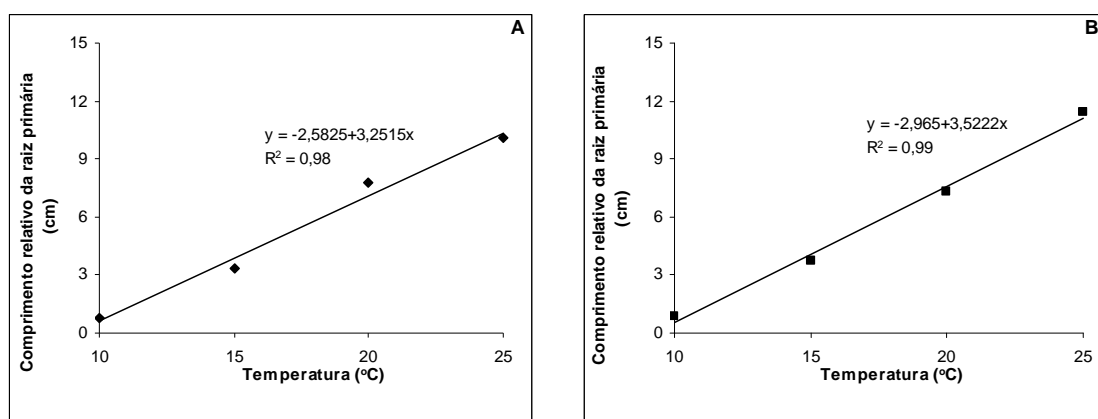


Figura 1 – Comprimento relativo (cm) da raiz primária de plântulas de soja cultivar RR e parental, ao longo de 96 horas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR.

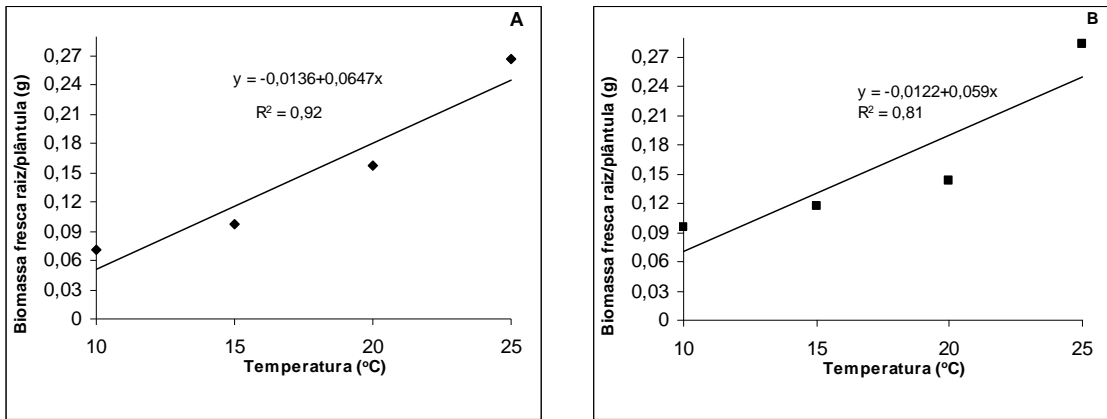


Figura 2 – Biomassa fresca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental, submetidas a um período de incubação de 96 horas em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR.

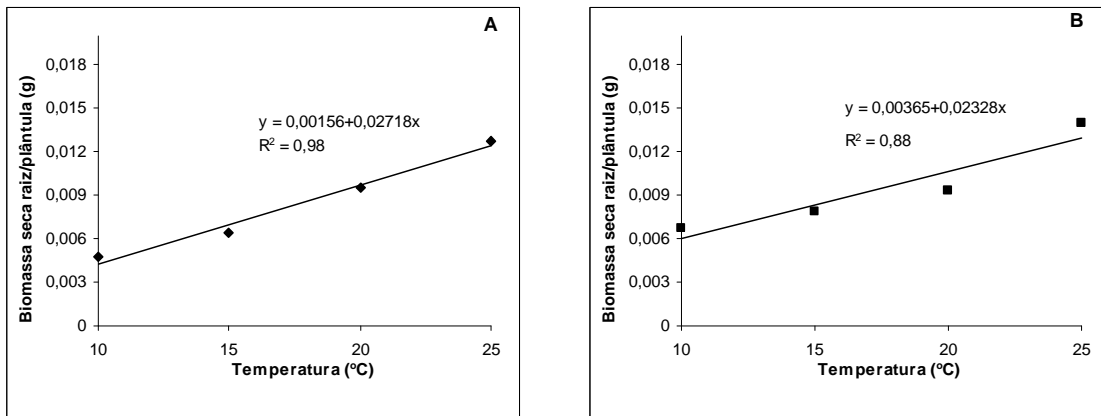


Figura 3 – Biomassa seca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental, submetidas a um período de incubação de 96 horas em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas, em quatro diferentes temperaturas. A: cultivar OC 14; B: cultivar CD 213RR.

Houve diferenças significativas, pelo teste F, entre as cultivares nas temperaturas de 20°C e 25°C, o comprimento relativo das raízes. A cultivar RR apresentou maior comprimento a 25°C, cultivar OC 14 (Tabela 1). Já, com relação à biomassa fresca das raízes diferenças significativas entre as cultivares nas temperaturas de 10 e 15°C. A cultivar CD 213RR apresentou maiores valores de biomassa que a OC 14 (Tabela 2) nessas temperaturas. a biomassa seca, a cultivar RR nas temperaturas de 10, 15 e 25°C. 96 horas de aclimação a 10°C, a biomassa seca das raízes foi de 50 a 60% menor em relação às raízes

das plântulas mantidas a 25°C (Tabela 3).

Com base nos dados de biomassas fresca e seca (Tabelas 2 e 3), pode-se afirmar que a cultivar RR apresentou maior crescimento do sistema radicular na menor temperatura analisada (10°C).

Tabela 1 – Valores médios do comprimento relativo de raízes (cm) de plântulas de soja cultivares de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas

Cultivares	Temperatura			
	10°C	15°C	20°C	25°C
OC 14	0,777	3,36	7,97	10,08
CD 213RR	0,867	3,76	7,30	11,43

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

Tabela 2 – Valores médios de biomassa fresca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas

Cultivares	Temperatura			
	10°C	15°C	20°C	25°C
OC 14	0,071	0,097	0,144	0,267
CD 213RR	0,096	0,116	0,157	0,284

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

Tabela 3 – Valores médios de biomassa seca (g) de raízes de plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) em diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas

Cultivares	Temperatura			
	10°C	15°C	20°C	25°C
OC 14	0,00475	0,00637	0,00927	0,0127
CD 213RR	0,00670	0,00790	0,00950	0,0140

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

O crescimento de uma planta pode ser medido de diversas maneiras e é regulado por fatores intrínsecos e extrínsecos (ambientais). Dentre os fatores extrínsecos, a baixa temperatura tem sido relatada como um grave problema para a agricultura. que a diminuição da temperatura provoca mudanças na estrutura celular, tanto nas membranas plasmáticas quanto na parede celular (MATSUURA; OBATA, 1993). a aclimação de plântulas, a 10°C, provoca redução na incorporação de polissacarídeos na parede celular das raízes. Tais mudanças podem provocar danos irreversíveis para a planta, como a diminuição do alongamento celular (ZABOTIN et al., 1998).

De acordo com resultados obtidos por Janas et al. (2000), a baixa temperatura pode reduzir o crescimento médio das plantas, sem que essas apresentem outros sintomas de estresse. Esses autores avaliaram o crescimento de raízes de plântulas de soja mantidas no escuro, aclimatadas à temperatura de 10°C, e constataram redução de 50% do comprimento da raiz principal, após 96 horas, em comparação com plântulas mantidas a 25°C. Nesse trabalho, observou-se drástica redução do comprimento das raízes primárias nas cultivares estudadas, se comparadas às plântulas aclimatadas a 10°C com aquelas que permaneceram a 25°C. Essa redução foi de 92,29% na cultivar OC 14 e de 92,41% na cultivar CD 213RR (Tabela 1).

De modo subsequente à avaliação do crescimento das raízes, foi analisada a lignificação, sob as diferentes temperaturas: 10, 15, 20 e 25°C. Os resultados indicaram diferenças significativas nos teores de lignina das raízes. A Figura 4 revela menores teores de lignina nos dois materiais genéticos. que

para o caso de cultivar RR, aumentou-se o teor de lignina em 2,35 mg LTGA g⁻¹, cultivar OC 14, o aumento nos teores de lignina foram, em média, de 1,87 mg LTGA g⁻¹ raiz.

à que a cultivar CD 213RR apresentou maiores teores de lignina em comparação à cultivar OC 14 em todas as temperaturas avaliadas pelo teste F a 5% de probabilidade (Tabela 4).

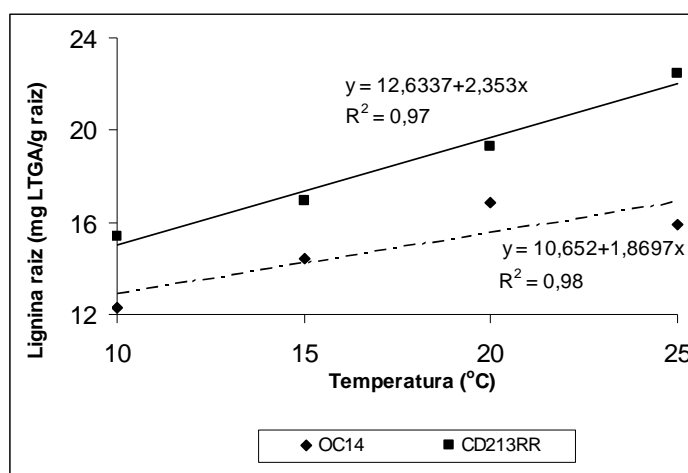


Figura 4 – Teores de lignina em mg LTGA/g raiz em soja cultivar RR e parental (D213RR e OC 14) após 96 horas, sob fotoperíodo de 12 horas, em diferentes temperaturas.

Tabela 4 – Valores médios dos teores de lignina (mg LTGA g⁻¹ raiz) em raízes plântulas de soja cultivar RR e parental (CD 213RR e OC 14) diferentes temperaturas de incubação em solução nutritiva sob fotoperíodo de 12 horas

Cultivares	Temperatura			
	10°C	15°C	20°C	25°C
OC 14	12,31	14,40	16,86	15,90
CD 213RR	15,37	16,96	19,28	22,45

Médias nas colunas comparadas pelo teste F em nível de 5% de significância

Conforme sugerido por Janas et al. (2000), uma das respostas da planta ao estresse é o acúmulo de compostos fenólicos. A forma como este acúmulo pode afetar a via de fenilpropanóides tem sido estudada ainda que o

mecanismo permaneça obscuro. Janas et al. (2000 e 2002) relataram que as raízes de soja, incubadas durante 24 horas, a 10°C, apresentaram aumento nos teores de fenóis solúveis no citosol. Embora os autores tenham constatado que a baixa temperatura aumentou o conteúdo de fenóis totais, foi observada diminuição nos teores de compostos fenólicos ligados à parede celular.

É aceito que diminuições nos teores de ácidos fenólicos ligados à parede celular podem modificar a extensibilidade dessa associada à diminuição na velocidade de síntese da lignina (POLLE et al., 1994; DIXON; PAIVA, 1995; SANTOS et al., 2004). Como consequência, alterações nas propriedades mecânicas da parede celular poderão ocorrer implicando em quebras de ligações iônicas e covalentes entre seus diferentes constituintes. Entre esses constituintes, destacam-se os polissacarídeos. Em apoio a essa possibilidade, Zabotin et al. (1998) revelaram que a redução no crescimento das raízes de trigo, sob baixa temperatura, foi associada com drásticas modificações nos polissacarídeos. Nessa linha de raciocínio, é plausível que se os polissacarídeos não formarem complexos com os ácidos fenólicos, fato este importante no desenvolvimento das plantas, esses permanecerão solúveis o que pode explicar o aumento dos seus teores, como por Janas et al. (2000).

Ainda que os teores ácidos fenólicos não tenham sido determinados nesse trabalho, foi constatada significativa redução na lignificação nas raízes crescidas sob baixas temperaturas. Redução nos teores de ácidos fenólicos ligados à parede celular em soja convencional, submetidas à baixa temperatura, foi relatada por Janas et al. (2000, 2002). Desde que ácidos fenólicos (ferúlico, *p*-cumárico e caféico) estejam associados à síntese de lignina (BUCHANAM et al., 2000), suas quantificações poderão fornecer importantes informações quanto à reduzida lignificação constatada nas condições descritas nesse trabalho.

4 CONCLUSÕES

- A elevação da temperatura provocou aumento no crescimento das raízes das plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, assim como aumento no processo de lignificação;
- A cultivar transgênica, CD 213RR apresentou melhor crescimento do sistema radicular e maior teor de lignina nas raízes, possível tolerância à condição de estresse de baixa temperatura, em comparação com sua parental OC 14.

REFERÊNCIAS

- ABREU, H. S. **Biossíntese da lignificação**. Rio de Janeiro: EDUR, 1994. 63 p.
- BOUDET, A. L. Lignins and lignification: selected issues. **Plant Physiology Biochemistry**, Paris, v. 38, n. 1/2, p. 81-96, 2000.
- BOUDET, A. L.; KAJITA, S.; GRIMA-PETTENATI, J.; GOFFNER, D. Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. **Trends in Plant Science**. Disponível em: <http://plants.trends.com>. Acesso em: ago. de 2003.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p., 2000.
- CHEN, M.; SOMMER, A. J.; MCCLURE, J. W. Fourier transform-IR determination of protein contamination in thioglycolic acid lignin from radish seedlings, and improved methods for extractive-free cell wall preparation. **Phytochemical Analysis**, Berlin, v. 11, p. 153-159, 2000.
- CVIKROVÁ, M. et al. Constitutive elevated accumulation of Phenylpropanoids in soybean roots at low temperature. **Plant Science**, The Netherlands, v. 163, p. 369-373, 2002.
- DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, The Netherlands, v. 7, p. 1085-1097, 1995.
- FERRARESE, M. L. **Absorção do ácido ferúlico e seus efeitos sobre componentes celulares e enzimas do metabolismo secundário em raízes de soja (Glycine max L.)**. 2000. 123p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.
- FERRARESE, M. L. L.; ZOTTIS, A.; FERRARESE-FILHO, O. Protein-free lignin quantification in soybean (Glycine max) roots. **Biologia Bratislava**, Bratislava, v. 57, n. 4, p. 541-543, 2002.
- HARRISON, L. A.; BAILEY, M. R.; NAYLOR, M.; REAM, J.; HAMMOND, D. L. The expressed protein in synthase in glyphosate-tolerant soybeans, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested and is not toxic to mice upon acute gavage administration. **The Journal of Nutrition**, Palo Alto, v. 128, p. 756-761, 1996.

JANAS, K. M.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A.; SZAFRANSKA, K.; POSMYK, M.M. Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoid in soybean roots at low temperature. **Plant Science**, The Netherlands, v. 163, p. 369-373, 2002.

JANAS, K. M.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A.; EDER, J. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 38, p. 587-593, 2000.

MATSUURA, M.; OBATA, A. Glucosidases from soybean hydrolyze daidzin and genistin. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, p. 144-147, 1993.

POLLE, A.; Otter, T.; Seifert, F. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 106, p. 53-60, 1994.

RODRIGUES, O., DIDONET, A. D.; LHAMBY, J. C. B.; BERTAGNOLLI, P. F.; LUZ, J. S. Resposta quantitativa do florescimento da soja à temperatura e fotoperíodo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 431-437, 2001.

SANTOS, W. D.; FERRARESE, M. L. L.; FINGER, A.; TEIXEIRA, A. C. N.; FERRARESE-FILHO, O. Lignification and related enzymes in soybean root growth-inhibition by ferulic acid. **Journal of Chemical Ecology**, The Netherlands, v. 30, p. 1199-1208, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 309-334.

ZABOTIN, A. I.; BARISHEVA, T. S.; ZABOTINA, O. L.; LARSKAYA, I. A. LOZOVAYA, V. V.; BELDMAN, G.; VORAGEN, A. G. J. Alterations of cell walls of winter wheat roots during low temperature acclimation. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 152, p. 473-479, 1998.

ZHANG, F.; SMITH, D. L. Effects of low root temperature on the early stages of symbiosis establishment between soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, p.1467-1473, 1994.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A 25°C, as plântulas das cultivares transgênicas resistentes ao glifosato (CD 213RR e CD 214RR) apresentaram maior crescimento longitudinal das raízes que as suas cultivares parentais (OC 14 e CD 201, respectivamente), , menores valores de biomassas das raízes, o que implica em menor crescimento do sistema radicular, o qual pode ser decorrente de maior lignificação das raízes. Esse maior teor de lignina na cultivar RR foi significativo apenas para o primeiro grupo em avaliação (CD 213RR e OC 14). No segundo grupo (CD 214RR e CD 201) não foi detectada diferença significativa. No entanto, estudos com outros tempos de incubação são interessantes e podem ajudar na elucidação dessa situação, já que em valores brutos, a cultivar CD 214RR apresentou maior valor de lignina na raiz, após quatro dias de incubação, em relação à CD 201.

Em relação às características de tegumento, as cultivares RR apresentaram maior teor de fenóis totais. Quanto ao teor de lignina, houve diferença somente entre CD 213RR e OC 14, no qual a cultivar RR apresentou menor teor de lignina no tegumento da semente. Observou-se, também, comportamento diferenciado dos materiais RR (CD 213RR e CD 214RR) avaliados frente à inserção do gene da variante da EPSP sintase. É possível que essa diferença de comportamento seja pela base genética destas cultivares. Dessa forma, -se estudos adicionais com outros materiais RR para melhor esclarecimento. Além disso, estudos com enzimas e/ou intermediários da via de fenilpropenóides poderão fortalecer esse entendimento.

O diagnóstico de que a cultivar CD 213RR apresenta menor teor de lignina no tegumento pode gerar maior susceptibilidade da semente ao dano mecânico, desta forma menor vigor. De fato, em trabalho ainda não-publicado foi encontrado que essa cultivar apresenta menor vigor das sementes do que a cultivar convencional OC 14.

Estudos comparativos dos teores de compostos fenólicos e suas relações com a lignificação em soja transgênica resistente ao glifosato (RR) e convencional não foram descritos, até o momento, na literatura. De qualquer

forma, pode-se supor que alterações ocorridas na via de fenilpropanóides, provocadas possivelmente pela inserção do gene que expressa a EPSP sintase, indicam o acúmulo, no tegumento, de fenóis totais livres não destinados, na sua totalidade, à síntese de lignina.

O estudo das cultivares, sob diferentes temperaturas, mostrou que na temperatura de 30°C houve incremento nos valores de biomassa do sistema radicular de plântulas de soja das duas cultivares CD 213RR e OC 14. A cultivar RR apresentou menor crescimento das raízes, o que pode ser decorrente de maior lignificação. Considerando os problemas ocasionados pelo efeito estufa, estudos com temperaturas mais altas que 32,5°C são interessantes e importantes para uma melhor caracterização do fenômeno de lignificação sob essas condições.

Quando as plântulas foram submetidas à baixa temperatura, observou-se que o crescimento do sistema radicular foi afetado negativamente. Em comparação com a cultivar transgênica, a CD 213RR apresentou melhor crescimento do sistema radicular e maior teor de lignina nas raízes, sob baixa temperatura, possível tolerância à condição de estresse de baixa temperatura, em comparação com sua parental OC 14.

APÊNDICES

APÊNDICES A
CAPÍTULO I

Tabela 1A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de comprimento relativo da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	19,3626172	6,4542057	17,54	< 0,0001
tempo	3	471,0395047	157,0131682	426,72	< 0,0001
Var xTempo	9	23,7774641	2,6419405	7,18	< 0,0001
Tratamentos	15	514,1795859	34,2786391	93,16	< 0,0001
Erro	48	17,6616250	0,3679505		
Total	63	531,8412109			

CV (%) = 9,63

Tabela 2A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa fresca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	0,04288583	0,01429528	45,38	< 0,0001
tempo	3	0,38009556	0,12669852	402,17	< 0,0001
Var xTempo	9	0,01774182	0,00197131	6,26	< 0,0001
Tratamentos	15	0,44072322	0,02938155	93,26	< 0,0001
Erro	48	0,01512172	0,00031504		
Total	63	0,45584493			

CV (%) = 9,68

Tabela 3A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa seca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	0,00007425	0,00002475	0,54	0,6566
tempo	3	0,00061852	0,00020617	4,51	0,0073
Var xTempo	9	0,00036722	0,00004080	0,89	0,5396
Tratamentos	15	0,00105998	0,00007067	1,54	0,1271
Erro	48	0,00219609	0,00004575		
Total	63	0,00325607			

CV (%) = 6,17

Tabela 4A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	99,6656797	33,2218932	21,49	< 0,0001
tempo	3	767,4660422	255,8220141	165,45	< 0,0001
Var xTempo	9	75,9996766	8,4444085	5,46	< 0,0001
Tratamentos	15	943,1313980	62,8754270	40,66	< 0,0001
Erro	48	74,2190250	1,5462300		
Total	63	1017,3504230			

CV (%) = 8,22

Tabela 5A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de lignina do tegumento de sementes de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	0,36072500	0,12024167	12,39	0,0006
Erro	12	0,11645000	0,00970417		
Total	15	0,47717500			

CV (%) = 3,96

Tabela 6A – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de determinação de fenóis totais do tegumento de sementes de soja, cultivares CD 213RR, CD 214RR, OC 14 e CD 201

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var	3	1,45211475	0,48403825	9,78	0,0015
Erro	12	0,59361300	0,04946775		
Total	15	2,04572775			

CV (%) = 8,59

APÊNDICES B
CAPÍTULO II

Tabela 1B – Análise de variância dos dados obtidos no experimento comprimento da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	2,117143	0,705714	0,476	0,7019
Variedade	1	17,101339	17,101339	11,545	0,0026
Var xTemp.	3	21,549018	7,183006	4,849	0,0097
Erro	22	32,587500	1,481250		
Total	29	73,355000			

CV (%) = 6,93

Tabela 2B – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/25°C	1	0,1800000	0,1800000	0,122	0,7307
Var/27,5°C	1	34,445000	34,445000	23,254	0,0001
Var/30°C	1	3,124286	3,124286	2,109	0,1605
Var/32,5°C	1	0,901071	0,901071	0,608	0,4437
Erro	22	32,587500	1,481250		

Tabela 3B – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	11,979286	3,993095	2,696	0,0698
Temp/CD 213RR	3	11,686875	3,895625	2,630	0,0745
Erro	22	32,587500	1,481250		

Tabela 4B – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de biomassa fresca de raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	0,019189	0,006396	5,454	0,0059
Variedade	1	0,026149	0,021490	22,297	0,0001
Var xTemp.	3	0,009826	0,003275	2,80	0,0495
Erro	22	0,025801	0,001173		
Total	29	0,080965			

CV (%) = 27,21

Tabela 5B – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/25°C	1	0,000685	0,000685	0,584	0,4530
Var/27,5°C	1	0,017298	0,017298	14,750	0,0009
Var/30°C	1	0,012901	0,012901	11,0	0,0031
Var/32,5°C	1	0,005092	0,005092	4,342	0,0490
Erro	22	0,025801	0,001173		

Tabela 6B – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa fresca de raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	0,011447	0,003816	3,253	0,0404
Temp/CD 213RR	3	0,017569	0,005856	4,933	0,0084
Erro	22	0,025801	0,001173		

Tabela 7B – Análise de variância dos dados obtidos no experimento biomassa seca de raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	0,000098	0,000033	4,402	0,0143
Variedade	1	0,000131	0,000131	17,729	0,0004
Var xTemp.	3	0,000096	0,000032	4,296	0,0157
Erro	22	0,000163	0,000007		
Total	29	0,000488			

CV (%) =24,77

Tabela 8B – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa seca de raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/25°C	1	0,000001	0,000001	0,067	0,7976
Var/27,5°C	1	0,000066	0,000066	8,916	0,0068
Var/30°C	1	0,000147	0,000147	19,777	0,0002
Var/32,5°C	1	0,000014	0,000014	1,856	0,1869
Erro	22	0,000163	0,000007		

Tabela 9B – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa seca de raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	0,000125	0,000042	5,630	0,0050
Temp/CD 213RR	3	0,000068	0,000023	3,067	0,0484
Erro	22	0,000163	0,000007		

Tabela 10B – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de teor de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	396,677859	132,225953	142,344	< 0,0001
Variedade	1	252,843828	252,843828	272,192	< 0,0001
Var xTemp.	3	14,770284	4,923428	5,300	0,0060
Erro	24	22,293975	0,928916		
Total	31	686,585947			

CV (%) = 3,82

Tabela 10B – Análise de variância dos dados obtidos no experimento de teor de lignina das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, sob diferentes temperaturas

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/25°C	1	85,6740	85,674	92,230	< 0,0001
Var/27,5°C	1	30,3810	30,3810	32,706	< 0,0001
Var/30°C	1	106,4340	106,4340	114,579	< 0,0001
Var/32,5°C	1	45,1250	45,125	48,578	< 0,0001
Erro	24	22,2939	0,928916		

Tabela 12B – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Teor de lignina de raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	230,6265	76,875500	82,758	< 0,0001
Temp/CD 213RR	3	180,8210	60,273800	64,886	< 0,0001
Erro	24	22,2939	0,928916		

APÊNDICES C
CAPÍTULO III

Tabela 1C – Análise de variância dos dados obtidos no experimento comprimento da raiz primária de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	461,228309	153,742770	1202,809	< 0,0001
Variedade	1	0,693253	0,693253	5,424	0,0286
Var xTemp.	3	4,156284	1,385428	10,839	< 0,0001
Erro	24	3,067675	0,127820		
Total	31	469,145522			

CV (%) = 6,28

Tabela 2C – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/10°C	1	0,016200	0,016200	0,127	0,7249
Var/15°C	1	0,324012	0,324012	2,535	0,1244
Var/20°C	1	0,877813	0,877813	6,868	0,0150
Var/25°C	1	3,631512	3,631512	28,411	< 0,0001
Erro	24	3,067675	0,127820		

Tabela 3C – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Comprimento da raiz primária de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	215,752025	71,917342	562,646	< 0,0001
Temp/CD 213RR	3	249,632569	83,210856	651,001	< 0,0001
Erro	24	3,067675	0,127820		

Tabela 4C – Análise de variância dos dados obtidos de biomassa fresca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	0,176132	0,058711	359,399	< 0,0001
Variedade	1	0,001188	0,001188	7,273	0,0126
Var xTemp.	3	0,001718	0,000573	3,504	0,0308
Erro	24	0,003921	0,000163		
Total	31	0,182959			

CV (%) = 8,29

Tabela 5C – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa fresca das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/10°C	1	0,001225	0,001225	7,498	0,0115
Var/15°C	1	0,000761	0,000761	4,655	0,0412
Var/20°C	1	0,000325	0,000325	1,990	0,1712
Var/25°C	1	0,000595	0,000595	3,642	0,0684
Erro	24	0,003921	0,000163		

Tabela 6C – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa fresca das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	0,091001	0,030334	185,658	< 0,0001
Temp/CD 213RR	3	0,086849	0,028950	177,186	< 0,0001
Erro	24	0,003921	0,000163		

Tabela 7C – Análise de variância dos dados obtidos de biomassa seca das raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	0,000268	0,000089	254,288	< 0,0001
Variedade	1	0,000010	0,000010	28,205	< 0,0001
Var xTemp.	3	0,000006	0,000002	5,347	0,0058
Erro	24	0,000008	$3,51 \times 10^{-7}$		
Total	31	0,000292			

CV (%) =6,65

Tabela 8C – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Biomassa seca das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/10°C	1	0,000008	0,000008	21,664	0,0001
Var/15°C	1	0,000005	0,000005	13,250	0,0013
Var/20°C	1	0,000000	0,000000	0,431	0,5178
Var/25°C	1	0,000003	0,000003	8,902	0,0065
Erro	24	0,000008	$3,51 \times 10^{-7}$		

Tabela 9C – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Biomassa seca das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	0,000151	0,000050	143,043	< 0,0001
Temp/CD 213RR	3	0,000123	0,000041	116,593	< 0,0001
Erro	24	0,000008	$3,51 \times 10^{-7}$		

Tabela 10C – Análise de variância dos dados obtidos do teor de lignina em raízes de plântulas de soja, cultivares CD 213RR e OC 14, aclimatadas sob baixa temperatura

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temperatura	3	78,708584	26,236190	15,59709	< 0,0001
Variedade	1	81,376903	81,376903	48,37800	< 0,0001
Var xTemp,	3	106,679909	35,559970	21,13900	< 0,0001
Erro	24	40,370425	1,682121		
Total	31	307,135822			

CV (%) =7,66

Tabela 11C – Desdobramento de Variedade dentro de cada nível de temperatura, Variável: Teor de lignina das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Var/10°C	1	18,727200	18,727200	11,133	0,0028
Var/15°C	1	13,107200	13,107200	7,792	0,0101
Var/20°C	1	11,712800	11,712800	6,963	0,0144
Var/25°C	1	44,509600	44,509600	26,461	< 0,0001
Erro	24	40,370425	1,682121		

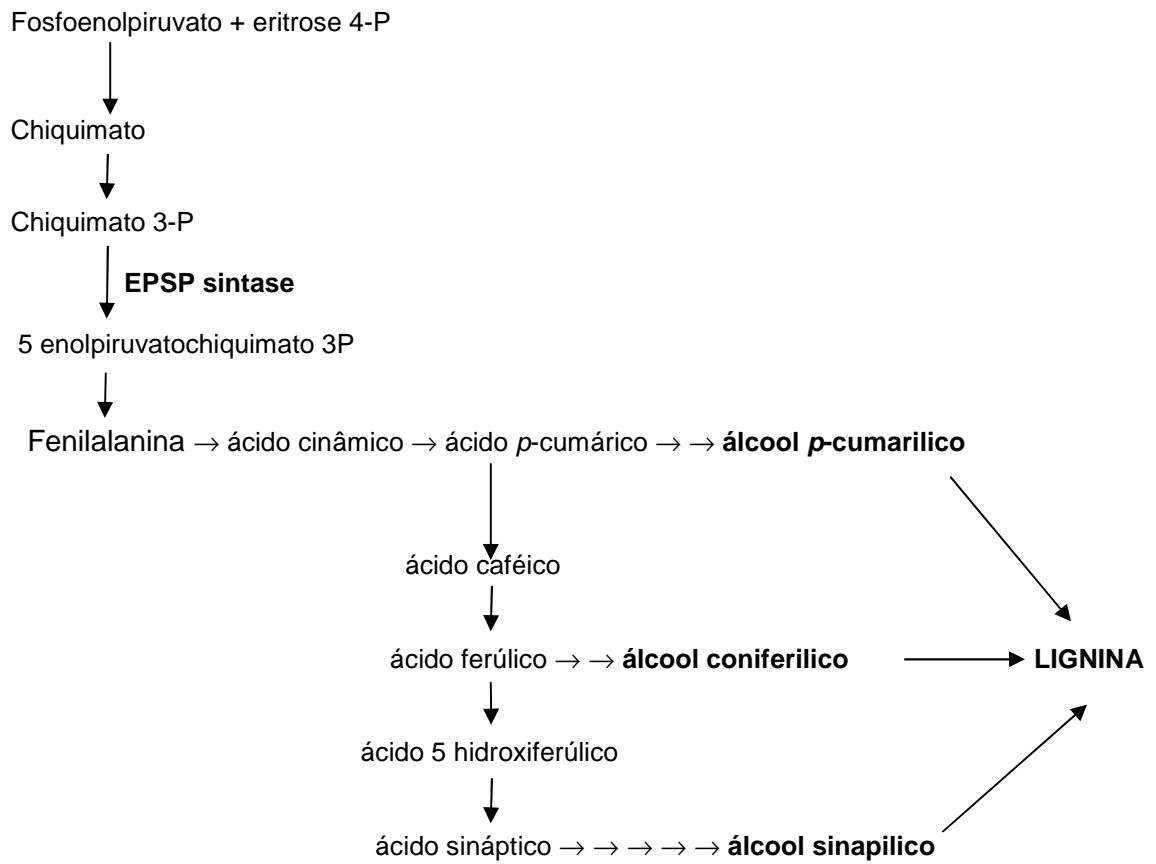
Tabela 12C – Desdobramento de Temperatura dentro de cada Variedade, Variável: Teor de lignina das raízes de plântulas de soja

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Temp/OC 14	3	72,156269	24,052090	14,299	< 0,0001
Temp/CD 213RR	3	113,232250	37,744075	22,439	< 0,0001
Erro	24	40,370425	1,682121		

ANEXOS

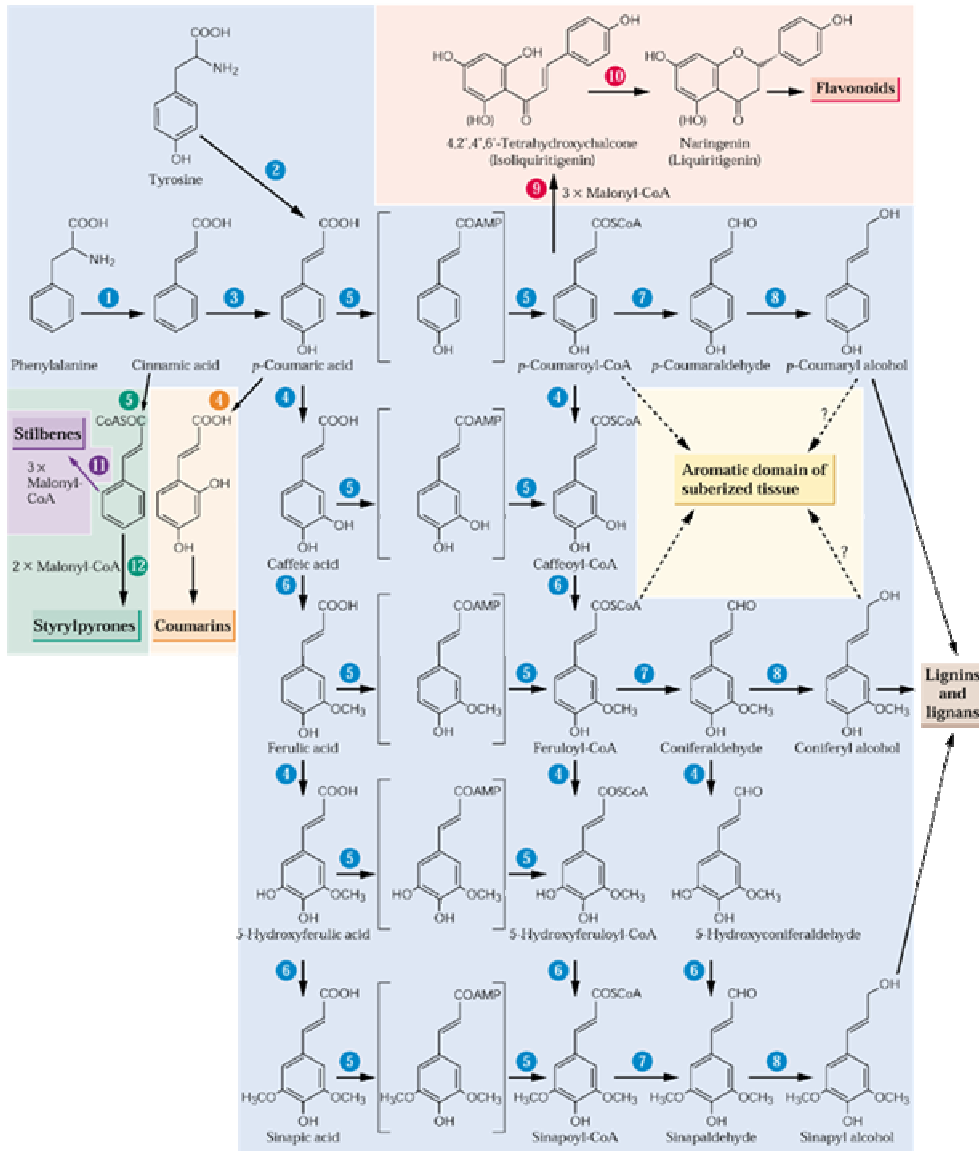
ANEXO A

PARTE DA VIA METABÓLICA DO CHIQUIMATO E FENILPROPENÓIDES. BIOSSÍNTESE DE LIGNINA (EM NEGRITO, MONOLIGNOIS)



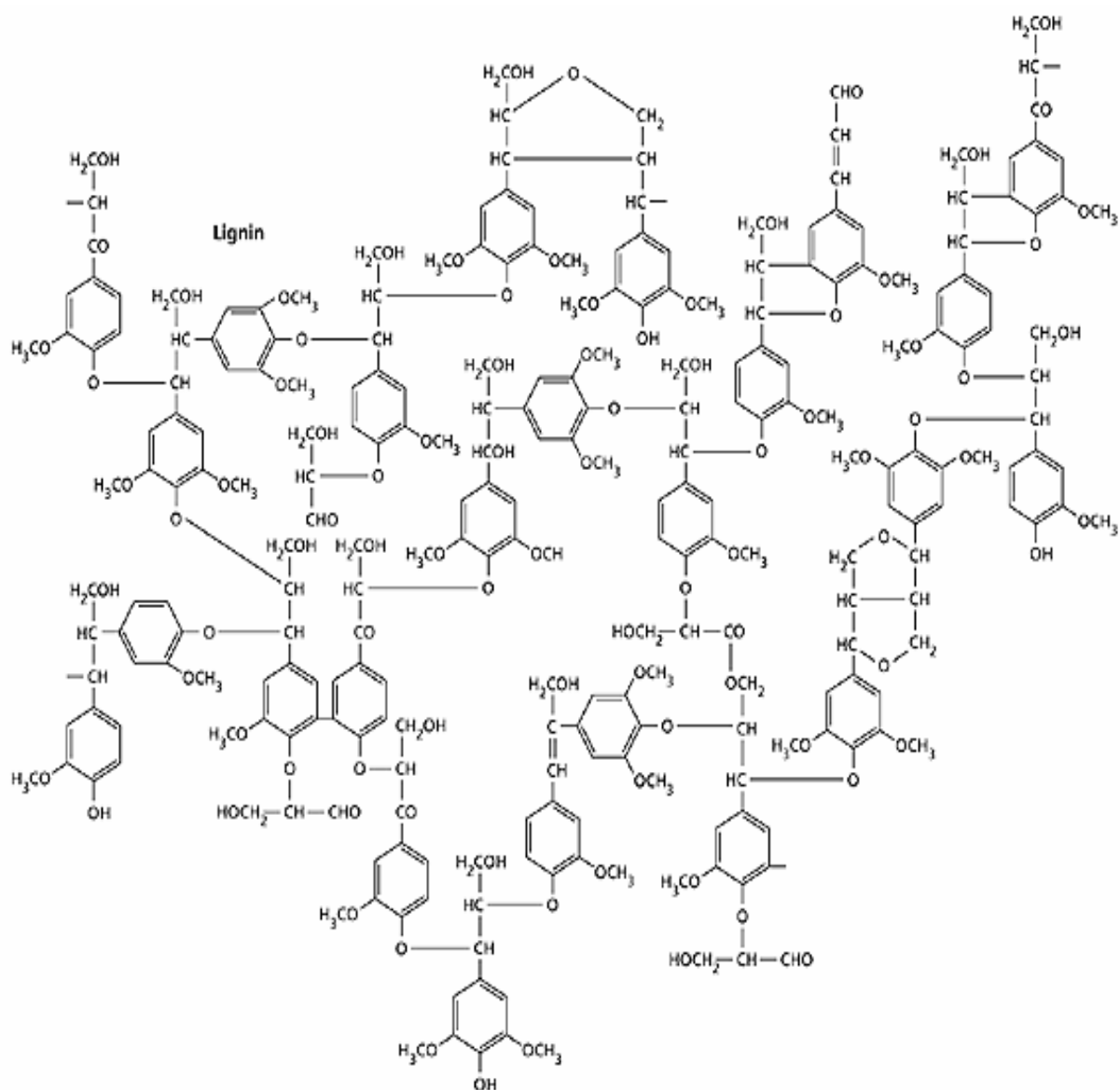
ANEXO B

VIA METABÓLICA DOS FENILPROPENÓIDES (BUCHANAN et al., 2000)

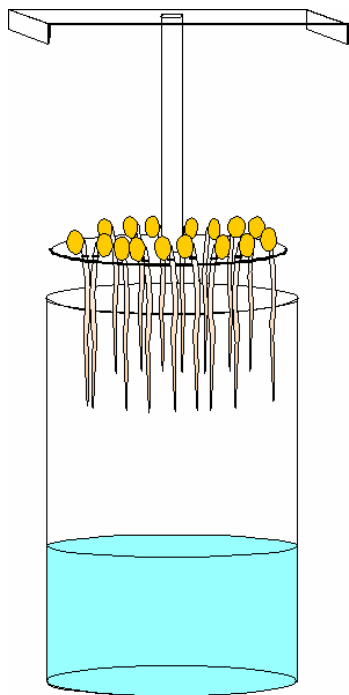


ANEXO C

ESTRUTURA QUÍMICA DETALHADA DE UMA MOLÉCULA DE LIGNINA.
AS UNIDADES DE FENILPROPENÓIDES NÃO SE ENCONTRAM LIGADAS
DE FORMA SIMPLES E DE UMA ÚNICA MANEIRA (TAIZ; ZEIGER, 1998).



ANEXO D
MODELO DO SISTEMA EXPERIMENTAL DESENVOLVIDO NO
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA VEGETAL, UEM, MARINGÁ, PARANÁ



Desenho: Wanderley Dantas dos Santos

ANEXO E

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOLUÇÃO NUTRITIVA UTILIZADA NO SISTEMA EXPERIMENTAL, ADAPTADO PELO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA VEGETAL, UEM. SOLUÇÃO NUTRITIVA DE HOAGLAND E ARNON (1950) MEIA-FORÇA

Soluções estoque	Quantidade do sal por litro de solução estoque (g)	Quantidade da solução estoque por litro de solução nutritiva (mL)
Macronutrientes:		
KH_2PO_4	136,0	1
KNO_3	101,0	5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,0	5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,5	2
Micronutrientes:	*	1
Fe-EDTA	**	1

* Preparo da solução de micronutrientes: 2,86 g de H_3BO_3 ; 1,81 g de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,22 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,08 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 0,02 g de H_2S ; $\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dissolvidos em um litro de água deionizada.

** Preparo da solução de Fe-EDTA: as soluções de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 26,1 g de EDTA foram dissolvidas em água deionizada sob aquecimento a 50°C. Em seguida, as duas soluções foram misturadas completando o volume para um litro com água deionizada. Para armazenamento, utilizou-se um frasco de vidro escuro, e a solução foi mantida em geladeira.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)