

CARACTERÍSTICAS MORFOANATÔMICAS FOLIARES DE DOIS CULTIVARES TRANSGÊNICOS DE SOJA

CHARACTERISTICS MORPHOANATOMIC LEAF DRY MATTER OF TWO SOYBEAN VARIETIES TRANSGENICS

PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO

UNESP – Universidade Estadual Paulista, Dracena – SP.

lisboa@dracena.unesp.br

RONALDO DA SILVA VIANA

FATEC – Faculdade Tecnológica de São Paulo, Araçatuba – SP.

lisboa@dracena.unesp.br

LUCAS APARECIDO MANZANI LISBOA

UNESP – Universidade Estadual Paulista, Dracena – SP.

lisboa@dracena.unesp.br

SÉRGIO BISPO RAMOS

UNESP – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP.

lisboa@dracena.unesp.br

MURILO MAZZANTE MACHADO

Etec - Escola Técnica Estadual de São Paulo, Dracena – SP.

lisboa@dracena.unesp.br

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar as diferenças morfoanatômicas de folhas de duas variedades de soja. O experimento foi instalado e conduzido no campo experimental da ETEC Profa. Carmelina Barbosa, em Dracena-SP. Em relação ao período de cultivo, condução e colheita, a partir de novembro de 2010 a abril de 2011, com delineamento experimental foi em blocos casualizados (RBD), com dois tratamentos: variedades de soja Coodetec - CD219 RR e BMX - Potencia RR, com dez repetições. Foram coletados fragmentos de folhas na fase de floração integral da lavoura que recebeu os procedimentos pertinentes à desidratação, diafanização, inclusão e de emblocagem para análise morfoanatômicas no laboratório. Foram medidos os seguintes parâmetros quantitativos nas folhas - Espessura limbo, espessura da epiderme da face inferior ou abaxial, espessura da epiderme da face superior ou adaxial, espessura do esclerênquima, espessura do parênquima lacunoso, espessura do parênquima paliádico, espessura do mesofilo, o diâmetro dos vasos floemático e diâmetro dos vasos xilemático. Observou-se que a variedade de soja Coodetec CD219-RR mostrou melhor desenvolvimento das características da folha.

Palavras-chave: Morfologia. Tecidos. *Glycine max*.

Abstract: The aim of this study was to evaluate differences morpho-anatomical leaves of two soybean varieties. The experiment was conducted and the experimental field of ETEC Prof. Carmelina Barbosa in Dracena-SP. Regarding the cultivation, harvesting and driving, from November 2010 to April 2011, an experimental design was a randomized block design (RBD) with two treatments: soybean varieties Coodetec - RR CD219 and BMX - Power RR, with ten repetitions. Fragments of leaves were collected at the stage of full flowering of the crop that received relevant to dehydration, diafanization inclusion and emblocagem morphoanatomic for laboratory analysis procedures. The following quantitative parameters were measured in the leaves - limbo thickness, thickness of the epidermis of the lower, epidermal thickness of the upper or surface, thickness of sclerenchyma, spongy parenchyma thickness, thickness of palisade parenchyma, mesophyll thickness, diameter of floematic and diameter of xylem vessels. It was observed that the soybean variety Coodetec RR-CD219 showed better development of character sheet.

Key-words: Morphology. Tissues. *Glycine max*.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma oleaginosa originária da Ásia Oriental e no Brasil foi introduzida no Estado da Bahia em 1882. Contudo, em função das condições edafoclimáticas foi cultivada com objetivos comerciais a partir do final da década de 1960 no Rio Grande do Sul (BRUM, 2002; EMBRAPA, 2004). No País, a soja é a cultura que mais cresceu nas últimas décadas, sendo hoje responsável por aproximadamente 50% da área plantada de grãos. O aumento de sua produção está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo cultural e melhor eficiência dos produtores rurais (MAPA, 2012).

Nesse contexto, está inserido o plantio de culturas geneticamente modificadas, uma realidade brasileira que atualmente ocupa aproximadamente 82,7% das áreas cultivadas com soja (ABRATES, 2012). As diversas atuações do melhoramento genético nas culturas agrícolas visam à tolerância destes materiais aos herbicidas, resistência a insetos e maior produtividade agrícola e tecnológica, com previsão de expansão dessas novas tecnologias em outras áreas da agricultura.

Sua importância reside no fato de ser uma das principais e mais baratas fontes de proteína e óleo vegetal para a segurança alimentar, pois juntamente com o milho formam a base da formulação de rações para a alimentação de aves, suínos e bovinos. Também, em razão dos avanços na indústria de alimentação humana, são utilizados na formulação de vários alimentos (PAULA; FAVERET FILHO, 1998; COSTA; BRUM, 2008).

Entre as vantagens destes alimentos transgênicos estão a maior produtividade e melhor composição nutricional; aumento na absorção de nutrientes e tolerância aos estresses relacionados a fatores abióticos como seca, calor, salinidade e toxicidade de alumínio (FERREIRA, 2009).

Entre os argumentos contrários destaca-se a complexidade dos genes que poderiam expressar características que não foram previstas, prejudicando a saúde humana. Outro efeito refere-se à resistência das plantas transgênicas que poderia inibir o crescimento de plantas nativas, afetando assim a biodiversidade. Algumas espécies de plantas transgênicas se podem se comportar como daninhas; além da ocorrência de possíveis cruzamentos entre organismos comuns, produzindo dessa forma, indivíduos mutantes (GREENPEACE, 2007).

A combinação de técnicas de biologia molecular, assim como a transferência exógena de genes representa uma ferramenta poderosa para introduzir novas características em uma determinada planta (GANDER et al., 1996). Nesse sentido, o conhecimento das modificações morfoanatômicas das espécies vegetais, em função de algum procedimento ou alterações genéticas, pode auxiliar os pesquisadores no aprimoramento e desenvolvimento dos tecidos vegetais, a fim de maximizar suas ações na planta.

É importante salientar que as alterações visíveis a olho nu são derivadas de modificações das estruturas dos tecidos dérmicos, fundamentais e vasculares das plantas, tornando-se necessário o conhecimento aprofundado destas transformações motivadas pelas variações do meio ou da natureza de cultivares (CASTRO et al., 2009).

Em função do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características morfoanatômicas foliares de dois cultivares transgênicos de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo experimental da ETEC Profa. Carmelina Barbosa, em Dracena-SP, durante os meses de novembro de 2010 a abril de 2011. O delineamento experimental utilizado foi em Blocos Casualizados (DBC), com dois tratamentos, ou seja, dois cultivares de soja transgênica: Coodetec-CD 219 RR e BMX-Potência RR. Foram consideradas 10 plantas de cada parcela como repetições.

Cada parcela continha de área útil 10m x 10m, totalizando 100 m². Antes do plantio da soja, foi realizada a dessecação do capim *Brachiaria decumbens* com glifosato na dosagem

de 5 L ha⁻¹, sendo o volume de calda utilizado de 250 L ha⁻¹. Segundo a análise química do solo, não foi necessária a aplicação de calcário.

O solo predominante no local é o Argissolo (EMBRAPA, 2006). Após 20 dias da secagem da palhada foi realizada a semeadura, respeitando a quantidade de 20 sementes por metro linear, compondo um stand de 320.000 plantas por hectare. As sementes apresentavam um poder germinativo de 80% e na adubação de plantio foram aplicados 200 Kg ha⁻¹ de adubo na formulação 00-20-20, segundo Raij et. al, 1996.

Foram realizadas as adubações de cobertura com 66,5 Kg ha⁻¹ de cloreto de potássio nos estágios de desenvolvimento V.3 – V.4 e V.5 da planta. Nos estágios V.7 ao V.9 foi realizado o controle fitossanitário contra a ferrugem asiática da soja com fungicida Piraclostrobina / Epoxiconazol na dosagem de 0,5 L ha⁻¹ + Óleo Mineral 0,5 L ha⁻¹. Para controle do percevejo verde foi utilizado o produto Metamidofos na dosagem de 0,7 L ha⁻¹.

Aos sessenta dias após o plantio foram retirados 10 (dez) fragmentos de folhas distintas coletadas de forma aleatória em diferentes pontos da parcela experimental. Cada fragmento possuía em média 5 cm de comprimento, retirados da parte central do limbo. As amostras foram enviadas para o Laboratório de Morfofisiologia Vegetal e Forragicultura da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Experimental de Dracena – SP. Todo material coletado foi fixado em solução F.A.A. 70 (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 70% na proporção de 1,0:1,0:18,0 – V/V). Após 24 horas, foram lavados em etanol 70% e armazenados em etanol 70% até a data de realização das análises, segundo Kraus e Arduim (1997).

Todos os fragmentos de tecidos vegetais receberam os procedimentos pertinentes à desidratação, diafanização, inclusão e emblocagem. Com auxílio de um micrótomo de mesa Leica, contendo lâmina de aço, foram realizadas secções transversais de 8 µm em cada fragmento foliar emblocado. Para a montagem das lâminas histológicas foi escolhida a primeira secção que apresentou o material mais preservado, ou seja, sem danos ou injúrias provocados pelo corte nos tecidos vegetais. Todas as secções escolhidas foram fixadas com adesivo de Mayer (GATEMBY; PAINTER, 1937), coradas com safranina a 1% e montadas em lâminas e lamínulas com adesivo Entellan. Todas as lâminas foram observadas em microscópio óptico Leica, com uma câmera acoplada para realização das fotografias dos cortes. As fotos foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos por meio do programa de análise de imagens QWin, calibrado com régua microscópica nos mesmos aumentos das fotografias, segundo metodologia descrita por Pereira et al. (2008).

As características morfoanatômicas avaliadas nas folhas foram: espessura do limbo (EL), espessura da epiderme da face inferior ou abaxial (EAB), espessura da epiderme da face superior ou adaxial (EAD), espessura do esclerênquima (EE), espessura do parênquima lacunoso (EPL), espessura do parênquima paliçádico (EPP), espessura do mesofilo (EM), diâmetro dos vasos floemáticos (DF) e diâmetro dos vasos xilemáticos (DX), conforme ilustrado na figura 1, de acordo com Carlquist (1975). Para a característica DX foram realizadas 2 (duas) medições; e para as demais foram realizadas 10 medições por lâmina. Todas as parcelas foram representadas pelo valor médio obtido para cada característica.

As variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$) sendo utilizado o programa Assistat 7.6 Beta (SILVA; AZEVEDO, 2002).

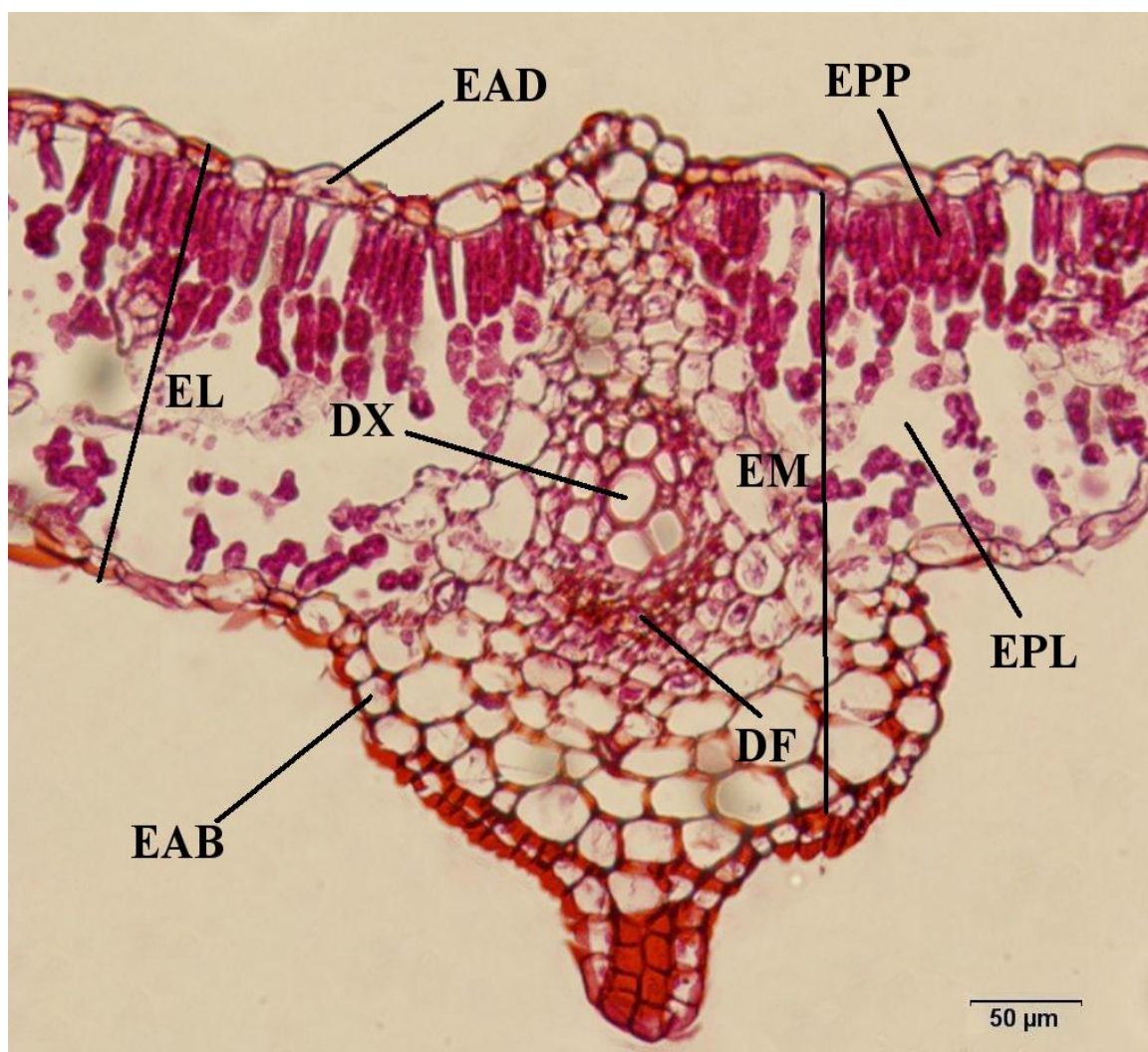


Figura 1: Secção transversal de folha da soja (*Glycine max*), evidenciando os tecidos: espessura do limbo (EL), espessura da epiderme da face inferior ou abaxial (EAB), espessura da epiderme da face superior ou adaxial (EAD), espessura do esclerênquima (EE), espessura do parênquima lacunoso (EPL), espessura do parênquima paliçádico (EPP), espessura do mesofilo (EM), diâmetro dos vasos floemáticos (DF) e diâmetro dos vasos xilemáticos (DX). Dracena-SP, 2013.

Fonte: Autores, 2013.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cultivar Coodetec-CD219 RR apresentou valores médios superiores quando comparada com o cultivar BMX Potência RR para as características foliares espessura do limbo (EL), espessura da epiderme da face inferior ou abaxial (EAB) e espessura da epiderme da face superior ou adaxial (EAD). A epiderme é um tecido especializado de proteção ao mesofilo e representa um papel vital para as plantas. É revestida por uma cutícula composta por cutina e ceras, cujas funções especiais são evitar a perda de água por toda superfície da lâmina foliar e exercer uma barreira à entrada de patógenos (STANGARLIN et al., 2011).

O conhecimento das espessuras desses tecidos foliares pode ajudar no dimensionamento da atividade metabólica da planta, uma vez que a parte fotossinteticamente ativa está presente no mesofilo. A espessura das epidermes, assim como suas composições, pode facilitar ou dificultar a ação de agentes patogênicos e insetos, assim como influenciar na ação efetiva de produtos defensivos. Outra importante função da epiderme é evitar a predação por insetos e outros animais (CASTRO et al., 2009).

O cultivar Coodetec - CD219 RR também apresentou valores médios maiores em relação à espessura do parênquima paliçádico (EPP) quando comparada ao cultivar BMX-Potência RR, embora o mesmo não tenha sido observado nas variáveis espessura do parênquima lacunoso (EPL) e espessura do mesofilo (EM), que se mostraram estatisticamente iguais entre os cultivares, conforme demonstrado na Tabela 1.

O parênquima paliçádico é o principal tecido responsável pela fotossíntese de plantas vasculares, portanto as alterações em sua espessura podem influenciar na quantidade ou qualidade das substâncias produzidas, interferindo diretamente na produtividade das culturas (CASTRO et al., 2009).

O aumento da espessura da lâmina foliar, ou mesofilo, está ligado ao maior desenvolvimento dos tecidos fotossintéticos e dos espaços intercelulares. As células colunares do parênquima paliçádico, típicas de folhas mais espessas, agem como condutoras de luz, que é propagada e distribuída para as camadas mais profundas do mesofilo, aumentando dessa forma sua eficiência e absorção pelos cloroplastos (SMITH et al., 1997). Segundo Meziane e Shipley (1999), alterações na espessura da epiderme, no volume das células mesofílicas, número de camadas de mesofilo, quantidade de espaços intercelulares no mesofilo, espessura das nervuras ou espessura da parede celular, podem promover modificações na espessura da folha.

Tabela 1: Características morfoanatômicas da folha: espessura do limbo (EL), espessura da epiderme da face inferior ou abaxial (EAB), espessura da epiderme da face superior ou adaxial (EAD), espessura do esclerênquima (EE), espessura do parênquima lacunoso (EPL), espessura do parênquima paliçádico (EPP), espessura do mesofilo (EM), diâmetro dos vasos floemáticos (DF) e diâmetro dos vasos xilemáticos (DX). Dracena – SP, 2013

	BMX-Potência RR	Coodetec- D219 RR	F	DMS	C.V. (%)
Características	 (µm)				
EL	151,16 b	161,47 a	13,25	7,95	15,29
EAB	9,98 b	10,83 a	9,05	0,57	10,71
EAD	12,19 b	13,5 a	15,90	0,65	10,03
EE	21,57 b	25,32 a	20,61	1,65	13,85
EPL	64,53 a	62,62 a	0,39	6,14	19,01
EPP	64,24 b	69,57 a	6,00	4,35	12,80
EM	127,97 a	133,12 a	2,38	7,09	10,69
DF	4,47 b	4,93 a	5,85	0,38	15,77
DX	14,04 b	18,11 a	18,32	1,91	23,33

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Autores, 2013.

O cultivar Coodetec-CD219 RR, apresentou melhor desenvolvimento para a característica morfoanatômica espessura do esclerênquima (EE) quando comparado com o cultivar BMX-Potência RR, segundo indicado na Tabela 1. A espessura do esclerênquima, dentro de limites aceitáveis, proporciona ao vegetal maior resistência em relação aos fatores bióticos e abióticos, no sentido de preservar a estrutura celular, em função da presença de fibras e células lignificadas (LISBOA et al., 2013).

Observou-se também que o diâmetro dos vasos floemáticos (DF) e diâmetro dos vasos xilemáticos (DX) tiveram resultados significativamente superiores para o cultivar Coodetec-CD219 RR, também de acordo com a Tabela 1. O xilema tem como função principal o transporte ascendente de nutrientes e água, sendo este movimento regulado pela transpiração. Portanto, a variação de seu diâmetro pode interferir no melhor abastecimento das diversas partes da planta. O floema transporta além da água, carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e nutrientes em várias direções. Por isso, o aumento de suas dimensões anatômicas é fundamental para essa função, contribuindo dessa forma, para um maior transporte de assimilados aos locais definitivos (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Alves e Angyalossy-Alfonso (2000) afirmam que os fatores ambientais afetam as dimensões e o arranjo dos elementos vasculares de forma positiva, na tentativa de garantir um aumento na segurança do transporte, principalmente quando a planta está sujeita a algum tipo de estresse. A busca por genótipos com maior potencial produtivo faz com que o melhoramento genético das plantas uniformize as culturas, contribuindo para o aumento da pressão de seleção sobre as populações de patógenos e acelerando seu processo evolutivo (MATIELLO et al., 1997).

4. CONCLUSÕES

O cultivar Coodetec-CD219 RR apresentou maiores dimensões morfoanatômicas foliares, quando comparada com o cultivar BMX-Potência RR.

5. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE SEMENTES - ABRATES. **Brasil tem novo recorde na adoção de lavouras transgênica**. 2012. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/portal/noticias/132-brasil-tem-novo-recorde-na-adocao-de-lavouras-transgenicas>>. Acesso em: 16 de novembro de 2012.

ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the Wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **IAWA Jornal**, Amsterdam, v. 21, p. 03-30, 2000.

BRUM, A. L. **A economia mundial da soja: impactos na cadeia produtiva da oleaginosa no Rio Grande do Sul (1970-2000)**. Ijuí: Unijuí. 2002.

CARLQUIST, S. Ecological strategies of xylem evolution. Berkeley: **University of California Press**, 1975.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009.

COSTA, N. L.; BRUM, A. L. Aspectos recentes da economia da soja no Brasil. In: BRUM, A. L.; MÜLLER, P. K. (Eds.). **Aspectos do agronegócio no Brasil**. Ijuí: Unijuí, 2008. p. 197-223.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2006.



EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Paraná: 2005**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. (Sistemas de Produção, n. 5).

FERREIRA, J. G. Técnicas de engenharia genética para produção de transgênicos. **Revista Saúde e Ambiente**, Duque de Caxias, v. 4, n. 2, p. 40-46, jul./dez. 2009.

GANDER, E. S.; MARCELLINO, L. H.; ZUMSTEIN, P. **Biotecnologia para pedestres**. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 66 p.

GATEMBY, J. B.; PAINTER, T. S. (Ed). **The microtomist's vademecum: a handbook of the methods of animal and plant microscopic anatomy**. 10. ed. London: J & A. Churchill, 1937.

GREENPACE, Brasil. **O que há de errado com os transgênicos?** São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.greenpeace.org.br>>. Acesso: 05 de março de 2011.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica (RJ): UFRRJ, 1997.

LISBOA, L. A. M. et al. Modificações morfoanatômicas foliares da cana de açúcar em função de estratégias de aplicação de herbicidas. **STAB**, Piracicaba, v. 31, p. 33-36, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultura da soja**. 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em: 16 de novembro de 2012.

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas amoléstias fúngicas. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 27, n.1, 1997.

MEZIANE, D.; SHIPLEY, B. Interacting determinants of specific leaf área in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. **Plant, Cell and Environment**, v.22, p. 447-459, 1999.

PAULA, S. R.; FAVERET, P. **Panorama do Complexo da Soja**. [S.l.]: BNDES, 2000. 14 p.

PEREIRA, F. J. et al. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p.1649-1656, 2008.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C.. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: IAC, 1996. (Boletim Técnico, 100).

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n.1, p. 71-78, 2002.

SMITH, W. K. et al. Leaf form and photosynthesis: Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide. **Bioscience**, v. 47, n.11, p.785-793, 1997.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n.1, 2011, p. 18-46.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.