

EVANDER ALVES FERREIRA

**ANATOMIA QUANTITATIVA, MICROMORFOLOGIA E
SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM GENÓTIPOS DE
CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-graduação
em Botânica, para a obtenção do título de
“*Magister Scientiae*”.

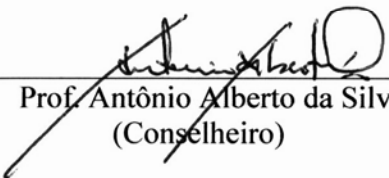
VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2005

EVANDER ALVES FERREIRA

**ANATOMIA QUANTITATIVA, MICROMORFOLOGIA E
SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM GENÓTIPOS DE
CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de "*Magister Scientiae*".


APROVADA: 18 de fevereiro de 2005.


Prof. Antônio Alberto da Silva
(Conselheiro)


Prof. Márcio Henrique P. Barbosa
(Conselheiro)


Prof. Eldo Antonio Monteiro da Silva


Prof. Antônio Jacinto Demuner


Prof.ª Marília Contin Ventrella
(Orientadora)

*A memória dos amigos Márcio Aloísio
Maciel e Tadeu Wilson Barbosa de Paiva,
que se encontram vivos em nosso
coração.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Eldo Antônio Monteiro da Silva, pelos ensinamentos e sobretudo pela amizade.

Aos professores Antônio Alberto da Silva e Márcio Henrique Pereira Barbosa, pelos conselhos e sugestões.

Ao Professor Antônio Jacinto Demuner, pela ajuda valiosa e sugestões.

À professora Claudia Vanetti, pela realização da microscopia eletrônica de varredura.

Aos professores Marco Oliva Cano e Acelino Couto Alfenas pela oportunidade do uso dos aparelhos nos laboratórios de Unidade de Crescimento de Plantas e Patologia Florestal.

Ao professor Wagner Otoni, pela grande amizade.

Às professoras Aristéa Alves de Azevedo e Renata Meira pela convivência e aprendizado.

Ao professor Cosme Damião Cruz pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos amigos Sérgio de Oliveira Procópio e José Barbosa dos Santos pelo apoio e incentivo.

Aos técnicos Rogério e Mercês da Fisiologia Vegetal pelo auxílio na extração das ceras epicuticulares.

Ao técnico Luiz Henrique do Laboratório de Herbicidas pela valiosa ajuda e pela amizade.

Ao técnico José Luiz do LASA pelo auxílio nos cromatogramas.

Às técnicas Rosane, Zilda e Vânia por me ensinarem tudo que eu necessitava saber no Laboratório de Anatomia Vegetal.

Aos amigos e colegas de curso Ana Lúcia, Maria Luiza, Niwton, Leo, Cátia, Ivone, Camila, Ana Cláudia, Juliana Passos e Lourdes Iarema pela convivência e amizade.

Aos amigos Edson, Ana Hermelinda e Vitor pela ajuda e amizade.

Aos amigos e funcionários do R.U. Vicente e Ailton e ao Toninho funcionário da biblioteca, pela disponibilidade demonstrada.

Aos meus pais Verônica Alves Ferreira, Euclides José Ferreira e meus irmãos Eraclides Maria Ferreira, Elivelton Alves Ferreira, Elisa Aparecida Ferreira e Manoel Alves pelo apoio nos momentos difíceis.

BIOGRAFIA

EVANDER ALVES FERREIRA, filho de Verônica Alves Ferreira e Euclides José Ferreira, nasceu em Silveirânia, Estado de Minas Gerais, no dia 30 de Agosto de 1973.

Em março de 2003, graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. No mesmo mês, iniciou o curso de Mestrado em Botânica na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, submetendo-se à defesa de tese em 18 de fevereiro de 2005.

ÍNDICE

<i>RESUMO</i>	viii
<i>ABSTRACT</i>	x
<i>1. INTRODUÇÃO GERAL</i>	01
1.1 Literatura Citada.....	06
<i>2. SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR À MISTURA TRIFLOXYSULFURON-SODIUM + AMETRYN</i>	08
2.1 Resumo.....	08
2.2 Abstract	09
2.3 Introdução.....	10
2.4 Material e Métodos.....	12
2.5 Resultados e Discussão.....	14
2.6 Literatura Citada.....	19
2.7 Figuras e tabelas.....	21
<i>3. ANATOMIA QUANTITATIVA DA LÂMINA FOLIAR DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR</i>	27
3.1 Resumo.....	27
3.2 Abstract	28
3.3 Introdução.....	29
3.4 Material e Métodos.....	32
3.5 Resultados e Discussão.....	35
3.5.1 Análise univariada.....	35
3.5.2 Análise multivariada.....	40
3.6 Literatura Citada.....	43
3.7 Figuras e tabelas.....	46
<i>4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA CERA EPICUTICULAR E CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE FOLIAR EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR</i>	53
4.1 Resumo.....	53
4.2 Abstract	54
4.3 Introdução.....	55
4.4 Material e Métodos.....	57
4.5 Resultados e Discussão.....	60
4.5.1 Composição química da cera epicuticular.....	60
4.5.2 Caracterização da superfície foliar.....	64

4.6 Literatura Citada.....	67
4.7 Figuras e tabelas.....	69
5. <i>CONSIDERAÇÕES FINAIS</i>	73
6. <i>CONCLUSÃO</i>	73

RESUMO

FERREIRA, Evander Alves, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005. **ANATOMIA, MICROMORFOLOGIA E SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR.** Orientadora: Marília Contin Ventrella. Conselheiros: Antônio Alberto da Silva e Márcio Henrique Pereira Barbosa.

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a sensibilidade à mistura de herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn nos cultivares e clones de cana-de-açúcar SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454, RB855536, RB947643, RB855002, RB957712 e RB957689 e a caracterização anatômica, química e micromorfológica dos cultivares RB855113, SP80-1842, SP80-1816, RB867515 e do clone RB957689 visando melhor entendimento sobre as barreiras que cada material impõe à penetração de herbicidas. O trabalho foi dividido em duas partes. A primeira parte dividida em dois ensaios. No ensaio 1, a mistura herbicida foi aplicada em dose única de 2,00 kg ha⁻¹ sobre todos os cultivares e clones, enquanto no ensaio 2, esta foi aplicada nas doses de 1,00; 2,00; e 6,00 kg ha⁻¹ sobre os cultivares RB855113 e RB867515. Em ambos os ensaios, a partir da aplicação do herbicida, em intervalos semanais, foram feitas avaliações do índice de toxidez (% de fitotoxicidade) e, por ocasião da colheita, realizada aos 45 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos), avaliou-se, ainda, a biomassa seca da parte aérea dos 11 cultivares e dos quatro clones. As variáveis altura da planta, número de folhas, área foliar e biomassa seca da parte aérea e do caule foram avaliadas apenas no segundo ensaio. Na segunda parte do trabalho, as primeiras folhas com lígula totalmente visível foram coletadas de cinco plantas de cada cultivar e clone. Das folhas de cada repetição foi obtida uma amostra da região central, com aproximadamente 1cm², as quais foram utilizadas em estudos anatômicos em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Foram determinadas as seguintes características anatômicas: área da epiderme adaxial e abaxial; área do mesofilo; área das células buliformes; área dos feixes vasculares; área das células da bainha; área ocupada por fibras, área do xilema e área do floema. Esses dados foram transformados em porcentagem em relação à área total. Determinou-se, também, a densidade de tricomas, a densidade de estômatos, o comprimento do ostíolo, a espessura da epiderme, o perímetro da parede periclinal externa das células

buliformes, a espessura da parede periclinal externa das células buliformes e das células epidérmicas comuns nas faces adaxial e abaxial. Também foram coletadas folhas para a avaliação da composição química da cera epicuticular. O cultivar RB855113 apresentou alta sensibilidade à mistura herbicida; os cultivares e clones SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 e RB957689 apresentaram sensibilidade média; e os demais clones mostraram boa tolerância a esse produto. Para o cultivar RB855113, o maior índice de toxidez foi observado no período de 20 a 27 DAT. Nesse período observou-se redução da altura da planta, do número de folhas, da área foliar e da biomassa seca da parte aérea e do caule com o aumento das doses do produto. Considerando as características anatômicas, o cultivar RB855113 apresentou diferenças relevantes em relação aos demais cultivares avaliados, como, maior proporção de células buliformes, chegando a ser o tecido que ocorre em maior quantidade na seção transversal da lâmina foliar desse cultivar, maior densidade de estômatos e de tricomas em ambas as faces, epiderme menos espessa na face adaxial e estômatos com maiores ostíolos nas duas faces. O cultivar RB855113 apresentou composição química da cera epicuticular com polaridade intermediária, porém menos polar que a cera do cultivar RB867515. Na análise micromorfológica não foi observada diferença relevante entre os materiais. De todas as características avaliadas, as anatômicas definiram as principais diferenças entre os cultivares.

ABSTRACT

FERREIRA, Evander Alves, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2005.
ANATOMY, MICROMORPHOLOGY AND SUSCEPTIBILITY TO HERBICIDE IN SUGARCANE GENOTYPES. Advisor: Marília Contin Ventrella.
Committee Members: Antônio Alberto da Silva e Márcio Henrique Pereira Barbosa.

This work was carried out in order to evaluate the susceptibility to Trifloxysulfuron-sodium + ametryn herbicide on the cultivars and clones of sugarcane SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454, RB855536, RB947643, RB855002, RB957712 and RB957689, and the anatomical, chemical and Micromorphological characterization of RB855113, SP80-1842, SP80-1816, RB867515 cultivars and RB957689 clone, to understand better the barriers each material imposes upon herbicide penetration. The first part of the work was divided in two assays. In assay 1, the herbicide was applied in one rate 2.00 kg ha⁻¹ in all cultivars and clones, while in assay 2, the rates were 1.00, 2.00 and 6.00 kg ha⁻¹ on the cultivars RB855113 and RB867515. In both assays, it was evaluated the toxicity index from weekly herbicide application and the dry biomass of shoot from harvest, after 45 days after treatment application. Plant height, leaf number, foliar area and dry biomass of shoot and stem were evaluated only in the second assay. On the second part of the work, the first leaves with ligule totally visible were taken from five plants of each cultivar and clone. One sample, with approximately 1 cm², was taken at central portion of the leaves in each replication, to do anatomical studies by using light and scanning-electron microscopes. It was determined the areas of: adaxial and abaxial epiderm, mesophyll, bulliform cells, vascular bundles, sheath cells, occupied by fibers, xylem and phloem, and the data obtained was transformed in percentage related to total area. It was also determined trichome density, stomatic density, ostiole length, epiderm thickness, perimeter of external wall of bulliform cells, periclinal external wall thickness upon bulliform and epidermic cells on abaxial and adaxial sides. Leaves were also used to evaluate chemical content of epicuticular wax. The cultivar RB855113 showed high susceptibility to herbicide; the cultivars and clones SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 and RB957689 showed medium susceptibility and the other clones showed good tolerance to the product. At 20 to 27 days after treatment

application, it was observed to the cultivar RB855113, the highest toxicity index, and reduction on plant height, leaf number, foliar area and dry biomass of shoot and stem, with an increase on the rate of the product. This cultivar showed relevant differences in relation to the other cultivars like higher proportion of bulliform cells, higher density of trichomes and stomata in both sides, smaller thickness of epiderm on adaxial side and stomata with larger ostioles in the two sides. The chemical content of epicuticular wax with intermediate polarity appeared in the cultivar RB855113, however, the polarity was higher in the cultivar RB867515. In the micromorphological analysis, there was not difference among cultivars. The anatomical characteristics defined the main differences among them.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) foi introduzida no Brasil em 1553, estabelecendo-se de forma definitiva nas regiões Centro-Sul e Nordeste. O país é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, gerando mais de 355 milhões de toneladas por ano; cerca de 80% no Centro-Sul e 20% no Norte-Nordeste. É também o maior exportador de açúcar, com cerca de 6 milhões de toneladas, representando 20% do mercado internacional e, também, o maior produtor e consumidor de álcool do mundo (Ministério da Agricultura, 2005).

A cana-de-açúcar utilizada hoje compreende espécies e híbridos do gênero *Saccharum* L. Por centenas de anos, grande parte do açúcar era extraída de variedades da espécie *S. officinarum* L., mas outras espécies do gênero têm sido usadas na produção comercial do açúcar na Índia e na China (Stevenson, 1965).

Segundo Stevenson (1965), este gênero inclui outras espécies não usadas na obtenção de açúcar, como *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Jesw., que são selvagens e ocorrem no sul da Ásia no Arquipélago da Malásia e na Melanésia. Estas espécies contêm pouco ou nenhum açúcar, mas têm sido extensivamente usadas por geneticistas, com grande sucesso em hibridação com *S. officinarum* L., que resultam em cultivares comerciais atuais.

Os cultivares de cana-de-açúcar apresentam respostas diferentes aos herbicidas utilizados no controle de plantas daninhas, o que pode causar problemas de fitotoxicidade, chegando a ocasionar perdas na produção. Deve-se considerar também que uma variedade pode apresentar diferentes respostas, dependendo do herbicida utilizado (Procópio et al., 2003).

O conhecimento dos mecanismos da penetração dos herbicidas, através dos tecidos vegetais, é de grande importância para a melhoria da eficiência dos produtos. Os herbicidas podem penetrar nas plantas pelas suas estruturas aéreas (folhas, caules, flores e frutos) e subterrâneas (raízes, rizomas, estolões, tubérculos etc.), pelas sementes e, também, durante a germinação e a emergência, pela radícula e pelo caulículo (Silva et al., 2000). Contudo, são as folhas, o principal órgão das plantas envolvido na penetração de herbicidas aplicados em pós-emergência (Procópio et al., 2003).

A quantidade do herbicida interceptado e retido nas folhas é influenciada, principalmente, pelas características morfológicas das plantas, no entanto, são as características anatômicas que praticamente determinam a facilidade com que esses produtos serão absorvidos (Hess & Falk, 1990).

As folhas das plantas apresentam vários níveis de desenvolvimento de tricomas e glândulas. *Abutilon theophrasti*, por exemplo, possui tricomas simples e complexos, enquanto *Chenopodium album* possui alta densidade de tricomas glandulares na epiderme da face adaxial, que podem deixar as células da epiderme totalmente escondidas (Hess & Falk, 1990). Tricomas presentes na superfície foliar podem interceptar gotas pulverizadas, impedindo que estas alcancem a epiderme. Mesmo quando esses tricomas são simples e aparecem em baixa densidade, ocorre a aderência de gotas sobre eles. A eficiência da absorção de herbicidas pelos tricomas e a translocação destes para as células epidérmicas são parcialmente conhecidas (Hess & Falk, 1990). De acordo com Hull (1970), alguma absorção de produtos químicos pode ocorrer via tricoma. *Commelina*

benghalensis, mais sensível ao glyphosate em relação a *Commelina difusa*, apresentou maior densidade de tricomas que a espécie mais tolerante (Santos et al., 2002). Todavia, poucos autores afirmam ser os tricomas bom caminho para a entrada de herbicidas nas folhas. De modo geral, parece existir relação negativa entre a aderência dos herbicidas nos tricomas e a eficácia desses produtos (Hess & Falk, 1990).

Segundo Hess & Falk (1990), a maioria das plantas daninhas apresenta estômatos sobre as superfícies adaxial e abaxial (anfiestomáticas). Procópio et al. (2003), analisando 40 espécies de plantas daninhas, constataram que 39 eram anfiestomáticas e apenas uma hipoestomática. Meyer et al. (1973), realizando contagem do número de estômatos em 39 espécies, observaram que 16 eram anfiestomáticas e, as 23 restantes, hipoestomáticas. Esses autores também acrescentaram que, nas anfiestomáticas, o número de estômatos na face adaxial era, na maioria dos casos, inferior ao da face abaxial.

A cutícula cobre as paredes periclinais externas das células epidérmicas formando um revestimento de natureza lipídica. A cutícula é a principal via de absorção dos herbicidas, o que torna o seu conhecimento de importância fundamental nos estudos de absorção de herbicidas (Procópio et al., 2003).

Esse revestimento, do interior para o exterior, sobre a parede celulósica primária é constituído por; cutícula secundária ou parede cutinizada (cutícula mais parede), cutícula primária ou cutícula propriamente dita, onde se encontram as ceras embebidas e sobre o revestimento cuticular, na parte mais externa, a cera epicuticular (Herédia et al., 1998).

A composição química do revestimento cuticular é variado, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. A cutina é um biopoliéster insolúvel, formado por ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa com elevado grau de entrecruzamento. A cera apresenta-se embebida neste polímero ou depositada no exterior da cutícula (epicuticular). A cera epicuticular pode ser depositada em uma variedade de formas físicas; em algumas plantas, forma uma camada fina, em outras plantas, pode formar placas ou cristais de diferentes tamanhos e formas. Devido a sua composição química, refletida no grau de cristalinidade, e à possibilidade de constituir, na superfície da membrana cuticular, uma película que atua como uma interfase entre a célula vegetal e o meio, a cera se destaca como a principal barreira protetora frente às perdas de água por transpiração excessiva, à ação de patógenos, às radiações solares e à entrada de produtos químicos e contaminantes (Heredia et al., 1998).

A quantidade e a composição da cera epicuticular varia com a espécie e com a variedade. As diferenças dependem, também, das condições climáticas, do organismo estudado e da fenologia da planta. A cera epicuticular é uma complexa mistura de diferentes compostos alifáticos. Normalmente, esses compostos contêm séries homólogas de alcanos, álcoois (primários e secundários), aldeídos, ácidos, cetonas, β -dicetonas, hidroxil- β -dicetonas e ésteres (Bianchi & Bianchi, 1990).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a sensibilidade de cultivares e clones de cana-de-açúcar à mistura dos herbicidas trifloxysulfuron sodium + ametryn, assim como avaliar as características anatômicas, micromorfológicas e a

composição química da cera epicuticular dos diversos cultivares, buscando relacionar essas características com o grau de sensibilidade dos cultivares.

Este trabalho foi descrito na forma de três artigos científicos, elaborados de acordo com as normas da Revista Planta Daninha.

1.1 LITERATURA CITADA

BIANCHI, A. & BIACHI, G. Surface lipid composition of c_3 and c_4 plants.

Biochemical Systematics and ecology. v.18: n.7. p.533-537.

HEREDIA, A. et al. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecología.** v.12. p.293-305. 1998.

HESS, F.D. & FALK, R.H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Sci.** v.38. n.3, p.280-288. 1990.

HULL, H.M. Leaf structure as related to absorption of pesticides and other compounds. **Residue Rev,** v.38, p.1-155, 1970.

MEYER, B. et al. **Introdução à fisiologia vegetal.** 2.ed. Lisboa. 710p. 1973.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. PRODUÇÃO DO SETOR SUCROALCOOLEIRO – BRASIL. 2005. [on-line] Disponível: <<http://www.agricultura.gov.br/>> [Acessado em 09/02/2005].

PROCÓPIO, S.O. et al. Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. **Produção de cana-de-açúcar.** Viçosa, MG Universidade Federal de Viçosa, 150p. 2003.

PROCÓPIO, S.O. et al. **Anatomia foliar de plantas daninhas do Brasil.**

Volume I. Viçosa MG. 118p. 2003.

STEVENSON, C.G. Genetics and breedings of sugarcane. Tropical Science series. Langmans. **Plant.** v.97. p.70-80. 1965.

SANTOS, I.C. et al. Características anatômicas de duas espécies de trapoeraba e a eficiência do glyphosate. **Planta Daninha.** Viçosa, MG. v.20, p.1-8, 2002.

SILVA, A.A.et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília, DF: ABEAS. 260p. 2000.

SCHUMM, K.C.; BRAZ, B.A. Comportamento do trifloxysulfuron sodium + ametrina + MSMA no controle de plantas daninhas e intoxicação às plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Resumos...** Gramado - RS: SBCPD, p.502, 2002.

VELINI, E.D. et al. Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryne, aplicada em pré e pós-emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana planta). **Planta Daninha**, v.18, n.2, p.123-134, 2000.

2. SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR À MISTURA TRIFLOXYSULFURON-SODIUM + AMETRYN

Sensitivity of Sugarcane Genotypes to Trifloxysulfuron Sodium + Ametryn Mixture

2.1 RESUMO - Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a sensibilidade de 11 cultivares (SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454 e RB855536) e quatro clones (RB947643, RB855002, RB957712 e RB957689) de cana-de-açúcar à mistura pré-formulada dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium ($18,5 \text{ g kg}^{-1}$) + ametryn ($731,5 \text{ g kg}^{-1}$), denominada Krismat®. Os cultivares e os clones foram cultivados em vasos em ambiente não-protégido. Em ambos os ensaios a mistura herbicida foi aplicada aos 60 dias após a brotação (DAB). No ensaio 1, a mistura herbicida foi aplicada em dose única de $2,00 \text{ kg ha}^{-1}$ sobre todos os cultivares e clones, enquanto no ensaio 2 esta foi aplicada nas doses de 1,00; 2,00; e $6,00 \text{ kg ha}^{-1}$ sobre os cultivares RB855113 e RB867515. Em ambos os ensaios, a partir da aplicação do herbicida, foram feitas avaliações semanais do índice de toxidez (% de fitotoxicidade). Os dois ensaios foram avaliados por ocasião da colheita, realizada aos 45 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos). No primeiro ensaio, também foi avaliada a biomassa seca da parte aérea dos 11 cultivares e dos quatro clones. As variáveis altura da planta, número de folhas, área foliar e biomassa seca da parte aérea e do caule foram avaliadas apenas no segundo ensaio. O cultivar RB855113 apresentou alta sensibilidade à mistura herbicida

em ambos os ensaios; os genótipos SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 e RB957689 apresentaram sensibilidade média; e os demais clones mostraram boa tolerância a esse produto no primeiro ensaio. Para o cultivar RB855113, o maior índice de toxidez foi observado no período de 20 a 27 DAT no primeiro ensaio. Nesse período observou-se redução da altura da planta, do número de folhas, da área foliar e da biomassa seca da parte aérea e do caule com o aumento das doses do produto no segundo ensaio. Também no segundo ensaio, o cultivar RB867515 apresentou-se tolerante às menores doses do herbicida, porém, na maior dose testada, ele se mostrou sensível, observando-se redução nas características avaliadas.

Palavras-chave: herbicidas, tolerância, seletividade e *Saccharum* spp.

2.2 ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the sensitivity of 11 cultivars (SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454 and RB855536) and four clones (RB947643, RB855002, RB957712 and RB957689) of sugarcane to the pre-formulated mixture of the herbicides trifloxysulfuron sodium (18.5 g kg⁻¹) + ametryn (731.5 g kg⁻¹), called Krismat®. Cultivars and clones were cultivated in vases with not-protected environment. In both assays the herbicide mixture was applied to the 60 days after sprout. In assay 1, the herbicide mixture was applied in only rate of 2.00 kg ha⁻¹ on all cultivars and clones, while in assay 2 it was applied in rates of 1.00; 2.00; and 6.00 kg ha⁻¹ on RB855113 and RB867515 cultivars. After the herbicide application and after harvest in 45 days

after treatment (DAT), it was made weekly evaluations of phytotoxicity (%), also being evaluated their dry matter. Only in the second assay were evaluated the variables plant height, leaf number, leaf area and the dry matter of aerial part and stalk. The highest sensitive to herbicide mixture was in RB855113 cultivar; medium sensitivity was in the genotypes SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 and RB957689; and clones presented good tolerance to this product. To RB855113 cultivar, the highest toxicity index was observed in the period from 20 to 27 DAT. In this period was observed reduction of plant height, leaf number, foliar area and the dry matter of the aerial part and of the stalk because of the increase of the product rates. RB867515 cultivar was tolerant to the lower herbicide rates, however, in the highest tested rate it was sensitive.

Key-words: herbicide, selectivity, tolerance.

2.3 INTRODUÇÃO

Apesar de a cana-de-açúcar ser altamente eficiente na utilização dos recursos disponíveis para o seu crescimento e de apresentar fisiologia do tipo C₄, ela é muito afetada pela competição com as plantas daninhas, por apresentar, na maioria das situações, brotação e crescimento inicial lentos (Procópio et al., 2003). Em consequência dessa característica, é necessário manter a lavoura de cana-de-açúcar no período inicial de desenvolvimento, que varia de 60 a 90 dias, livre de plantas daninhas (Procópio et al., 2003). Por ser cultivada em grandes áreas, uma das ferramentas mais utilizadas para o manejo das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar consiste na aplicação de herbicidas.

Diferentes cultivares de cana-de-açúcar têm apresentado respostas diferenciadas aos herbicidas, tendo, como conseqüências freqüentes, problemas de fitotoxicidade, chegando a ocasionar redução na produtividade do canavial. O comportamento diferenciado de genótipos de cana-de-açúcar diante de diversos herbicidas (Constantinin, 1997; Veline et al., 2000; Procópio et al., 2003), associado ao estágio de desenvolvimento desta cultura (Wixson & Shaw, 1991), tem sido fator importante na tolerância de cultivares a herbicidas.

A seletividade a herbicidas não pode ser determinada apenas pela verificação ou não de sintomas de intoxicação, pois já são conhecidos exemplos de produtos que podem reduzir a produtividade das culturas sem causar efeitos visualmente detectáveis e, também, outros que provocam injúrias acentuadas, mas que permitem a recuperação plena da cultura (Silva et al., 2003). Dessa forma, quando o objetivo for avaliar os efeitos de herbicidas sobre a cana-de-açúcar, é fundamental que, além de avaliar as injúrias provocadas por eles, seja incluída também a taxa de crescimento e a produtividade da cultura (Veline et al., 2000).

O herbicida trifloxysulfuron-sodium, apesar de causar fitotoxicidade diferenciada a cultivares de cana-de-açúcar, é recomendado para essa cultura e está sendo amplamente utilizado em pós-emergência inicial (Procópio et al., 2003). A boa aceitação desse produto pode ser atribuída ao amplo espectro de ação, ao uso em baixas doses e ao longo efeito residual no solo, garantindo o controle de plantas daninhas durante o desenvolvimento inicial da cultura (Santos et al., 2004).

O trifloxysulfuron-sodium é comercializado para o uso na cana-de-açúcar em mistura com ametryn, formando o produto comercial Krismat®. O ametryn apresenta fácil absorção pelo sistema radicular e pelas folhas, seus sintomas de intoxicação em cana-de-açúcar se caracterizam por clorose seguida de necrose, iniciando-se pelos bordos das folhas (Velini et al., 2000). Quando utilizado em pós-emergência, os sintomas de intoxicação na cana-de-açúcar podem se apresentar de forma restrita ou ser mais acentuadas nos pontos de contato da calda herbicida com as folhas (Procópio et al., 2003). A eficiência de misturas do trifloxysulfuron-sodium com ametryn e com MSMA no controle de espécies de plantas daninhas em lavoura de cana-de-açúcar foi avaliada por Schumm et al. (2002), os quais constataram que todas essas misturas foram eficientes no controle de plantas daninhas, causando apenas moderada intoxicação à cana-de-açúcar.

Neste trabalho, avaliou-se a sensibilidade dos cultivares SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454 e RB855536 e dos clones RB947643, RB855002, RB957712 e RB957689 ao Krismat® (mistura comercial dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, em ambiente não-protetido. Os experimentos foram conduzidos em vasos

contendo seis litros de substrato composto de argissolo vermelho-amarelo adubado, conforme recomendado para a cultura da cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999).

No primeiro experimento, foram avaliados 11 cultivares de cana-de-açúcar (SP80-1842, SP79-1011, SP81-3250, SP80-1816, RB855113, RB835486, RB845210, RB867515, RB928064, RB72454 e RB855536) e quatro clones (RB947643, RB855002, RB957712 e RB957689), sendo plantados três toletes com uma gema em cada vaso. Aos 60 dias após a brotação (DAB), fez-se a aplicação do herbicida Krismat® [trifloxysulfuron-sodium ($18,50 \text{ g kg}^{-1}$) + ametryn ($731,50 \text{ g kg}^{-1}$)] nas doses de 0 e $2,00 \text{ kg ha}^{-1}$ do p.c, totalizando 30 tratamentos, dispostos em blocos casualizados, com três repetições.

Neste experimento, as características avaliadas foram a percentagem de fitotoxicidade à mistura aos 6, 13, 20, 27, 34 e 41 dias após aplicação dos tratamentos (DAT) do herbicida e o acúmulo de biomassa seca da parte aérea, determinada por ocasião da colheita do ensaio, aos 45 DAT. Na avaliação da percentagem de fitotoxicidade foram atribuídas notas variando de zero a 100%, sendo zero correspondente à ausência de toxidez e 100% à morte total da planta. Os sintomas também foram registrados por câmera digital.

No segundo experimento, foram aplicadas, aos 60 dias após a brotação das gemas (DAB), quatro doses da mistura herbicida ($0,00$; $1,00$; $2,00$; e $6,00 \text{ kg ha}^{-1}$, correspondendo, respectivamente, a zero, metade, uma vez e três vezes a dose recomendada) sobre dois cultivares de cana-de-açúcar (RB855113 e RB867515), totalizando oito tratamentos, dispostos em blocos casualizados, com três

repetições. Neste ensaio, além da avaliação de intoxicação da cana-de-açúcar pelo herbicida (% de fitotoxicidade), realizada aos 6, 13, 20, 27, 34 e 41 DAT, no momento da colheita (45 DAT) foram avaliadas a altura das plantas, a área foliar, o número de folhas e a biomassa seca foliar e caulinar.

Na interpretação dos resultados, os dados referentes à altura de planta, ao número de folhas, à área foliar e à biomassa foliar e caulinar, tanto no primeiro quanto no segundo experimento, foram transformados em porcentagem relativa à média da testemunha.

Quanto aos dados relativos à evolução da fitotoxicidade no tempo referente ao primeiro ensaio, estes foram interpretados utilizando-se a análise de regressão, com significância de 1% pelo teste F. As médias referentes à fitotoxicidade aos 13 e 34 DAT e à quantificação da biomassa seca foram agrupadas segundo o critério de Scott Knott a 5% de probabilidade. Aos 13 dias, os sintomas começam a se manifestar com maior intensidade e, aos 34 dias, ocorre na maioria dos cultivares e clones, o auge dos sintomas de fitotoxicidade. No segundo experimento, todas as características foram avaliadas por regressão, com significância de 1% ou 5% pelo teste F, para interpretação dos resultados.

Os cultivares que apresentaram índice de intoxicação (% de fitotoxicidade) superior a 27%, associado à intensa redução no acúmulo de biomassa, provocada pelo efeito herbicida, foram classificados como altamente sensíveis a esse produto; aqueles com índice de intoxicação entre 11,17 e 27,00% e redução no acúmulo de biomassa foram classificados como medianamente sensíveis; e aqueles com menos de 11,17% de fitotoxicidade e sem perda de

biomassa com a aplicação do Krismat® foram classificados como de baixa sensibilidade ao herbicida ou tolerantes.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se bom ajuste ($P < 0,001$ e $P < 0,005$) entre a fitotoxicidade da mistura herbicida e dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), representado por modelos polinomiais quadráticos (Figuras 1 a 3) no primeiro experimento.

O cultivar RB855113 e o clone RB957689 mostraram-se mais sensíveis à mistura herbicida no primeiro experimento, apresentando, respectivamente, índice de intoxicação (% de fitotoxicidade) médio de 13,75 e 15,00% aos 13 DAT, enquanto todos os demais genótipos apresentaram média de intoxicação, inferior a 10% (Figuras 1 a 3 e Tabela 1). Todavia, observando-se as curvas de evolução do índice de intoxicação de plantas pela mistura herbicida, verifica-se aumento acentuado dos sintomas para o cultivar RB855113, o qual se apresentou como o mais sensível.

Considerando o período entre 27 e 41 DAT para o cultivar RB855113, esses valores de fitotoxicidade ficaram superiores a 40,00 % (Figura 1), atingindo 44,4% aos 34 DAT (Tabela 1). Para os demais cultivares e clones, o maior índice de intoxicação, provocado pela mistura herbicida, ocorreu no período entre 27 e 34 DAT (Figuras 1 a 3 e Tabela 1). De todo o material testado, os cultivares SP80-1842, SP80-1816 e SP79-1011 e o clone RB957689 mostraram-se menos sensíveis à mistura herbicida, apresentando, respectivamente, valores de fitotoxicidade de 21,16; 11,17; 16,60; e 24,17%, aos 34 DAT (Figuras 1 a 3 e

Tabela 1). Quanto aos demais cultivares e clones avaliados (RB855002, RB928064, SP-813250, RB867515, RB957712, RB72454, RB845210, RB947643, RB855536 e RB835486), estes apresentaram baixa sensibilidade à mistura, observando-se fitotoxicidade variando de 2,83 a 10,83%, no período avaliado (Figuras 1 a 3 e Tabela 1). Tolerância diferenciada de cultivares de cana-de-açúcar foi também verificada por Velini et al. (2000). Esses autores, trabalhando com 10 cultivares de cana-de-açúcar submetidos à mistura de herbicidas oxyfluorfen + ametryn, constataram que o cultivar SP80-1842 apresentou alta sensibilidade a essa mistura, sendo observado fitotoxicidade superior a 44%.

A fitotoxicidade da cana-de-açúcar pelo produto refletiu na produção de biomassa seca do material, sendo observada redução significativa para essa característica nos cultivares que apresentaram os maiores valores de fitotoxicidade: RB855113, SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 e no clone RB957689 (Tabela 1). O cultivar RB855113, também com alto índice de intoxicação, apresentou maior redução na produção de biomassa seca (33,32 % em relação à testemunha – Tabela 1). Os cultivares SP80-1842, SP80-1816 e SP79-1011 e o clone RB957689 mostraram redução menos acentuada de biomassa seca, produzindo, respectivamente, 50,29; 58,73; 40,35 e 49,52% em relação ao tratamento sem herbicida, porém, sem diferirem significativamente (Tabela 1). Nos demais cultivares, as reduções foram de, no máximo, 14%, no entanto, sob mesmo agrupamento pelo critério de Scott Knott (Tabela 1).

No segundo experimento foi observado bom ajuste ($P < 0,001$ e $P < 0,005$) entre fitotoxicidade da mistura herbicida e doses do herbicida em kg ha^{-1} , representado por modelos lineares e não-lineares. Neste experimento, constatou-se, para o cultivar RB855113, elevada sensibilidade à mistura herbicida, comparado com RB867515.

No cultivar RB855113, observou-se, entre 20 e 27 DAT, intoxicação em todas as doses testadas da mistura herbicida, com redução de 20,00% na menor dose, 40,00% na dose recomendada e mais de 70,00% na maior dose (Figura 4). Aos 34 e 41 DAT foi observado índice de intoxicação de 69,04 e 59,37%, respectivamente, para a maior dose nesse mesmo cultivar (Figura 4).

No cultivar RB867515, a maior intoxicação foi observada aos 34 DAT; no entanto, esse valor foi inferior a 10,00% na dose recomendada e em torno de 16,00% na maior dose testada (Figura 5), confirmando boa tolerância desse material à mistura herbicida.

Estudos com herbicidas de ação localizada indicam que a cultura da cana-de-açúcar pode tolerar até 27% de comprometimento de sua área foliar sem que isso implique em redução da produtividade (Veline et al., 1993). No entanto, para herbicidas sistêmicos esses valores podem ser diferentes, dependendo do processo fisiológico afetado pelo produto. Azania et al. (2001), trabalhando com os herbicidas imazapyr e tebuthiuron aplicados no cultivar RB835089, constataram leve intoxicação na fase inicial do desenvolvimento e total recuperação da cultura aos 100 DAT, sem prejuízo de produtividade e qualidade da matéria-prima.

Para as características altura de plantas, área foliar, número de folhas e biomassa seca foliar e caulinar, em função das doses da mistura herbicida, foram ajustados modelos não-lineares para os cultivares RB855113 e RB867515 (Figuras 6 a 10).

O cultivar RB855113 apresentou tendência de redução na altura de plantas, na área foliar, no número de folhas, na biomassa seca foliar e caulinar com o aumento da dose, chegando, respectivamente, a 30,54%, 13,34%, 36,00%, 14,30% e 15,85% na maior dose, enquanto em RB867515 essa tendência de redução foi menor (Figuras 6 a 10).

Portanto, pode-se afirmar que os cultivares apresentam sensibilidade diferencial à esta mistura herbicida, sendo RB855113 o mais sensível à mistura de herbicidas mesmo nas doses mais baixas. Os genótipos SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 e RB957689 apresentaram média sensibilidade à mistura de herbicidas. Nos demais, essa sensibilidade foi considerada baixa.

2.6 LITERATURA CITADA

AZANIA, C.A.M. et al. Seletividade de imazapic às soqueiras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Planta Daninha**, v.19, n.3, p.345-350, 2001.

CFSEMG (Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa-MG: UFV. 359p. 1999.

CONSTANTIN, J. **Avaliação da seletividade do herbicida halosulfuron à cana-de-açúcar**. Botucatu, 1997, 71p. f. (Dissertação de mestrado) - Faculdade de Ciências agronômicas – UNESP.

PROCÓPIO, S.O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa, MG Universidade Federal de Viçosa, 150p. 2003.

ROLIM, J.C. et al. Tolerância de cana-de-açúcar à aplicação sequencial de nematicidas e herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.2, n.3, 2001.

SANTOS, J.B. et al. Seletividade do herbicida trifloxysulfuron sodium para fins de fitorremediação. **Ceres**, v.51, n.293, p.129-141, 2004.

SCHUMM, K.C.; BRAZ, B.A. Comportamento do trifloxysulfuron sodium + ametrina + MSMA no controle de plantas daninhas e intoxicação às plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Resumos...** Gramado - RS: SBCPD, p.502, 2002.

SILVA, A.A. et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília: ABEAS, p.260, 2003.

VELINI, E.D. et al. Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryne, aplicada em pré e pós-emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana planta). **Planta Daninha**, v.18, n.2, p.123-134, 2000.

VELINI, E.D. et al. Avaliação dos efeitos do herbicida clomazone, aplicado em pós-emergência, sobre o crescimento e produtividade de soqueiras de nove cultivares de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOLEIROS DO BRASIL – STAB, 5, 1993, Águas de São Pedro, **Anais...** Águas de São Pedro - SP: STAB, p.125-128, 1993.

WIXSON, M.B.; SHAW, D.R. et al. Use of AC 263,222 for sicklepod (*Cassia obtusifolia*) control in soybean (*Glycine max*). **Weed Technol.**, v.5, p.276-279, 1991b.

2.7 FIGURAS E TABELAS

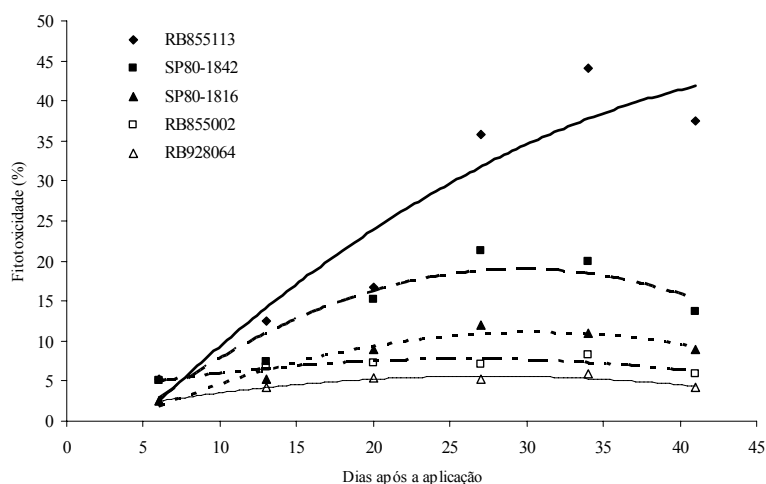


Figura – 1 Evolução da fitotoxicidade provocada pela mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) aplicada na dose de 2,00 kg ha⁻¹ do p.c sobre os genótipos de cana-de-açúcar RB855113 ($\hat{Y} = -0,0193D^2 + 2,0326D - 9,0197$; $R^2 = 0,89$), SP80-1842 ($\hat{Y} = -0,0291D^2 + 1,7221D - 6,4738$; $R^2 = 0,86$), SP80-1816 ($\hat{Y} = -0,0156D^2 + 0,9473D - 3,3271$; $R^2 = 0,95$), RB855002 ($\hat{Y} = -0,0069D^2 + 0,3601D + 3,1004$; $R^2 = 0,77$) e RB928064 ($\hat{Y} = -0,0068D^2 + 0,3735D + 0,4803$, $R^2 = 0,93$).

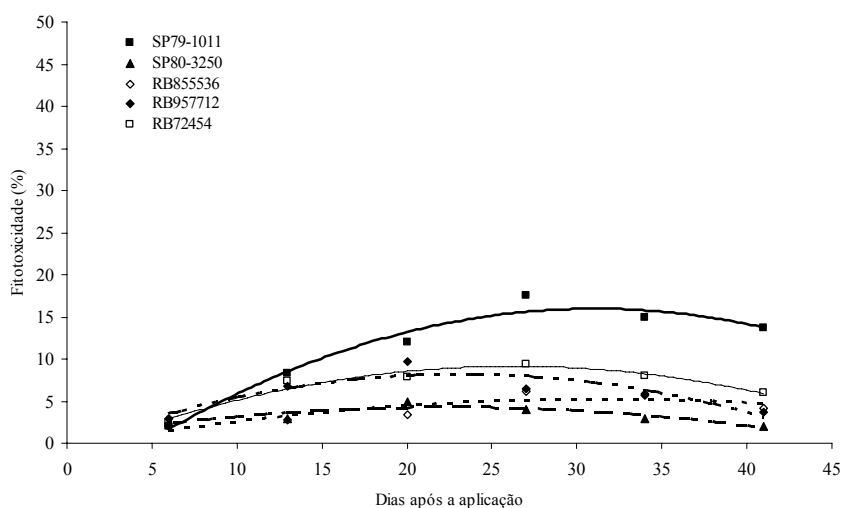


Figura – 2 Evolução da fitotoxicidade provocada pela mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) aplicada na dose de 2,00 kg ha⁻¹ do p.c sobre os genótipos de cana-de-açúcar SP79-1011 ($\hat{Y} = -0,0228D^2 + 1,415D - 6,0118$; $R^2 = 0,96$), SP80-3250 ($\hat{Y} = -0,0071D^2 + 0,3197D + 0,6768$; $R^2 = 0,81$), RB855536 ($\hat{Y} = -0,0058D^2 + 0,3637D - 0,4805$; $R^2 = 0,74$), RB957712 ($\hat{Y} = -0,0159D^2 + 0,7392D - 0,3699$; $R^2 = 0,79$) e RB72454 ($\hat{Y} = -0,0152D^2 + 0,7996D - 1,3752$; $R^2 = 0,94$).

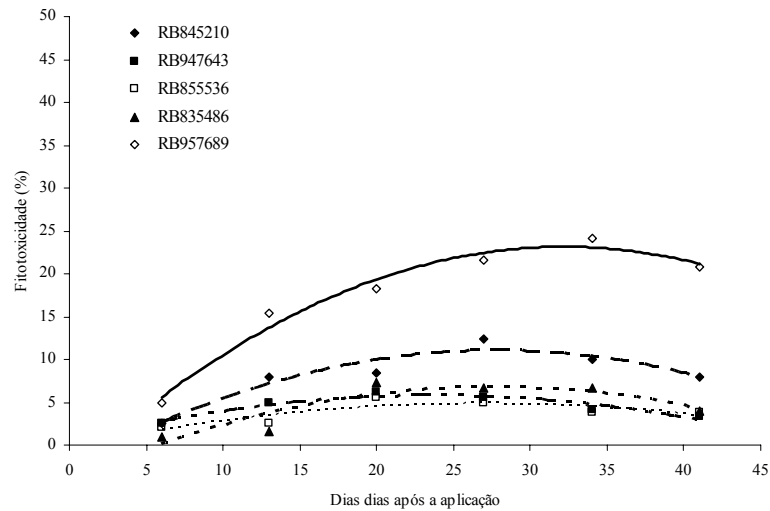


Figura – 3 Evolução da fitotoxicidade provocada pela mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) aplicada na dose de 2,00 kg ha⁻¹ do p.c sobre os genótipos de cana-de-açúcar RB845210 ($\hat{Y} = -0,0177D^2 + 0,9872D - 2,645$; $R^2 = 0,90$), RB947643 ($\hat{Y} = -0,0097D^2 + 0,4608D + 0,3706$; $R^2 = 0,89$), RB855536 ($\hat{Y} = -0,0071D^2 + 0,383D - 0,3099$; $R^2 = 0,71$), RB835486 ($\hat{Y} = -0,0143D^2 + 0,7934D - 4,1256$; $R^2 = 0,81$) e RB957689 ($\hat{Y} = -0,0256D^2 + 1,6496D - 3,3914$; $R^2 = 0,97$).

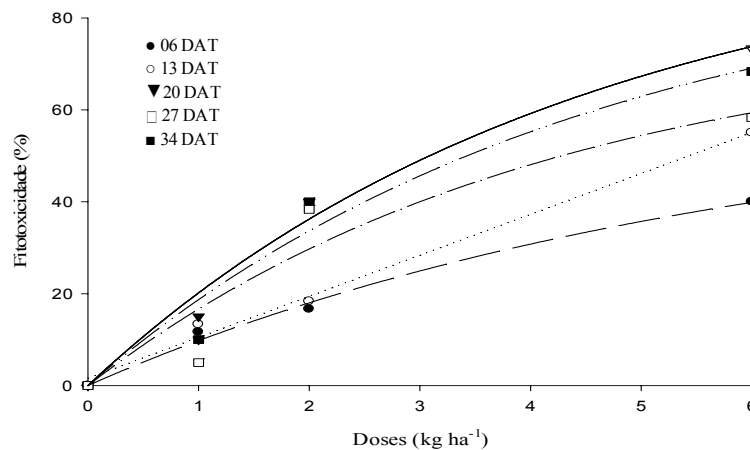


Figura – 4 Evolução da fitotoxicidade provocada pela mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) aplicada no cultivar RB855113 aos 6 ($62,1101[1-e^{(-0,1711D)}]$, $R^2 = 0,99$), 13 ($1,6064 + 8,9157D$, $R^2 = 0,99$), 20 ($99,0594[1-e^{(-0,2276D)}]$, $R^2 = 0,98$), 27 ($99,0599[1-e^{(-0,2250D)}]$, $R^2 = 0,98$), 34 ($93,7516[1-e^{(-0,2224D)}]$, $R^2 = 0,94$) e 41 DAT ($77,5901(1-e^{(-0,2415D)})$, $R^2 = 0,85$).

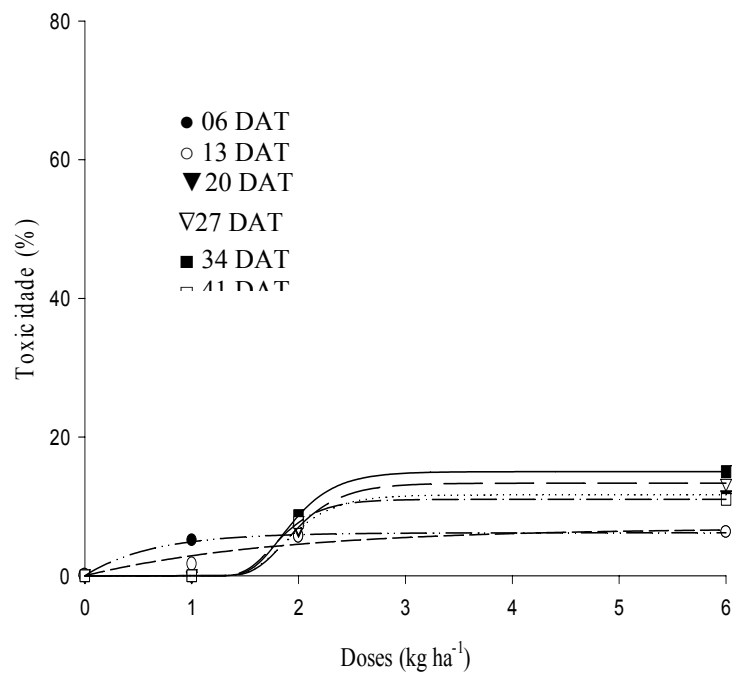


Figura – 5 Evolução da fitotoxicidade provocada pela mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn) aplicada no cultivar RB867515 aos 6 ($6,1787[1-e^{(-0,5737D)}]$, $R^2 = 0,99$), 13 ($6,84[1-e^{(-0,5455D)}]$, $R^2 = 0,84$), 20 ($11,67[1-e^{-3,5596D}]^{691,1016}$, $R^2 = 0,99$), 27 ($13,33[1-e^{-3,4487D}]^{637,381}$, $R^2 = 0,99$), 34 ($15[1-e^{-3,605D}]^{741,8032}$, $R^2 = 0,99$) e 41 DAT ($11[1-e^{-4,0399}]^{1165,3321}$, $R^2 = 0,99$).

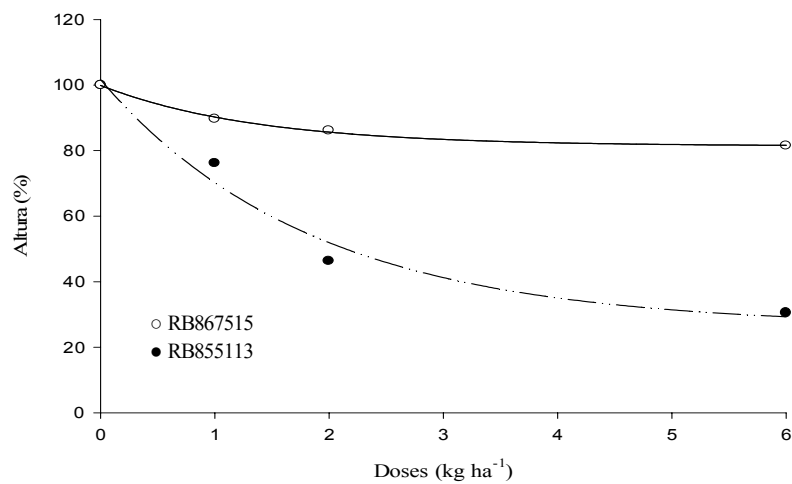


Figura – 6 Porcentagem de altura de plantas dos cultivares RB867515 ($\hat{Y} = 81,4027 + 18,4967e^{(-0,7375D)}$, $R^2 = 0,99$) e RB855113 ($\hat{Y} = 26,3487 + 75,355e^{(-0,5404D)}$, $R^2 = 0,92$) após aplicação da mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

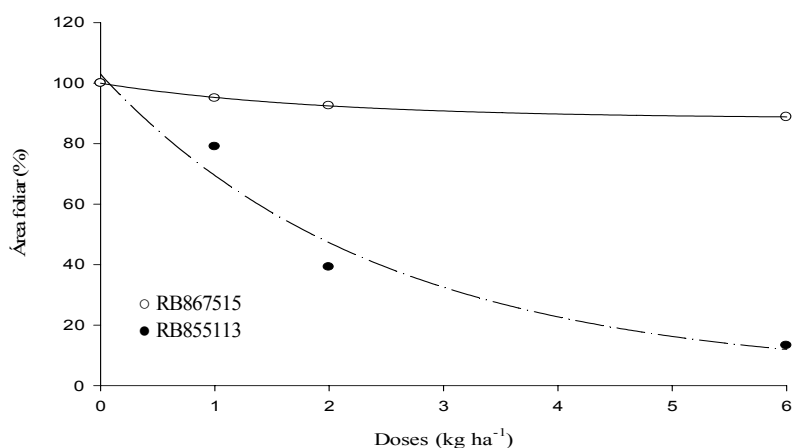


Figura – 7 Porcentagem de área foliar de plantas dos cultivares RB867515 ($\hat{Y} = 88,29 + 11,6652e^{(-0,5145D)}$, $R^2 = 0,99$) e RB855113 ($\hat{Y} = 3,4736 + 99,4933e^{(-0,4107D)}$, $R^2 = 0,89$) após aplicação da mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

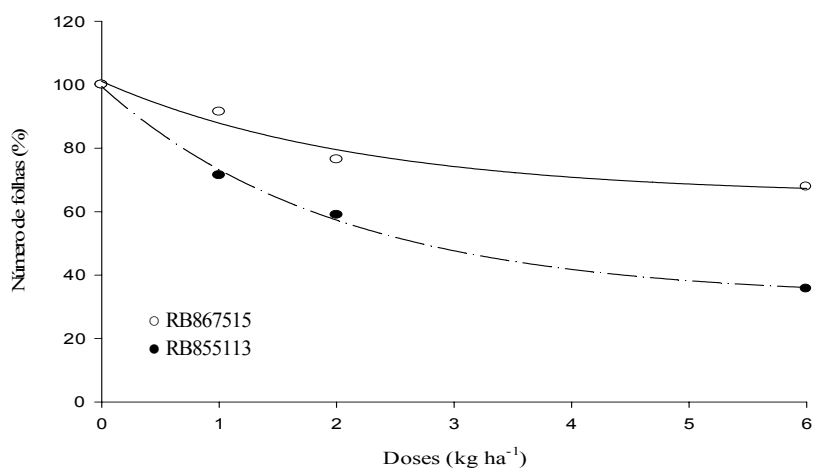


Figura – 8 Porcentagem de número de folhas de plantas dos cultivares RB867515 ($\hat{Y} = 64,9588 + 36,1086e^{(-0,4534D)}$, $R^2 = 0,88$) e RB855113 ($\hat{Y} = 32,7101 + 66,7750e^{(-0,4994D)}$, $R^2 = 0,99$) após aplicação da mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

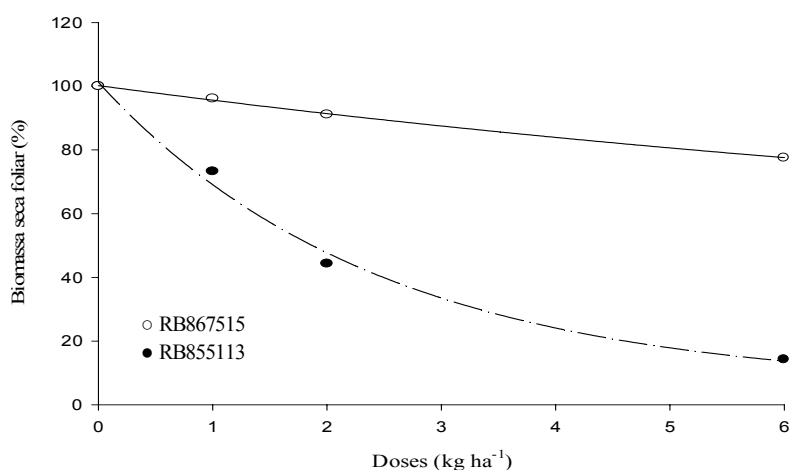


Figura – 9 Porcentagem de biomassa seca das folhas dos cultivares RB867515 ($\hat{Y} = 41,4843 + 58,7085e^{(-0,0810D)}$, $R^2 = 0,99$) e RB855113 ($\hat{Y} = 5,5339 + 95,7383e^{(-0,41102D)}$, $R^2 = 0,98$) após aplicação da mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

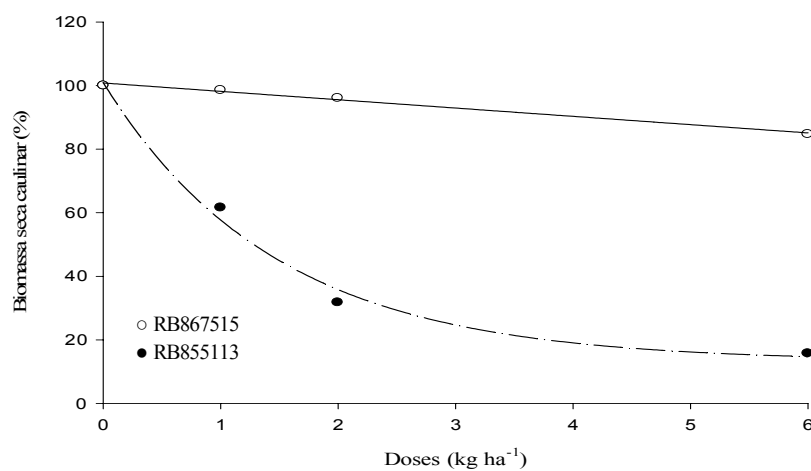


Figura – 10 Porcentagem de biomassa seca do caule dos cultivares RB867515 ($\hat{Y} = -786,4081 + 887,2092e^{(-0,0030D)}$, $R^2 = 0,97$) e RB867515 ($\hat{Y} = 13,2198 + 87,7467e^{(-0,6790D)}$, $R^2 = 0,97$) após aplicação da mistura herbicida (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

Tabela – 1 Efeito da mistura pré-formulada dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium (18,5 g kg⁻¹) mais ametryn (731,5 g kg⁻¹) aplicada na dose de 2,00 kg ha⁻¹ sobre 11 cultivares e quatro clones de cana-de-açúcar, para percentagem de toxicidade visual, avaliada aos 13 e 34 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), e percentagem relativa de produção de biomassa seca da parte aérea (BSPA), avaliada aos 45 DAT.

Genótipos	-----Fitotoxicidade (%)-----		BSPA (%)	Sensibilidade ao Krismat®
	13 DAT	34 DAT		
RB855113	13,75 a	44,40 a	33,32 c	Alta
SP80-1842	7,50 b	21,16 b	50,29 b	Média
SP80-1816	5,75 b	13,17 c	58,73 b	Média
RB855002	6,25 b	8,33 d	94,79 a	Baixa
RB928064	3,75 c	5,83 e	90,51 a	Baixa
SP79-1011	8,50 b	16,60 c	40,35 b	Média
SP81-3250	2,50 c	2,83 e	95,88 a	Baixa
RB867515	4,25 c	5,83 e	94,45 a	Baixa
RB957712	2,50 c	6,33 e	88,53 a	Baixa
RB72454	7,50 b	7,50 e	91,76 a	Baixa
RB845210	7,50 b	10,83 d	85,30 a	Baixa
RB947643	5,00 b	4,17 e	89,24 a	Baixa
RB855536	2,75 c	4,20 e	93,76 a	Baixa
RB835486	1,25 c	6,67 e	86,05 a	Baixa
RB957689	15,00 a	24,17 b	49,52 b	Média

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo critério de Scott Knott (P<0,05).

3. ANATOMIA QUANTITATIVA DA LÂMINA FOLIAR DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

Quantitative anatomy of foliar slide in Sugarcane Genotypes

3.1 RESUMO - Objetivou-se neste trabalho avaliar, quantitativamente as características anatômicas da lâmina foliar dos cultivares de cana-de-açúcar RB855113, SP80-1842, SP80-1816, e RB867515 e do clone RB957689 com diferentes sensibilidades à mistura dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn. Para isso, a primeira folha, com lígula totalmente visível, foi coletada em cinco plantas de cada genótipo. De cada folha, foi retirada uma amostra da região mediana, para os estudos anatômicos. Foram determinadas as seguintes características: área da face adaxial e abaxial da epiderme; área do mesofilo; área das células buliformes; área dos feixes vasculares; área da bainha do feixe vascular; área do esclerênquima, área do xilema e área do floema. Esses dados foram transformados em porcentagem em relação à área total. Determinou-se também, a densidade de tricomas, a densidade de estômatos, o comprimento do ostíolo, a espessura da epiderme, o perímetro da parede periclinal externa das células buliformes e espessura da parede periclinal externa das células buliformes e das células epidérmicas comuns nas faces adaxial e abaxial. O cultivar RB855113, considerado mais sensível à mistura de herbicidas, apresentou diferenças relevantes em relação aos demais cultivares avaliados, tais como, maior proporção de células buliformes, tecido encontrado em maior proporção na seção transversal da lâmina foliar desse cultivar, maior densidade de estômatos e

de tricomas em ambas as faces, epiderme menos espessa na face adaxial e estômatos com maior comprimento de ostíolos nas duas faces. Todos os genótipos apresentaram a parede periclinal externa das células buliformes mais delgadas do que nas células epidérmicas comuns, nas faces adaxial e abaxial. A análise multivariada dos dados relacionados às variáveis consideradas mais relevantes para explicar a penetração de herbicidas distinguiu o cultivar sensível RB855113 dos demais materiais. Tais características podem explicar a maior penetração e, conseqüentemente, a maior sensibilidade desse cultivar à mistura trifloxysulfuron-sodium + ametryn.

Palavras chaves: anatomia foliar, herbicida e *Saccharum* spp.

3.2 ABSTRACT – This study aimed to evaluate the anatomical characteristics of foliar slide in the cultivars RB85113, SP80-1842, SP80-1816, RB867515 and the clone RB957689, with different susceptible to trifloxysulfuron-sodium + ametryn herbicide. The first leaf, with totally visible ligule, was collected from five plants of each genotype. It was determined the areas of adaxial and abaxial side of epiderm, mesophyll, bulliform cells, vascular bundles, bundle sheaths, sclerenchyma, xylem and phloem, and then data were related to total area. Trichome density, stomata density, ostiole length, epiderm thickness, perimeter of external periclinal wall of bulliform cells and thickness of external wall of bulliform and epidermic cells are characteristics that were also determined. The cultivar RB85113 showed higher proportion of bulliform cells, more tissue in the transversal section of foliar slide, higher density of stomata and trichome in both

sides, epiderm less thick on adaxial side and stomata with lengthier ostiole in both sides. The external periclinal wall in bulliform cells was thinner than in epidermic cells, in all genotypes. The cultivar RB85113 was distinguished by data multivariate analysis related to the variable considered more relevant to explain herbicide penetration, and the characteristics presented by this cultivar may explain its higher susceptible to trifloxysulfuron-sodium + ametryn herbicide.

Key words: leaf anatomy, herbicide, *saccharum* spp.

3.3 INTRODUÇÃO

Cultivares e clones de cana-de-açúcar possuem sensibilidade diferenciada a herbicidas. Esse fato tem sido motivo de elevada fitotoxicidade em campos de produção, com reduções significativas na produtividade do canavial (Procópio *et al.*, 2003).

O conhecimento dos mecanismos pelos quais ocorre a penetração dos herbicidas através dos tecidos vegetais é fundamental para a correta utilização e eficiência do produto. Os herbicidas podem penetrar nas plantas pelas suas estruturas aéreas (folhas, caules, flores e frutos) e subterrâneas (raízes, rizomas, tubérculos etc.) ou, ainda, pelas sementes durante a germinação e a emergência, pela radícula e pelo caulículo. Contudo, são as folhas, os principais órgãos envolvidos na penetração de herbicidas aplicados em pós-emergência (Silva *et al.*, 2003).

A quantidade do herbicida interceptado e retido nas folhas é influenciada, principalmente, por sua morfologia. No entanto, são as características anatômicas e micromorfológicas da espécie vegetal que determinam a facilidade com que esses produtos serão absorvidos (Hess & Falk, 1990).

Van Dillewijn (1952) observou que a epiderme de folhas de cana-de-açúcar apresenta formações como células buliformes, estômatos do tipo paracítico, célula de sílica e tricomas. Astschawager (1925) distingue três zonas na epiderme: 1) uma central que consiste de células longas alternadas com grupos de células curtas, apresentando tricomas e células de sílica; 2) uma de estômatos; 3) uma marginal que consiste de células longas alternadas com células curtas, apresentando também tricomas e células de sílica. Este autor também destaca a importância da epiderme da face abaxial da folha na identificação de variedades cultivadas de cana-de-açúcar, onde se observam a distribuição dos tricomas e dos estômatos.

As folhas das plantas apresentam vários níveis de desenvolvimento de tricomas e glândulas. *Abutilon theophrasti*, por exemplo, possui tricomas simples e complexos, enquanto *Chenopodium album* possui alta densidade de tricomas glandulares na epiderme adaxial, que podem deixar as células da epiderme totalmente escondidas (Hess & Falk, 1990). Tricomas presentes na superfície foliar podem interceptar gotas pulverizadas, impedindo que estas alcancem a epiderme. Mesmo quando esses tricomas são simples e aparecem em baixa densidade, ocorre a aderência de gotas sobre eles. A eficiência da absorção de herbicidas pelos tricomas e a translocação destes para as células epidérmicas são

parcialmente conhecidas (Hess & Falk, 1990). No entanto, de acordo com Hull (1970), alguma absorção de produtos químicos pode ocorrer via tricoma. *Commelina benghalensis*, mais sensível ao glyphosate em relação a *Commelina difusa*, apresentou maior densidade de tricomas que a espécie mais tolerante (Santos et al., 2002). Todavia, poucos autores afirmam ser os tricomas bom caminho para a entrada de herbicidas nas folhas. De modo geral, parece existir relação negativa entre a aderência dos herbicidas nos tricomas e a eficácia desses produtos (Hess & Falk, 1990).

Segundo Hess & Falk (1990), a maioria das plantas daninhas apresenta estômatos sobre as superfícies adaxial e abaxial (anfiestomáticas). Procópio *et al.* (2003), analisando 40 espécies de plantas daninhas, constataram que 39 eram anfiestomáticas e apenas uma hipoestomática. Meyer *et al.* (1973), realizando contagem do número de estômatos em 39 espécies, observaram que 16 eram anfiestomáticas e, as 23 restantes, hipoestomáticas. Esses autores também acrescentaram que, nas anfiestomáticas, o número de estômatos na face adaxial era, na maioria dos casos, inferior ao da face abaxial.

A gota da calda herbicida, ao ser aspergida na superfície da folha, pode volatilizar ou ser lavada pela chuva; pode, também, permanecer sobre a superfície como líquido viscoso ou na forma de cristal; pode penetrar, mas permanecer absorvido nos componentes lipofílicos da cutícula; pode penetrar na cutícula, na parede celular e, então, translocar antes de atingir o simplasto. Esta é chamada translocação apoplástica, que inclui o movimento no xilema. Quando o produto penetra na cutícula, na parede celular e atinge o interior da célula (pela

plasmalema), ocorre translocação simplástica, que inclui o movimento no floema (Hess, 1995).

Barreiras à penetração de herbicidas, como a alta densidade de tricomas em *N. physaloides*, camada de cera epicuticular espessa em *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum* foram constadas por Ferreira et al. (2003), em estudos de anatomia quantitativa.

A cutícula cobre a parede periclinal externa das células epidérmicas formando um revestimento constituído, principalmente, por substâncias lipídicas. A cutícula é a principal via de absorção dos herbicidas, o que torna o seu conhecimento de importância fundamental nos estudos de absorção desses compostos (Procópio et al., 2003).

Esse revestimento sobre a parede celulósica primária, do interior para o exterior, é constituído por cutícula secundária ou parede cutinizada (cutícula mais parede), cutícula primária ou cutícula propriamente dita, onde se encontra a cera embebida e, sobre o revestimento cuticular, na parte mais externa, a cera epicuticular (Herédia et al., 1998).

Objetivou-se neste trabalho avaliar quantitativamente as características anatômicas da lâmina foliar dos cultivares de cana-de-açúcar RB855113; SP80-1842 ; SP80-1816; RB867515 e do clone RB957689 que apresentam diferentes sensibilidades a herbicidas, visando melhor compreensão sobre as barreiras que cada genótipo impõe à penetração destes compostos.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, em ambiente protegido. O ensaio foi conduzido em vasos contendo seis litros de substrato composto de argissolo vermelho-amarelo, adubado conforme recomendado para a cultura de cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999), sendo plantados dois toletes com uma gema cada. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com cinco repetições.

Os genótipos de cana-de-açúcar utilizados neste experimento foram pré-selecionados em trabalho anterior, quando se analisou a sensibilidade de 15 genótipos de cana-de-açúcar à mistura de herbicidas trifloxysulfuron-sodiun + ametryn. Desses cultivares e clones, foram selecionados para estudos anatômicos: RB855113 (sensível à mistura herbicida), SP80-1842, SP80-1816, RB957689 (mediamente sensíveis à mistura) e RB867515 (tolerante à mistura).

Coletou-se a primeira folha com lígula visível de cinco plantas de cada genótipo. Destas, foram retiradas amostras, da região mediana do limbo foliar. Essas amostras foram fixadas em FAA₅₀, estocadas em etanol 70% (Johansen, 1940) e transportadas ao Laboratório de Anatomia Vegetal pertencente ao Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

Porções de 0,5cm² foram desidratadas em série etílica e incluídas em historresina de acordo com as recomendações do fabricante (Historesin-Leica), cortadas transversalmente em micrótomo rotativo de avanço automático, com navalhas de aço, com 8µm de espessura. O material foi corado com azul de

toluidina pH 4 (O' Brien et al., 1965) e montado com resina sintética (Permound). Para a observação da superfície foliar, em ambas as faces da lâmina, utilizou-se o método da impressão da epiderme com cola instantânea (Rodella et al., 1993).

Para a melhor visualização da cutícula, foram feitos cortes transversais de material não incluído em micrótomo de mesa, corados com sudan vermelho escarlate e montados entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada.

As imagens digitalizadas dos cortes foram obtidas com microscópio de luz acoplado à câmera digital e conectadas a um microcomputador. Para a obtenção dos dados de área e medidas lineares utilizou-se o programa computacional Image Pro-Plus. Para as contagens, utilizou-se câmara clara acoplada a microscópio de luz.

Na seção transversal da lâmina foliar, utilizando-se objetiva de 10X (Figura 1), foram determinadas as seguintes características anatômicas: área de epiderme na face adaxial e abaxial; área de mesofilo; área de células buliformes; área de feixes vasculares; área de bainha do feixe vascular; área de esclerênquima, área de xilema e área de floema, espessura da epiderme (ambas as faces), perímetro da parede periclinal externa das células buliformes e das células comuns da epiderme (ambas as faces). Na superfície foliar (Figura 2, A-B), em ambas as faces, foram avaliadas as seguintes características: densidade de tricomas, densidade de estômatos e comprimento do ostíolo. Os dados de área foram transformados em % em relação a área total e as contagens e medidas lineares foram tomadas de 10 campos por repetição.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foram selecionadas as características consideradas mais relevantes à penetração de herbicidas nas faces adaxial e abaxial, como densidade de tricomas, densidade de estômatos, comprimento de ostíolo, espessura de epiderme, perímetro da parede periclinal externa das células buliformes e espessura da parede periclinal externa das células buliformes e das células comuns da epiderme (ambas as faces). Esses dados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o método multivariado de análise de variáveis canônicas, procurando-se agrupar os tratamentos de acordo com o seu grau de similaridade.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 *Análise univariada*

As principais células e tecidos presentes na lâmina foliar em corte transversal e em vista paradérmica, de cana-de-açúcar estão apresentados nas figuras 1 e 2 (A e B).

Os três tecidos/células que ocorrem em maior proporção, em ordem decrescente, na seção transversal da lâmina foliar dos cultivares RB867515, SP80-1842, SP80-1816 e do clone RB957689 são o mesofilo, seguido de células buliformes e de bainha do feixe vascular. Já o cultivar RB855113 apresentou maior proporção de células buliformes, seguido de mesofilo e de bainha do feixe vascular (Tabela 1, Figura 1).

RB855113 apresentou 30,20% de células buliformes na seção transversal da lâmina foliar, diferindo dos demais RB867515 (25,15%), SP80-1816 (25,15%), SP80-1842 (24,15%) e do clone RB957689 (24,55%) (Tabela 1). As células buliformes formam faixas de diferentes larguras na superfície foliar (Esau, 1965). Estas células são geralmente descritas como células motoras, estando envolvidas no processo de enrolamento e desenrolamento das folhas. Porém, estudos indicam que o enrugamento de outros tecidos também está relacionado com esse fenômeno (Shields, 1951).

No cultivar RB855113 constatou-se menor proporção de bainha do feixe vascular (13,78%), porém, sem diferir do cultivar RB867515 (15,66%); todavia estes cultivares diferiram do clone RB957689 (17,11%) e dos cultivares SP80-1816 (16,60%) e SP80-1842 (16,97%) para essa característica (Tabela 1).

Os cultivares RB957689 e SP80-1842 apresentaram menor proporção de floema em relação aos demais cultivares com, respectivamente, 2,67% e 2,59%, porém, sem diferir dos cultivares RB855113 e SP80-1816 que apresentaram proporção intermediária com 2,76% e 2,97% de floema, e diferindo do clone RB957689 (3,34%) (Tabela 1). O floema é o tecido que transloca os produtos da fotossíntese das folhas maduras para as áreas de crescimento e armazenagem, também redistribui a água e os vários compostos pelo corpo da planta (Taiz & Zeiger, 2002). A proporção de floema mais elevada em um cultivar pode estar relacionado com a facilidade de translocação de herbicidas sistêmicos (Procópio et al., 2003). Entretanto, nesse caso, não foi observada relação entre proporção de floema e sensibilidade à mistura de herbicidas.

A densidade de estômatos na face adaxial das folhas de cana-de-açúcar diferiu entre os cultivares. Maiores valores foram observados no cultivar RB855113 e no clone RB957689 (85,60 e 83,60 estômatos mm^{-2} , respectivamente), e menor valor no cultivar RB867515 (71,20 estômatos mm^{-2}) (Tabela 2). Na face abaxial, o cultivar RB855113 também apresentou maior densidade de estômatos (163,40 estômatos mm^{-2}) diferindo dos demais cultivares e clones avaliados: SP80-1842 (140,80 estômatos mm^{-2}), SP80-1816 (144,60 estômatos mm^{-2}), RB867515 (144,00 estômatos mm^{-2}) e RB957689 (139,8 estômatos mm^{-2}) (Tabela 2). É importante lembrar que, em pulverizações agrícolas de herbicidas, a dificuldade das gotas atingirem a face abaxial é grande; conseqüentemente, a importância da absorção pelos estômatos nesta face da lâmina foliar é tida como reduzida. Outro fator que pode reduzir a importância da absorção de herbicidas pelos estômatos pode ser atribuído ao fato destes, em vários horários do dia, e também à noite, estarem fechados. Contudo, Taylor et al. (1980) afirmaram ser os estômatos as principais vias de penetração do bentazon em folhas de *Chenopodium album*.

Quanto ao tamanho dos estômatos, o cultivar RB855113 apresentou maior comprimento do ostíolo, em ambas as faces, com valor médio 23,41 μm na face adaxial e 26,05 μm na face abaxial (Tabela 3). As células estomáticas estão cobertas com uma cutícula que se estende até as câmaras subestomáticas, podendo estar completamente cobertos por cera (Esau, 1982). O cultivar RB855113 apresentou maior densidade de estômatos e maior comprimento de

ostíolo; essas características podem representar um fator importante na maior sensibilidade desse cultivar à mistura de herbicidas.

Quanto à presença de tricomas no limbo foliar de cana-de-açúcar, o cultivar RB855113 apresentou maior densidade nas faces adaxial e abaxial (31,28 e 121,04 estômatos mm^{-2} , respectivamente), diferindo dos demais cultivares. Nos cultivares SP80-1816 e SP80-1842 observou-se menor densidade de tricomas na face adaxial. Contudo, nos cultivares SP80-1816, RB867515 e no clone RB957689 foi observado menor densidade de tricomas na face abaxial (Tabela 2). Sargent & Blackman (1962) afirmam que a cutícula é mais permeável na porção basal dos tricomas; por esse fato, a penetração de substâncias poderia ser facilitadas nessa região. Entretanto, Hess & Falk (1990) afirmam que os tricomas constituem-se barreira à penetração de herbicidas, que permanecem aderidos nos tricomas sem chegar à epiderme. Segundo Motomura et al. (2000), é comum a deposição de sílica nas paredes dos tricomas das gramíneas, conferindo-lhes maior resistência.

Comparando-se a espessura da epiderme dos cinco genótipos, constatou-se que o cultivar RB855113 apresentou menor espessura (13,09 μm) na face adaxial, porém, sem diferir da cultivar SP80-1842 (14,63 μm), sendo diferente dos demais cultivares. Na face abaxial não foi observada diferença estatística entre os cultivares (Tabela 3). A maior parte do herbicida aspergido numa aplicação é interceptado, preferencialmente, pela face adaxial da folhas, sendo dificilmente depositada na face abaxial; isso faz com que a face adaxial tenha

maior importância na interceptação e penetração de herbicidas (Hess & Falk, 1990).

Ao analisar o perímetro da parede periclinal externa das células buliformes, verificou-se que o cultivar SP80-1842 apresentou maior perímetro (98,64 μ m), sem diferir do cultivar RB855113 (98,6464 μ m) e diferindo do cultivar RB867515 e do clone RB957689 que apresentaram menor perímetro de células buliformes, com valores médios de 86,98 e 75,43 μ m, respectivamente.

No que se refere à espessura da parede periclinal externa das células buliformes, não foi observada diferença entre os cultivares (Tabela 4).

O cultivar RB867515 apresentou maior espessura de parede periclinal externa das células epidérmicas na face adaxial (4,71 μ m), diferindo do clone RB957689 e do cultivar SP80-1842 (4,06 e 3,97 μ m), respectivamente. Entretanto sem diferir dos cultivares RB855113 e SP80-1816 (4,42 e 4,14 μ m). O mesmo cultivar RB867515 apresentou maior espessura de parede periclinal externa das células epidérmicas na face abaxial (4,29 μ m), diferindo do clone RB957689 (3,50 μ m) e dos cultivares SP80-1816 (3,88 μ m) e SP80-1842 (3,75 μ m), todavia sem diferir do cultivar RB855113 (3,85 μ m) (Tabela 4).

Comparando a espessura da parede periclinal externa das células buliformes e das células comuns, em ambas as faces, dentro dos cultivares, verificou-se que a parede é mais delgada sobre as células buliformes (Tabela 4). Observou-se, também, que a parede periclinal externa das células epidérmicas comuns, nas faces adaxial e abaxial, apresenta coloração azul esverdeada, indicando a presença de lignificação e, sobre as células buliformes, coloração

azul intenso, indicando a ausência de lignificação (Figura 3A). Segundo O' Brien et al. (1964), o corante azul de toluidina, em pH 4, proporciona coloração diferenciada dependendo da composição química do tecido analisado; a parede lignificada apresenta uma coloração azul esverdeada, devido à lignina, composto fenólico presente na parede. Já a parede sem este composto apresenta uma coloração azul intenso. O material corado com sudan vermelho escarlata (Figura 3B) revelou a presença de uma fina camada de cutícula sobre a parede periclinal externa de todas as células epidérmicas, na cor alaranjada.

Como a parede periclinal externa das células buliformes apresenta deposição de cutícula como as demais células epidérmicas (Figura 3B), a ausência de lignina nessas paredes (Figura 3A), aliado à menor espessura, pode tornar essa região uma via preferencial na penetração de herbicidas.

3.5.2 Análise multivariada

A técnica de variáveis canônicas consiste na transformação das variáveis originais em variáveis padronizadas e não correlacionadas, com a característica de manter o princípio do processo de conglomeração com base na distância de Mahalanobis (Mahalanobis, 1936, citado por Cruz, 1990). O novo conjunto de variáveis, em ordem de estimação, retém o máximo de informação em termos de variação total. Essas variáveis explicarão tanto melhor a variabilidade manifestada.

Para análise multivariada, foi selecionado um conjunto de 12 variáveis consideradas mais relacionadas à penetração de herbicidas (densidade de tricomas em ambas as faces, densidade de estômatos em ambas as faces,

comprimento do ostíolo em ambas as faces, espessura da epiderme em ambas as faces, perímetro da parede periclinal externa das células buliformes, espessura da parede periclinal externa das células epidérmicas comuns, em ambas as faces, e das células buliformes). Hess et al. (1990) e Procópio et al. (2003) afirmam que os principais fatores anatômicos que influenciam a penetração de herbicidas são os tricomas, estômatos, cutícula e parede.

Devido ao alto valor de informação retida na variável canônica CAN1 (78,99%) (Tabela 5), essa primeira variável canônica pode ser considerada suficiente para explicar a contribuição das variáveis originais analisadas, para os cinco cultivares em cinco blocos. Para a segunda variável canônica (CAN2), a análise da tabela 5 revela que a informação retida é de 12,49%. Assim, as duas primeiras variáveis explicam 91,48 da variação total nos dados originais. Segundo Regazzi (1998), quando as primeiras variáveis explicam mais de 80% da variação total, é viável o estudo da divergência por meio de distância entre cultivares em gráficos de dispersão, cujas coordenadas são escores relativos às primeiras variáveis canônicas.

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, os tratamentos em vários grupos, de tal forma que existam homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos. Alternativamente, as técnicas de análise agrupamento têm por objetivo dividir um grupo original de observações em vários grupos, segundo algum critério de similaridade ou dissimilaridade entre os tratamentos (Cruz & Regazzi, 1997). O método de otimização de Tocher distribuiu os cinco cultivares estudados em dois

grupos; o primeiro, formado pelos cultivares RB867515, RB957689, SP80-1816 e SP80-1842; o segundo, pelo cultivar RB855113.

As doze variáveis analisadas foram eficientes para distinguir dois grupos de cultivares. Os cultivares SP80-1842, SP80-1816 e o clone RB957689, que apresentam média sensibilidade à mistura de herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn, foram alocados com o cultivar RB867515, tolerante à mistura de herbicidas. Já o cultivar RB855113, sensível à mistura, está isolado em um grupo à parte (Figura 5).

Fazendo análise conjunta dos dados, pode ser constatado que o cultivar RB855113, sensível à mistura de herbicidas, se diferencia dos demais cultivares em várias características como maior proporção de células buliformes, maior densidade de estômatos, em ambas as faces, estômatos com maior comprimento de ostíolo, em ambas as faces, maior densidade de tricomas, em ambas as faces, epiderme da face adaxial mais delgada que os demais cultivares. Juntamente com o SP80-1816, o cultivar RB855113 apresentou maior perímetro da parede externa das células buliformes. Como já discutido, tais características podem explicar sua maior sensibilidade à mistura trifloxysulfuron-sodium + ametryn.

A análise multivariada dos dados relacionados às variáveis consideradas mais relevantes para explicar a penetração de herbicidas distinguiu o cultivar sensível RB855113 dos demais materiais, indicando que o conjunto das doze variáveis foi eficiente para a formação deste agrupamento, porém, não separou os grupos de cultivares com média sensibilidade dos tolerantes à mistura.

3.6 LITERATUA CITADA

ALVES DE BRITO, C.J.F. **Organização estrutural e degradação *in vitro* de tecidos em *Pennisetum purpureum* Schum. (Poaceae).** Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 119p. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. 1996.

ASTSCHWAGER, H.S.A. Anatomy of the vegetative organs of sugarcane. **Journal of Agricultural**, V.30, p.197-221, 1925.

AUDUS, L.J. **The physiology and biochemistry of herbicides.** 2. ed. New York: 467p. 1976.

CFSEMG (Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação.** Viçosa-MG: UFV. 359p. 1999.

CRUZ, C.D. **Aplicações de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas.** Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 188p. 1990.

CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa, UFV. 390p. 1997.

ESAU, K. **Anatomia de las plantas con semilla.** Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires-Argentina. 512p. 1982.

FERREIRA, E.A. et al. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas. I – *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. **Planta Daninha**, n.2, p.159-167, 2002.

GERLACH, D. Botanische Mikrotechnik. Stuttgart, **Georg Thieme Verlag.** 311p. 1984.

- HEREDIA, A. et al. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecología**, v.12, p.293-305, 1998.
- HESS, F.D. **Absorption**. In: Herbicide action course. Purdue University. 785p. 1995.
- HESS, F.D. & FALK, R.H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, v.38, p.280-288, 1990.
- HULL, H.M. Leaf structure as related to absorption of pesticides and other compounds. **Residue Rev**, v.38, p.1-155, 1970.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York, **McGraw-Hill Book Co.** Inc., 523p. 1940.
- MEYER, B. et al. **Introdução à fisiologia vegetal**. 2.ed. Lisboa. 710p. 1973.
- PROCÓPIO, S.O. et al **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa, MG Universidade Federal de Viçosa, 150p. 2003.
- SILVA, A.A. et al **Controle de plantas daninhas**. Brasília, DF: ABEAS. 260p. 2003.
- PROCÓPIO, S.O. et al. **Anatomia foliar de plantas daninhas do Brasil**. Volume I. Viçosa MG. 118p. 2003.
- RODELLA. R.A. et al. Anatomia comparativa foliar e caulinar de duas espécies daninhas de *Merremia* (Convolvulaceae). **Científica**. v.21, p.345-353, 1983.
- SANTOS, I.C. et al. Características anatômicas de duas espécies de trapoeraba e a eficiência do glyphosate. **Planta Daninha**. v.20, p.1-8, 2001.

- SARGENT, J.A.; BLACKMAN, G.E. Studies on foliar penetration. I. Factors controlling the entry of 2,4-dicloroacetic acid. **J. exp. Bot.**, v.13, p.384-368, 1962.
- SHIELDS, L.M. The involution mechanism in leaves of certain xeric grasses. **Phytomorphology**, v.1, p.337-391, 1951.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª Edição. Artmed Editora S.A., SP. 719p. 2002.
- TAYLOR, F.E. et al. The effects of bentazon on stomatal behavior in *Chenopodium album* L. **New Phytologist**, v.63, p.369-376, 1980.
- VAN DILLEWIJN, C. Botany of sugarcane. **Waltham, Mass., USA**. The Chronica Botanica co.: Book Departament. 371p. 1957.
- VELINI, E.D. & TRINDADE, M.L.B. Comportamento de herbicidas na planta. Época de aplicação de herbicidas. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE MANEJO INTEGRADO DE PLANTAS DANINHAS EM HORTALIÇAS, Botucatu, SP. **Anais...** Botucatu: UNESP, p.65-86, 1992.
- WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.27, p.355-364, 1976.

3.7 FIGURAS E TABELAS

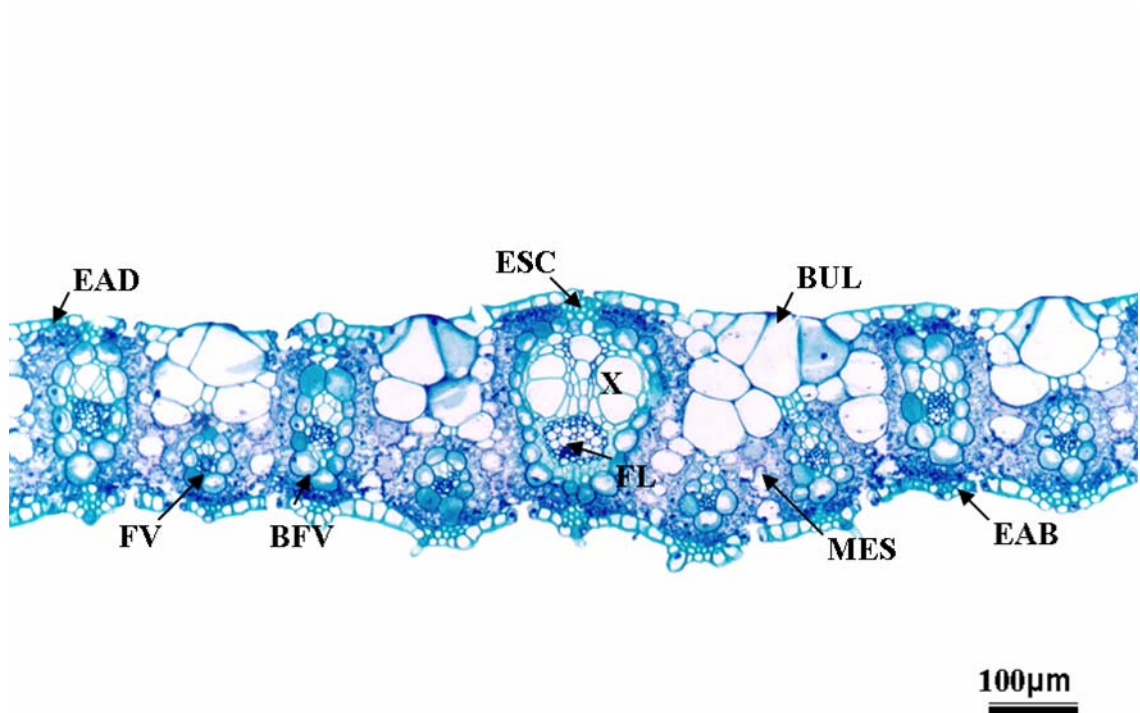


Figura – 1 Seção transversal da lâmina foliar de cana-de-açúcar, cultivar RB855113. Feixes vasculares (FV); bainha do feixe vascular (BFV); esclerênquima (ESC); epiderme da face adaxial (EDA); epiderme da face abaxial (EBA); células buliformes (BUL); xilema (X); floema (FL) e mesofilo (MES).

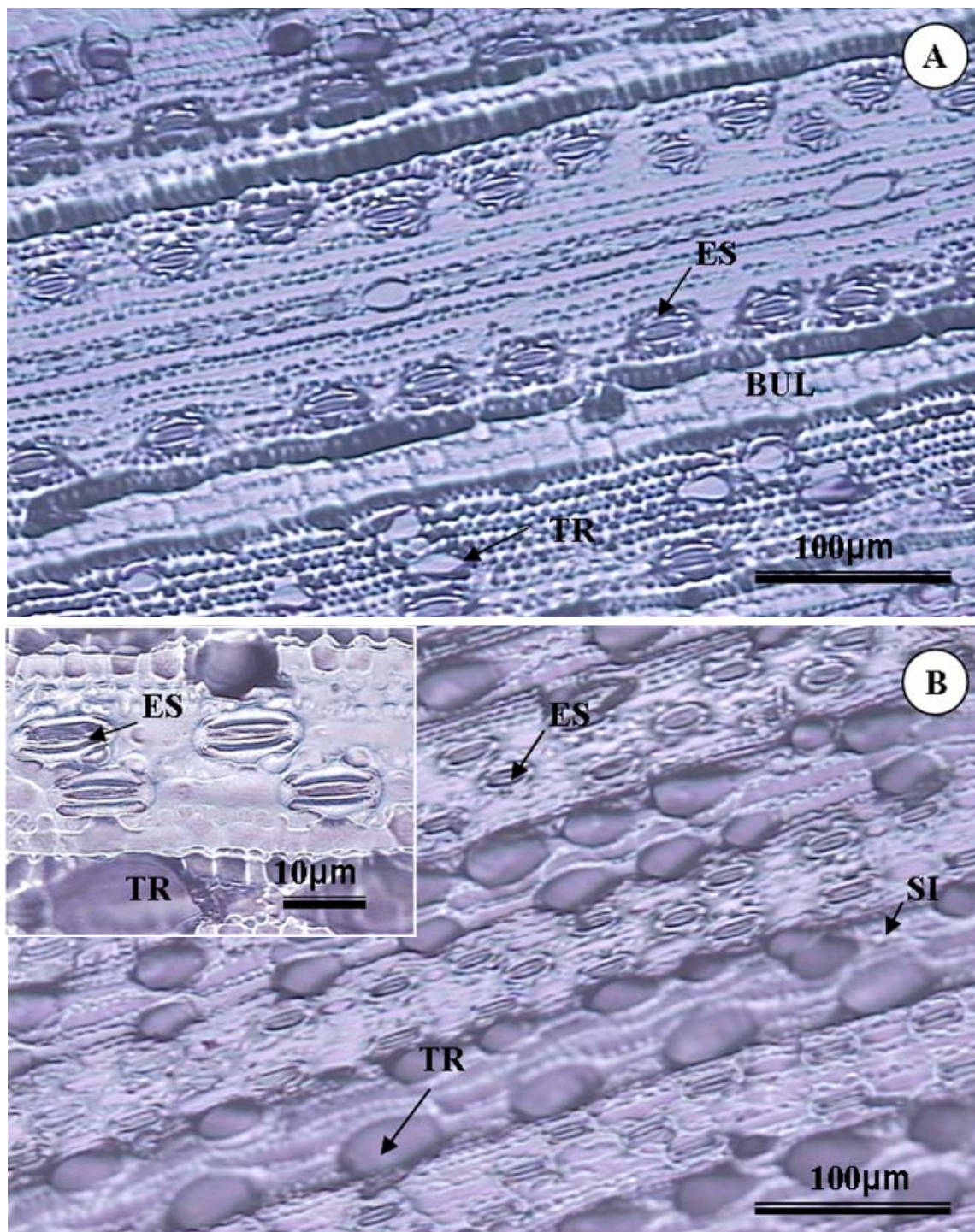


Figura - 2 Impressão paradérmica da lâmina foliar de cana-de-açúcar, cultivar RB855113; (A) face adaxial; (B) face abaxial. TR: tricomas; ES: estômatos; BUL: células buliformes; SI: células de sílica.

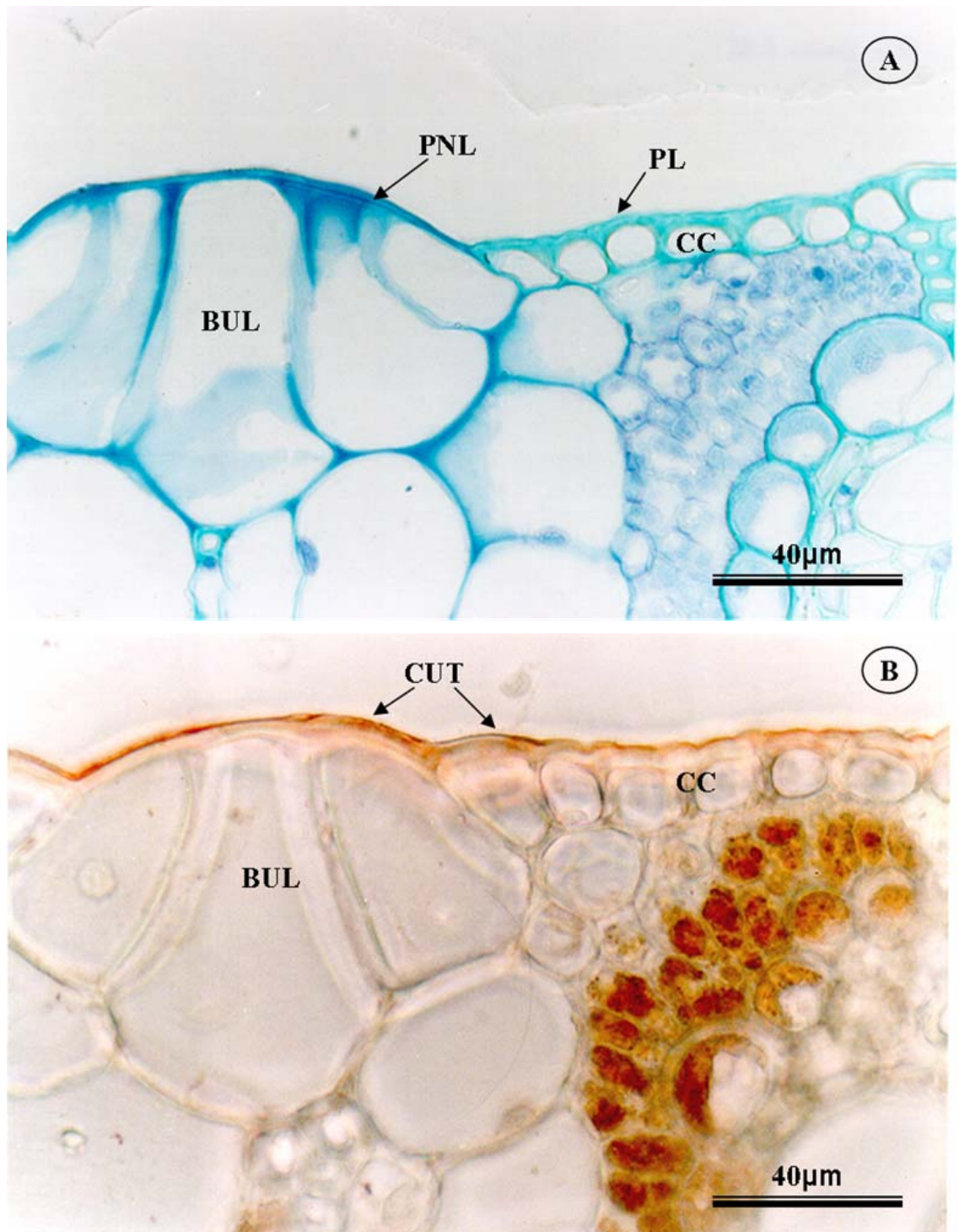


Figura – 3 Detalhe da seção transversal da lâmina foliar de cana-de-açúcar, cultivar RB855113; (A) corado com azul de toluidina; (B) corado com sudan vermelho escarlata. CC: célula comum da epiderme; BUL: células buliformes; PL: parede lignificada; PNL: parede não lignificada; CUT: cutícula.

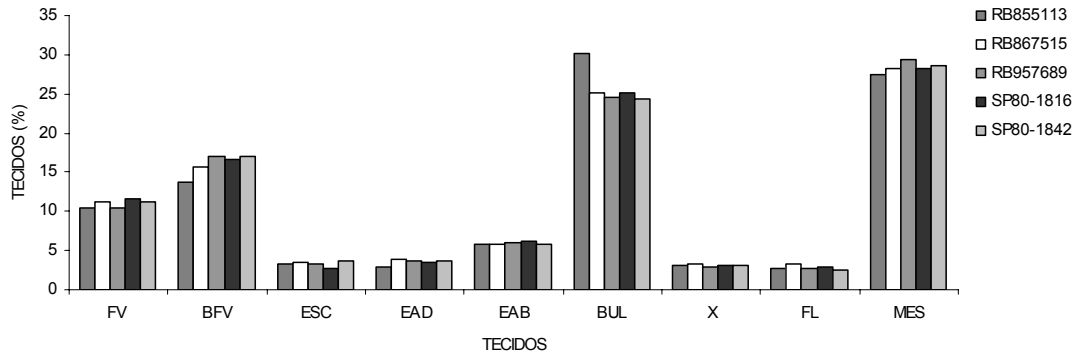


Figura – 4 Proporção de tecidos (%) em relação à área total da lâmina foliar: feixes vasculares (FV); bainha do feixe vascular (BFV); esclerênquima (ESC); epiderme da face adaxial (EAD); epiderme da face abaxial (EAB); células buliformes (BUL); xilema (X) floema (FL); mesofilo (MES) de cinco genótipos de cana-de-açúcar.

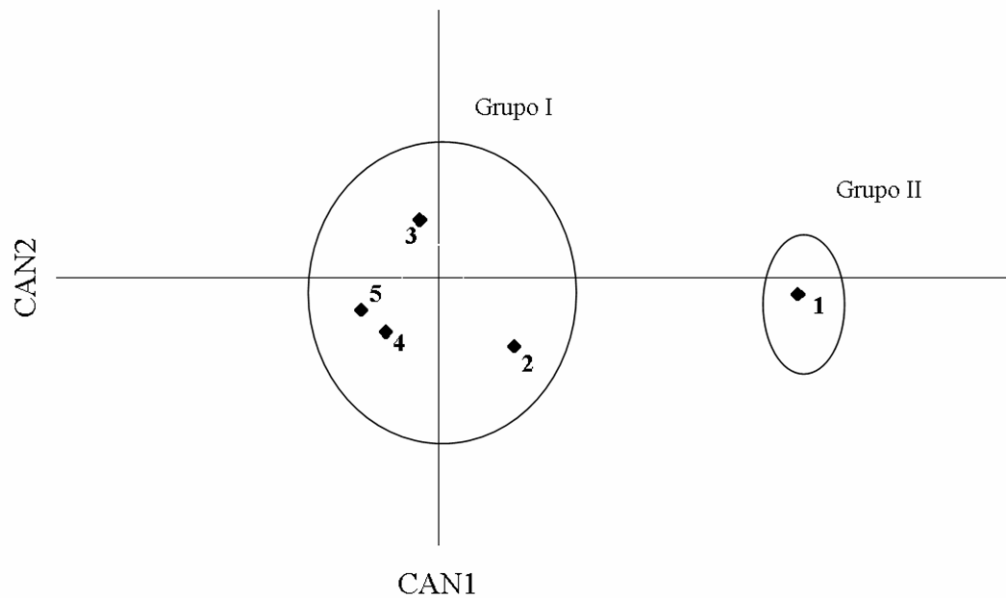


Figura – 5 Dispersão gráfica dos cinco genótipos de cana-de-açúcar (1-RB855113; 2-RB867515; 3-RB957689; 4-SP80-1816 e 5-SP80-1842), utilizando-se as duas primeiras variáveis canônicas (CAN1 e CAN2), para o conjunto de doze variáveis (densidade de tricomas, em ambas as faces, densidade de estômatos, em ambas as faces, comprimento do ostíolo, em ambas as faces, espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial, perímetro da parede periclinal externa das células buliformes, espessura da parede periclinal externa das células epidérmicas comuns, em ambas as faces, e das células buliformes).

Tabela – 1 Proporção dos tecidos em relação à área total da lâmina foliar: feixes vasculares (FV%); bainha do feixe vascular (BFV%); esclerênquima (ESC%); epiderme da face adaxial (EAD %); epiderme da face abaxial (EAB); células buliformes (BUL %); xilema (X%); floema (FL%); mesofilo (MES%) de cinco genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	FV	BFV	ESC	EAD	EAB	BUL	X	FL	MÊS
	------(%) de tecidos em relação a área total-----								
RB855113	10,50a	13,78b	3,30a	2,99a	5,84a	30,20a	3,03a	2,76ab	27,55a
RB867515	11,22a	15,66ab	3,34a	3,86a	5,83a	25,15b	3,22a	3,34a	28,15a
RB957689	10,46a	17,11a	3,22a	3,77a	6,05a	24,55b	2,82a	2,67b	29,35a
SP80-1816	11,67a	16,60a	2,73a	3,46a	6,10a	25,10b	3,01a	2,97ab	28,29a
SP80-1842	11,31a	16,97a	3,58a	3,59a	5,80a	24,37b	3,16a	2,59b	28,61a
CV%	6,17	7,14	18,00	13,71	11,02	2,58	11,03	10,69	4,31

Médias seguidas por mesma letra numa coluna não diferem pelo teste de tukey (P<0,05).

Tabela – 2 Valores médios de densidade de estômatos nas faces adaxial e abaxial (DAD e DAB), densidade de tricomas nas faces adaxial e abaxial (TAD e TAB), em genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	Estômatos mm ⁻²		Tricomas mm ⁻²	
	DAD	DAB	TAD	TAB
RB855113	85,60a	163,40a	31,25a	121,04a
RB867515	71,20b	144,00b	25,58b	88,44bc
RB957689	83,60a	139,80b	26,30b	85,56bc
SP80-1816	77,00ab	144,60b	19,18c	98,12b
SP80-1842	77,60ab	140,80b	16,84c	82,81c
CV%	7,12	3,69	10,85	7,53

Médias seguidas por mesma letra numa coluna não diferem pelo teste de tukey (P<0,05).

Tabela – 3 Valores médios de comprimento de ostíolo nas faces adaxial e abaxial (COAD e COAB), espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial (EEAD e EEAB) e perímetro da parede periclinal externa das células buliformes (PEB) em genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	COAD	COAB	EEAD	EEAB	PEB
	-----µm-----				
RB855113	23,42a	26,06a	13,09b	12,22a	98,64ab
RB867515	21,10b	23,49b	15,54a	12,42a	81,95c
RB957689	21,27b	23,86b	15,23a	12,50a	75,43c
SP80-1816	19,76b	22,67bc	15,44a	12,45a	108,29a
SP80-1842	19,58b	21,52c	14,62ab	11,80a	89,99bc
CV%	4,52	4,16	5,39	7,39	19,74

Médias seguidas por mesma letra numa coluna não diferem pelo teste de tukey (P<0,05).

Tabela – 4 Valores médios de espessura da parede periclinal externa das células buliformes (PBL), nas células epidérmicas na face adaxial (PAD) e na face abaxial (PAB) de folhas de genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	EBL	EAD	EAB	CV%
	-----µm-----			
RB855113	2,38Ab	4,24abA	3,85abA	6,91
RB867515	2,44aB	4,71aA	4,29aA	6,78
RB957689	2,66aC	4,06bA	3,50bB	5,86
SP80-1816	2,78aB	4,14abA	3,88abA	5,00
SP80-1842	2,67aB	3,97bA	3,75abA	6,50
CV%	8,18	7,39	7,57	

Médias seguidas por mesma letra minúscula numa coluna não diferem estatisticamente pelo teste de tukey (P<0,05). Médias seguidas por mesma letra maiúscula numa linha não diferem estatisticamente pelo teste de tukey (P<0,05).

Tabela – 5 Correlações entre as dose variáveis originais referentes à anatomia da seção transversal da lâmina foliar da cana-de-açúcar, e as duas variáveis canônicas (CAN1 e CAN2). Porcentagem de informação retida e acumulada em CAN1 e CAN2, e ordenação das variáveis quanto ao seu poder discriminatório.

Variáveis	CAN1	Ordem	CAN2	Ordem
Densidade de estômatos na face adaxial (.mm ⁻²)	0,05	10	0,20	5
Densidade de estômatos na face abaxial (.mm ⁻²)	0,19	6	-0,24	10
Densidade de tricomas na face adaxial (.mm ⁻²)	0,34	3	0,22	4
Densidade de tricomas na face abaxial (.mm ⁻²)	0,06	9	-0,01	7
Comprimento do ostíolo na face adaxial (µm)	0,29	5	0,28	3
Comprimento do ostíolo na face abaxial (µm)	0,17	7	-0,12	8
Espessura da epiderme na face adaxial (µm)	-0,33	12	-0,33	12
Espessura da epiderme na face adaxial (µm)	0,34	4	0,10	6
Perímetro parede periclinal externa das células buliformes (µm)	0,54	1	-0,19	9
Espessura da parede periclinal externa sobre as células buliformes (µm)	-0,23	11	-0,25	11
Espessura da parede periclinal externa sobre as células epidérmicas comuns na face adaxial (µm)	0,39	2	0,60	1
Espessura da parede periclinal externa sobre as células epidérmicas comuns na face abaxial (µm)	0,10	8	0,42	2
Informação retida (%)	78,99		91,48	
Informação acumulada (%)	78,99		12,49	

4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA CERA EPICUTICULAR E CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE FOLIAR EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

*Chemical Composition of Epicuticular Wax and Leaf Surface Characterization In
Sugarcane Genotypes*

4.1 RESUMO - Objetivou-se neste trabalho avaliar a composição química da cera epicuticular e caracterizar a superfície foliar dos cultivares de cana-de-açúcar RB855113 (sensível à mistura de herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn), SP80-1842, SP80-1816 e do clone RB957689 (com média sensibilidade à mistura de herbicidas) e do cultivar RB867515 (tolerante). A cera epicuticular foi extraída e quantificada e os seus constituintes analisados por cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM). Para a determinação da composição química, assim como a caracterização da superfície foliar dos cultivares avaliados, amostras de lâmina foliar foram coletadas e submetidas à microscopia eletrônica de varredura, para caracterização das faces adaxial e abaxial. A análise das amostras revelou a presença de hidrocarbonetos, esteróides, ésteres graxos, álcoois e aldeídos. A cera do cultivar sensível à mistura (RB855113), apresentou menor número de componentes químicos e predominância de ésteres graxos de cadeia mais curta que os encontrados nos demais cultivares, e pequena proporção de esteróides e hidrocarbonetos. Nos cultivares com média sensibilidade (SP80-1842 e RB867515), a cera apresentou maior proporção de hidrocarbonetos e esteróides. A cera do cultivar RB855113

apresentou polaridade intermediária, porém, menos polar que a cera do cultivar RB867515 (tolerante à mistura). Não foram observadas diferenças marcantes entre os cultivares no que se refere a micromorfologia foliar.

Palavras-chave: composição química, *Saccharum* spp, micromorfologia foliar e cromatografia a gás.

4.2 ABSTRACT - This study aimed to evaluate the chemical composition of epicuticular wax and to characterize the foliar surface in the sugarcane cultivars RB85113 (sensitive to trifloxysulfuron-sodium + ametryn herbicide), SP80-1842, SP80-1816, the clone RB957689 (with medium sensitivity to trifloxysulfuron-sodium + ametryn herbicide) and the cultivar RB867515 (tolerant). The epicuticular wax was extracted and quantified, and its contents were submitted to gas chromatography, acoplated to a mass spectrometer. Samples of foliar slides were collected and submitted to electron scanning microscopy to characterize adaxial and abaxial sides, and to determine chemical composition. This analysis showed the presence of hydrocarbon, steroids, steres graxos, alcohols and aldehyde. The cultivar RB85113 presented wax with lower chemical composition, predominance of steres graxos and low proportion of hydrocarbon. In SP80-1842 and RB867515, the wax presented higher proportion of hydrocarbon and steroids. In RB85113, the wax polarity was intermediate, however, the polarity in RB867515 was higher. In relation to foliar Micromorphology, there were not relevant differences.

Key words: chemical composition, *Saccharum* spp, foliar micromorfology e gas chromatography.

4.3 INTRODUÇÃO

Os herbicidas podem penetrar nas plantas por suas estruturas aéreas (folhas, caules, flores e frutos) e subterrâneas (raízes, rizomas, tubérculos etc.), pelas sementes e, também, durante a germinação e a emergência, pela radícula e pelo caulículo (Silva et al., 2000). Contudo, são as folhas, o principal órgão das plantas daninhas envolvido na penetração de herbicidas aplicados em pós-emergência (Procópio et al., 2003). Portanto, o conhecimento dos mecanismos responsáveis pela penetração dos herbicidas em tecidos vegetais pode auxiliar no desenvolvimento de novas técnicas, visando a melhoria da eficiência desses produtos no controle de plantas daninhas.

Em consequência da evolução química e biológica dos organismos vivos, desenvolveu-se uma série de estruturas, de natureza polimérica, que os isolam e os protegem das variações do meio ambiente. Esta função é assumida nas plantas superiores pela cutícula ou membrana cuticular (Herédia et al., 1998).

A cutícula cobre as paredes periclinais externas das células epidérmicas formando um revestimento constituído, principalmente, por substâncias lipídicas. A cutícula é a principal via de absorção dos herbicidas, o que torna o seu conhecimento de importância fundamental nos estudos de absorção desses compostos (Procópio et al., 2003).

Esse revestimento sobre a parede celulósica primária, do interior para o exterior, é constituído por cutícula secundária ou parede cutinizada (cutícula

mais parede), cutícula primária ou cutícula propriamente dita, onde se encontra a cera embebida e, sobre o revestimento cuticular, na parte mais externa, a cera epicuticular (Herédia et al., 1998).

A composição química do revestimento cuticular é variada, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. A cutina é um biopoliéster insolúvel, de elevado grau de entrecruzamento entre os ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa que a compõem, enquanto a cera apresenta-se embebida neste polímero ou depositada no exterior da cutícula (epicuticular). A cera epicuticular pode ser depositada em uma variedade de formas físicas; em algumas plantas, formam camadas finas, em outras, podem formar placas ou cristais de diferentes tamanhos e formas. Devido a sua composição química, refletida no grau de cristalinidade, e à possibilidade de constituir na superfície da membrana cuticular uma película que atua como uma interfase entre a célula vegetal e o meio, a cera se destaca como a principal barreira protetora frente às perdas de água por transpiração excessiva, à ação de patógenos, às radiações solares e à entrada de produtos químicos e contaminantes (Heredia et al., 1998).

A quantidade e a composição da cera epicuticular varia com a espécie e com a variedade. As diferenças dependem, também, das condições climáticas, do organismo estudado e da fenologia da planta. A cera epicuticular é uma complexa mistura de diferentes compostos alifáticos. Normalmente, esses compostos contêm séries homólogas de alcanos, alcoóis (primários e secundários), aldeídos, ácidos, cetonas, β -dicetonas, β -dicetonas e ésteres (Bianchi & Bianchi, 1990).

Segundo Ahrens (1994), substâncias polares são mais facilmente absorvidas por plantas que apresentam cera epicuticular com composição química mais polar.

Os cultivares e clones de cana-de-açúcar apresentam sensibilidade diferenciada a herbicidas, sendo que a aplicação destes produtos pode promover níveis elevados de fitotoxicidade, ocasionando perdas na produção (Procópio et al., 2003). Esse grau de sensibilidade pode estar associado à morfologia da superfície foliar, bem com a composição química da cera epicuticular.

Este trabalho teve como objetivos caracterizar micromorfológicamente a superfície foliar e determinar a composição química da cera epicuticular dos cultivares de cana-de-açúcar RB855113, RB867515, SP80-1816, SP80-1842 e do clone RB957689, relacionando tais conhecimentos ao grau de tolerância dos materiais estudados à mistura de herbicidas (trifloxysulfuron-sodium + ametryn).

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, em ambiente protegido. O ensaio foi conduzido em vasos contendo seis litros de substrato, composto de argissolo vermelho-amarelo adubado, conforme recomendação para a cultura da cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999). Em cada vaso foram plantados dois toletes com uma gema cada. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com cinco repetições.

Em trabalho anterior, foi verificada a sensibilidade de 15 cultivares de cana-de-açúcar à mistura dos herbicidas trifloxysulfuron sodium + ametryn; desses cultivares, foram selecionados, para estudos anatômicos e químicos, os cultivares RB855113 (sensível à mistura herbicida), SP80-1842, SP80-1816, o clone RB957689 (medianamente sensíveis à mistura) e o cultivar RB867515 (tolerante à mistura). Os dois herbicidas da mistura apresentam estrutura molecular hidrofílica ou seja, com alta polaridade.

As folhas foram coletadas aos 60 dias após a emergência e a cera epicuticular foi extraída da primeira folha com lígula totalmente visível utilizando-se a metodologia de Hamilton (1995), com modificações. Para isso, uma folha de cada repetição foi introduzida, separadamente, em placa de petri com 100 mL de clorofórmio por 30 segundos, agitando-se levemente. Esse procedimento foi realizado cuidadosamente para se evitar a ruptura das folhas e a conseqüente liberação dos compostos celulares. Os extratos obtidos foram filtrados com papel de filtro e transferidos para um béquer, onde foram evaporados em banho-maria, até reduzir o volume para, aproximadamente, 15 mL. Esta solução (clorofórmio mais cera) foi transferida para tubos de ensaio de 25 mL, de peso conhecido. O clorofórmio foi evaporado em banho-maria para obtenção do resíduo sólido (cera). A quantificação da cera foi expressa pela quantidade de cera por unidade de área foliar ($\mu\text{g cm}^{-2}$). Para determinação da área das folhas de cada cultivar, utilizada para extração da cera, foi utilizado um aparelho fotoelétrico de medição de área foliar (ΔT Delta-T Devices).

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Cada amostra foi submetida à análise em espectrômetro de infravermelho registrados entre 4000-5000 cm^{-1} e transesterificadas através de reação com H_2SO_4 /metanol. As amostras foram submetidas ao processo de transesterificação para o preparo de seus respectivos ésteres metílicos de ácidos graxos, de acordo com o seguinte procedimento: em cada tubo de ensaio contendo 2 a 5 mg, as amostras foram adicionadas em 1 mL de solução 2% de H_2SO_4 em metanol. Após duas horas, em banho-maria, à temperatura de 55°C, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 10 mL de hexano, e a mistura transferida para um funil de separação. A fase orgânica foi separada e lavada com solução saturada de NaCl (2x10mL) e, em seguida, concentrada em evaporador rotatório, dissolvidas em 0,2 mL de hexano e injetadas (μm) em cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas. Os ésteres metílicos obtidos juntamente com a fração orgânica foram submetidos à cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM).

As análises cromatográficas foram realizadas em aparelho GC-MS PQ 5050A (Shimadzu), utilizando-se coluna capilar DB-1 (30m; 0,25 mm de diâmetro interno; filme de 0,25 μm) e hélio como gás de arraste. A temperatura do injetor foi de 290°C, com temperatura inicial de 80°C, por 5 minutos, aumentando de 80°C a 285°C na razão de 4°C min^{-1} . A temperatura final permaneceu em 285°C por 40 minutos. A temperatura do detector foi de 290°C e a temperatura da interface do sistema CG-EM foi de 290°C. O detector de massas

operou com ionização de chama por impacto de elétrons (70 ev) e varredura de massas de 30 a 600 Da. Foi injetado 1 µL de cada amostra, e a identificação dos compostos foi realizada por meio de comparação dos espectros de massas das amostras com aqueles existentes no banco de dados (Wiley 229.000).

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no Centro de Microscopia e Microanálise (CMMA) da Universidade Federal de Viçosa. Amostras do limbo foliar dos 5 cultivares de cana-de-açúcar foram coletadas para observação em microscopia eletrônica de varredura. Após a coleta, as amostras foram seccionadas em fragmentos de 0,5 cm², fixadas em solução de FAA₅₀, por 24 horas a 4°C. O material foi desidratado em série etílica progressiva, até etanol absoluto; seco em ponto crítico com CO₂ líquido (CPD Bal-tec 030), de acordo com Bozzola & Russel (1991), e depois fixados em “stubs” com fita dupla face, onde as amostras foram recobertas com ouro (aproximadamente 20 nm), pelo processo de pulverização catódica, em equipamento Balzers de congelamento a seco (modelo FDU 010), acoplado ao conjunto de pulverização catódica (modelo SCA 010). A observação e a documentação fotográfica foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (LEO UP 1430).

Os dados referentes à quantidade de cera epicuticular foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Composição química da cera epicuticular

A quantidade de cera epicuticular extraída (Figura 1) foi maior nos cultivares RB867515 (23,22 $\mu\text{g cm}^{-2}$), considerado mais tolerante à mistura de herbicidas, e RB855113 (22,62 $\mu\text{g cm}^{-2}$), sensível à mistura de herbicidas, diferindo estatisticamente do clone RB957689 (16,39 $\mu\text{g cm}^{-2}$) e do cultivar SP80-1816 (16,26 $\mu\text{g cm}^{-2}$). Já o cultivar SP80-1842 apresentou quantidade intermediária de cera (20,48 $\mu\text{g cm}^{-2}$). Os valores obtidos em relação à quantidade de cera epicuticular em folhas de cana-de-açúcar estão de acordo com relatos na literatura (Ebercon et al., 1977; McWhorter, 1993).

A cera de cada material avaliado foi submetida à análise espectroscópica na região do infravermelho e caracterizada como uma mistura de ésteres de cadeia longa (Figura 2). Estas observações são indicadas pelas bandas em 2915 e 2846 cm^{-1} (deformação de CH_2 e CH_3), 1726 cm^{-1} (deformação de $\text{C}=\text{O}$ de éster), 1225-1272 cm^{-1} (deformação de $\text{C}-\text{O}$), 719 cm^{-1} (deformação de $[\text{CH}_2]_n$, $n>4$). As misturas de ésteres foram submetidas à reação de transesterificação com $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{metanol}$. Os ésteres metílicos e outros compostos orgânicos presentes na mistura foram identificados por comparação com aqueles contidos na biblioteca do aparelho (Wiley 229.000). Os compostos identificados estão relacionados na tabela 1.

Nas amostras submetidas à espectrometria de massas, foram encontradas mais de 50 constituintes (Tabela 1). Os grupos de compostos encontrados na cera epicuticular dos cinco cultivares foram hidrocarbonetos, álcoois, esteróides,

ácidos graxos e aldeídos. Os hidrocarbonetos são os componentes menos polares (mais hidrofóbicos) encontrados na cera epicuticular dos cultivares de cana-de-açúcar.

Os componentes tetradecano, hexanoato de metila, 9Z-octadecenoato de metila, octadecanoato de metila, icosanoato de metila, docosanoato de metila e tetracosanoato de metila foram encontradas em todos os cinco cultivares avaliados (Tabela 1).

O componente encontrado em maior proporção no cultivar SP80-1842 foi hexadecanoato de metila (18,23%), no cultivar RB855113, hexanodioato de dimetila (17,36%), octadecanoato de metila, no clone RB957689 (16,91%), dotriacontanoato de metila e um esteróide, no cultivar RB867515 (10,28 e 10,42%) e um esteróide ocorreu em maior proporção no cultivar SP80-1816 (12,28%) (Tabela 1).

O cultivar RB855113, apresentou em sua cera, menor variedade de componentes químicos (apenas 15 componentes) do que os demais genótipos avaliados. No cultivar SP80-1816 foi observado o maior número de componentes químicos entre os genótipos (31 componentes).

Os ésteres graxos formam o grupo de compostos químicos encontrados em maior proporção na cera epicuticular dos cultivares avaliados. A cera do cultivar RB855113 apresentou maior proporção de ésteres graxos, com 87,24 %, porém, esses ésteres graxos apresentam cadeia mais curta do que os encontrados nos demais genótipos. A quantidade de ésteres graxos encontrados nos demais

genótipos foi de 61,62 % no SP80-1842, 63,05 % em RB957689, 42,50 % em RB867515 e 49,52 % em SP80-1816 (Tabela 2).

Os hidrocarbonetos foram encontrados em maior proporção nos cultivares SP80-1842 e RB867515, chegando 18,16% e 18,06%, respectivamente, enquanto no clone RB957689 e no cultivar RB855113 a quantidade de hidrocarbonetos foi de 5,76% e 9,18%, respectivamente. No cultivar SP80-1816, a proporção foi de 13,87%. Segundo Hamilton (1995), os hidrocarbonetos estão presentes em quase toda a superfície lipídica das plantas, variando quantitativamente de traços até 50% da quantidade total, porém, são predominantes em poucos casos. De acordo com Chachalis et al. (2001), os hidrocarbonetos de cadeia longa são menos polares que álcoois e ésteres. Monquero et al. (2004), trabalhando com as plantas daninhas *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*, observaram que *C. benghalensis*, que possui maior tolerância ao glyphosate apresentou maior proporção de hidrocarbonetos na cera epicuticular, altamente hidrofóbicos (pouco polares) contraria a polaridade do glyphosate que é altamente hidrofílico (Sandberg et al., 1980).

Álcoois e aldeídos foram observados em pequena proporção, sendo que, cada componente ocorreu em apenas um genótipo. Álcoois foram encontrados em proporção significativa apenas no cultivar SP80-1816, com 1,93% e aldeídos no clone RB957689, com 1,76%, nos demais genótipos foram observados traços desses componentes.

Na cera epicuticular dos cultivares SP80-1842, RB867515, SP80-1816 e do clone RB957689, a proporção de esteróides encontrados foi elevada, chegando a

20,20%; 35,78%; 29,30% e 19,26%, respectivamente. O cultivar RB855113 apresentou apenas 2,17% de esteróides. Chachalis et al. (2001) afirmam que a proporção de triterpenos (esteróides) pode chegar a 62,00% em folhas mais jovens, tendendo a cair nas folhas adultas.

Ao avaliar a composição química da cera epicuticular dos cinco cultivares, pode-se estabelecer uma ordem de polaridade. Dessa forma, a cera do cultivar SP80-1816 (média sensibilidade à mistura de herbicidas) foi considerada a mais polar, seguida da cera dos cultivares RB855113 (sensível), RB867515 (tolerante) e do clone RB957689 (média sensibilidade) e cultivar SP80-1842 (média sensibilidade) como o menos polar.

4.5.2 Caracterização da superfície foliar

Na face adaxial podem ser observados em todos os materiais, tricomas espiniformes e glandulares (Figura 3A-F). Na face adaxial, os tricomas estão distribuídos em fileiras, alternados com fileiras de estômatos e faixas de células buliformes (Figura 1A,B). Na face abaxial observa-se maior concentração de tricomas do que na face adaxial; esses tricomas estão distribuídos em fileiras alternadas com as fileiras de estômatos, e esse padrão é comum em todos os materiais (Figuras 3A, B). Desde 1952, estudos de Van Dillewijn já descreviam a superfície foliar de cana-de-açúcar, onde a epiderme apresenta formações como células buliformes, estômatos do tipo paracítico, células de sílica e tricomas. Atschawager (1925) distinguiu três zonas na epiderme de cana-de-aúcar: 1) uma central, que consiste de células longas alternadas com grupos de células curtas,

apresentando tricomas e células de sílica; 2) uma de estômatos; 3) uma marginal, que consiste de células longas alternadas com células curtas, apresentando também tricomas e células de sílica. Este autor também destacou a importância da face abaxial da epiderme da folha na identificação de variedades cultivadas de cana-de-açúcar, onde se observam características como a distribuição dos tricomas e dos estômatos.

Foi observada cera epicuticular em ambas as faces; a cera está na forma de grânulos muito pequenos, espalhados na superfície foliar e cobrindo todos os tipos de células, e depositadas principalmente em depressões localizadas na região anticlinal das células da epiderme (Figuras 3E, B). Em todas os genótipos pode ser observada a formação bastonetes de cera (Figuras 3F). A cera, em alguns casos, cobre totalmente os estômatos e se deposita sobre os tricomas (Figura 3D, E).

Por meio desta caracterização química e micromorfológica apresentada, pode-se afirmar que, existe diferença apenas na composição química da cera epicuticular entre os cultivares, porém, sem relação direta com o grau de sensibilidade à mistura de herbicidas. No cultivar RB855113, mais sensível à mistura, a cera apresentou polaridade intermediária, sendo que, no cultivar RB867515 (tolerante à mistura de herbicidas) foi observado maior polaridade dos componentes da cera em relação ao cultivar mais sensível. Os cultivares e clones de cana-de-açúcar não apresentaram diferenças marcantes em sua micromorfologia, sendo todos muito semelhantes. Todavia os fatores químicos e

micromorfológicos devem ser analisados em conjunto com as características anatômicas e fisiológicas.

4.6 LITERATURA CITADA

AHRENS, W.H. Herbicide Handbook. 7th ed. Champaign, IL: **Weed Science Society of America**. p.149-152. 1994.

ASTSCHAWAGER HEIN, S.A. Anatomy of the vegetative organs of sugarcane. **Journal of Agricultural**, v.30, p.197-221, 1925.

BAKER, E.A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: CUTLER, D.F., ALVIN, K.L., PRICE, C.E. (ED.). **The plant cuticle**. London: Academic Press, p.140-161, 1982.

BIANCHI, A. & BIANCHI, G. Surface lipid composition of c₃ and c₄ plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.18, p.533-537, 1990.

BOZZOLA, J.J. RUSSEL, L.D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. New York: Jones and Bartlett Publishers. 452p. 1991.

CHACHALIS, C. et al. Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. **Weed Science**, v.49, p.156-163, 2001.

CFSEMG (Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa-MG: UFV. 359p. 1999.

EBERCON, A. et al. A rapid colorimetric method for epicuticular wax content of sorghum leaves. **Crop Science**, v.17, p.179-180, 1977.

HAMILTON, R.J. **Waxes: chemistry, molecular biology and functions**. Edinburgh: Orly Press. 149p. 1995.

- HEREDIA, A. et al. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecología**, v.12, p.293-305, 1998.
- McWHORTER, C.G. Epicuticular wax on johnsongrass (*Sorghum halepense*) leaves. **Weed Science**, v.41, p.475-482, 1993.
- McWHORTER, C.G.; OUZTS, C. Leaf surface morphology of *Erythroxyllum* sp. And droplet spread. **Weed Science**, v.12, p.293-305, 1993.
- MONQUERO, P.A. et al. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalesis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. **Planta Daninha**, v.22, p.203-210, 2004.
- PROCÓPIO, S.O. et al. **Anatomia foliar de plantas daninhas do Brasil**. Volume I. Viçosa, MG. p.118, 2003.
- PROCÓPIO, S.O. et al. Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. **Produção de cana-de-açúcar**. Viçosa, MG Universidade Federal de Viçosa, 150p. 2003.
- SANDBERG,C.L. et al. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glyphosate in several weed species. **Weed Research**, v.20, p.195-200, 1980.
- SILVA, A.A.et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília, DF: ABEAS. 260p. 2000.
- VAN DILLEWIJN, C. Botany of sugarcane. **Waltham, Mass., USA**. The Chronica Botanica co.: Book Departament. 371p. 1952.

4.7 FIGURAS E TABELAS

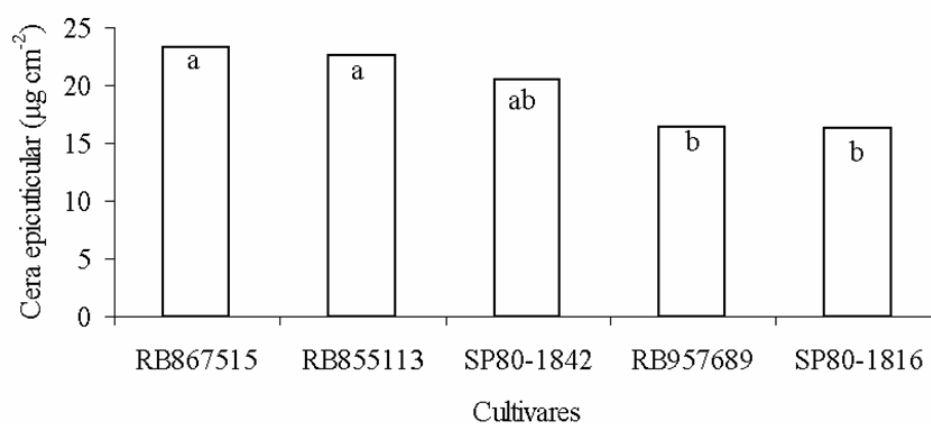


Figura – 1 Cera epicuticular ($\mu\text{g cm}^{-2}$) em cinco genótipos de cana-de-açúcar. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

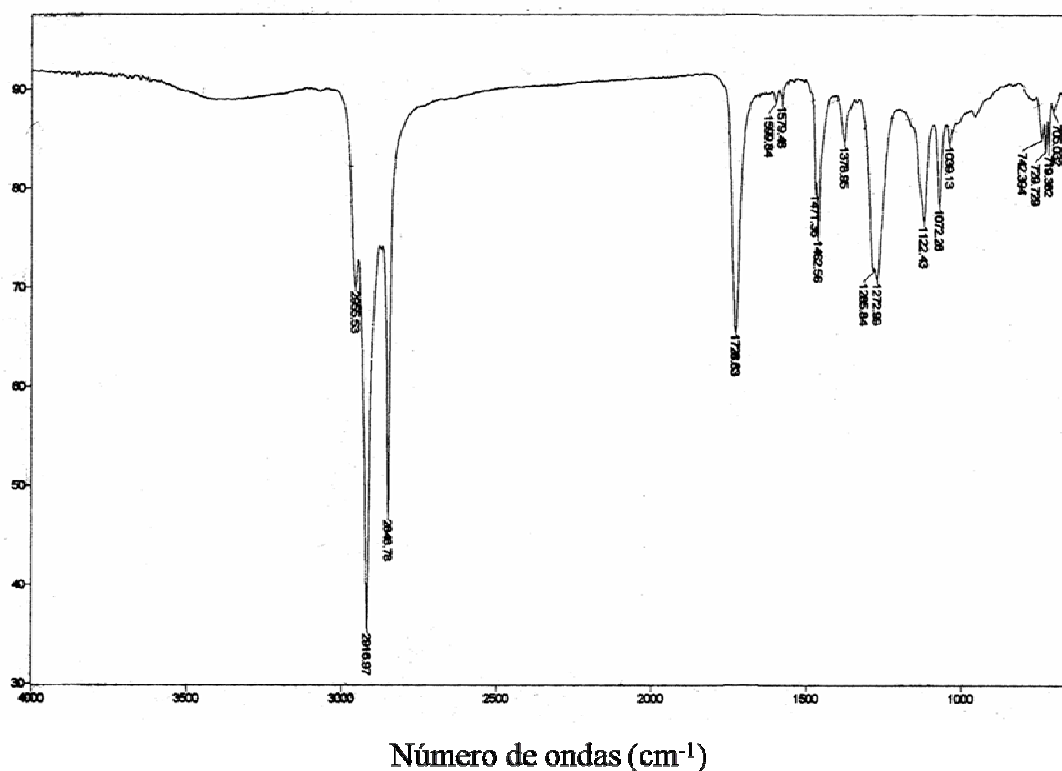


Figura – 2 Espectro no infravermelho (NaCl) da fração da amostra da cera epicuticular do cultivar de cana de açúcar RB855113 (mistura de ésteres graxos).

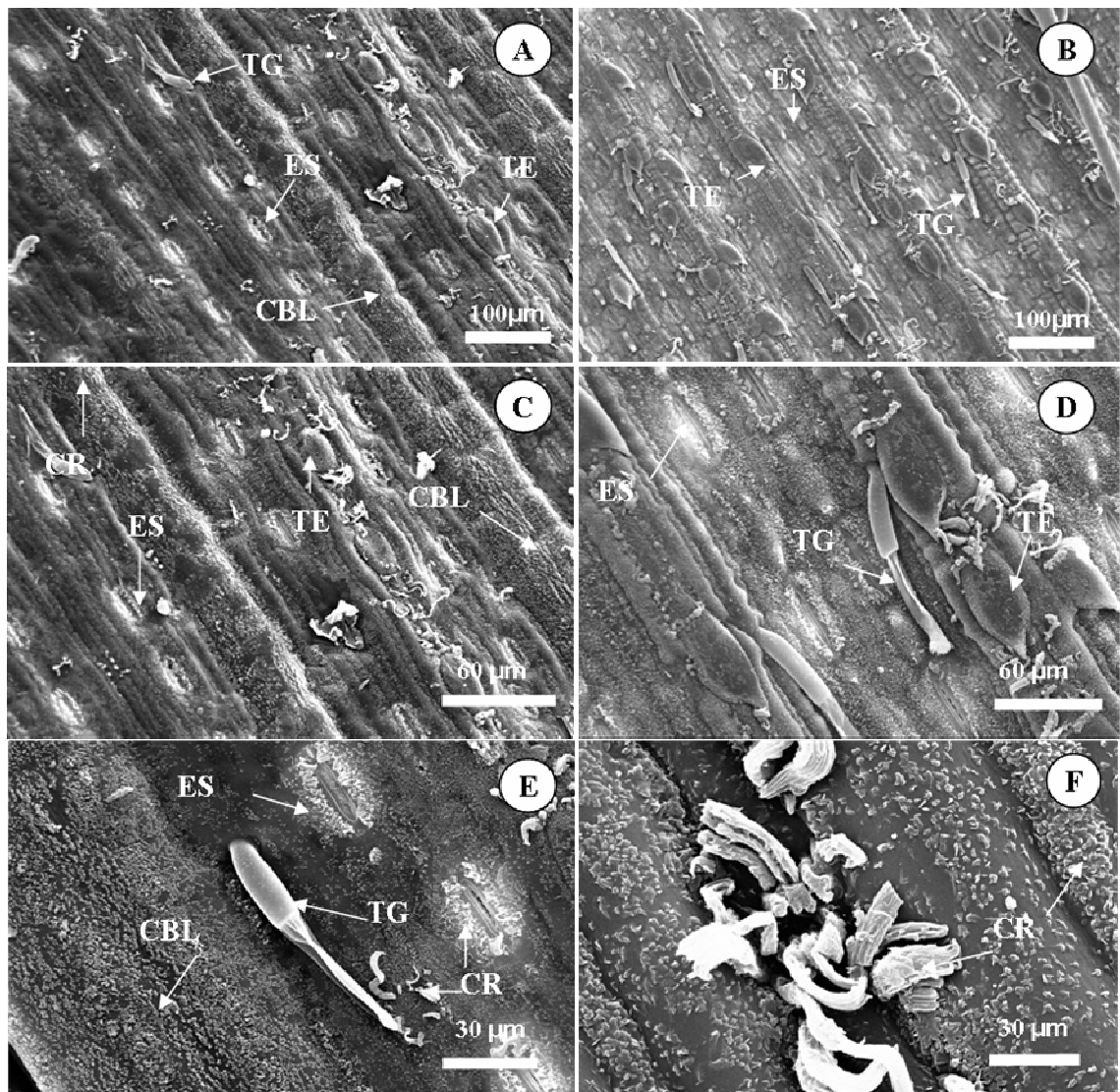


Figura – 3 Superfície foliar dos genótipos de cana-de-açúcar SP80-1842 (A, B, C e D) e RB855113 (E e F); (A) vista geral da face adaxial; (B) vista geral da face abaxial; (C) detalhe de estômatos e células buliformes recobertos por cera na face adaxial; (D) detalhe de tricomas espiniformes e glandulares na face adaxial; (E) detalhe de tricoma glandular, células buliformes e estômatos recobertos por cera na face adaxial; (F) detalhe de cera formando cubos e pequenos grumos na face abaxial. ES: estômatos; CR: cera epicuticular; CBL: células buliformes; TE: tricoma espiniforme; TG: tricoma glandular.

Tabela – 1 Composição química (%) da cera epicuticular das folhas de cinco genótipos de cana-de-açúcar.

T _R	Compostos	SP80-1842	RB855113	RB957689	RB867515	SP80-1816	Cultivares
17,66	Tetradecano	6,91	4,16	2,66	3,72	2,64	
24,01	Pentadecano	1,01	-	-	-	-	
26,45	6E-Octadecenoato de metila*	0,74	-	-	-	-	
27,15	Tetradecanoato de metila*	4,95	-	1,25	-	0,68	
29,14	n.i	2,14	-	-	-	-	
29,39	Hexadec-1-eno	3,92	-	-	-	0,8	
29,66	1-Metilpentadecano	3,55	-	-	-	-	
29,91	Pentadecanoato de metila*	3,18	1,65	-	-	-	
31,81	9E-Hexadecenoato de metila*	6,59	4,37	-	-	-	
32,53	Hexadecanoato de metila*	18,23	14,83	10,54	2,51	5,11	
34,80	Hexadecano	1,77	1,67	-	-	1,6	
35,05	n.i	-	1,41	0,87	-	-	
36,70	9Z-Octadecenoato de metila*	3,97	5,39	1,49	1,39	1,67	
37,45	Octadecanoato de metila*	3,89	13,52	16,91	2,23	3,39	
39,28	Tetracosan-1-ol	-	-	-	-	1,21	
39,48	Heptadecano	-	-	-	-	1,97	
41,20	n.i	-	-	0,93	-	1,61	
41,68	Icosano	-	-	-	-	1,25	
41,95	Icosanoato de metila*	3,41	8,34	5,3	3,06	7,51	
43,17	Hexanodioato de dimetila*	5,89	17,36	1,51	4,86	8,36	
43,62	Hexacosan-1-ol	-	-	-	-	0,72	
43,81	Docosano	-	1,44	-	-	1,99	
46,10	Docosanoato de metila*	3,88	10,3	4,5	4,04	8,07	
46,69	Tetracosano	-	1,91	1,03	1,62	0,96	
46,79	Octacosano	-	-	-	-	1,26	
46,93	n.i	-	-	-	-	0,8	
49,97	Tetracosanoato de metila*	3,37	11,48	3,79	4,65	8,7	
52,49	Esteróide	-	2,17	-	-	-	
53,24	Hexatriacontano	-	-	0,97	-	-	
53,51	Triacotanoato de metila*	-	-	2,19	-	2,14	
53,58	Heptacosanoato de metila*	1,38	-	-	3,76	-	
55,04	n.i	-	-	2,86	0,79	-	
55,18	Esteróide	2,25	-	0,98	2,24	-	
55,31	Octadecanal	-	-	1,1	-	-	
55,33	n.i	-	-	-	2,21	-	
55,41	Esteróide	2,34	-	-	-	-	
55,70	n.i	-	-	3,52	0,98	-	
55,97	Esteróide	5,62	-	1,05	5,46	1,44	
56,60	Octatriacontano	-	-	1,1	1,8	1,33	
56,65	Pentatriacontano	1	-	-	-	-	
56,91	Heptacosanoato de metila*	-	-	8,88	1,8	1,4	
57,31	Esteróide	1,15	-	-	-	-	
58,57	n.i	-	-	0,98	1,89	-	
58,78	Esteróide	-	-	-	10,42	-	
59,34	n.i	-	-	0,98	-	-	
59,82	Esteróide	6,07	-	2,36	-	12,28	
60,74	Esteróide	2,78	-	1,18	5,2	5,06	
61,04	dotriacontanoato de metila*	-	-	3,89	10,28	1,22	
62,00	Esteróide	-	-	0,98	-	1,14	
62,55	n.i	-	-	-	-	2,97	
63,32	Esteróide	-	-	4,89	2,58	8,04	
63,97	Hexadecanal	-	-	0,66	-	-	
64,62	Esteróide	-	-	7,82	18,6	1,34	
66,89	2,4,6,8-tetrametiloctacosanoato de metila*	-	-	2,8	3,9	1,34	

n.i: não identificado. **T_R:** tempo de retenção. * Ésteres graxos

Tabela – 2 Grupos de compostos (%) encontrados na cera epicuticular dos cinco genótipos de cana-de-açúcar avaliados.

Composição	SP80-1842	RB855113	RB957689	RB867515	SP80-1816
	-----Cultivares-----				
Hidrocarbonetos	18,16	9,18	5,76	18,06	13,87
Álcoois	0	0	0	0	1,93
Esteróides	20,21	2,17	19,26	35,78	29,3
Ésteres graxos	61,62	87,24	63,05	42,5	49,52
Aldeídos	0	0	1,76	0	0
ND	0	1,41	10,17	3,66	5,38

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivar RB855113 apresentou maior sensibilidade à mistura de herbicidas, mesmo nas doses mais baixas. Os cultivares SP80-1842, SP80-1816, SP79-1011 e RB957689 apresentaram média sensibilidade.

O cultivar RB855113, apresentou diferenças anatômicas relevantes em relação aos demais genótipos (com sensibilidade média e tolerante), como maior densidade de estômatos, em ambas as faces, maior comprimento do ostíolo, em ambas as faces, maior densidade de tricoma, em ambas as faces, menor espessura de epiderme na face adaxial, maior proporção de células buliformes. Tais características podem estar intimamente associadas ao grau de sensibilidade dos materiais à mistura de herbicidas.

No que se refere à composição química da cera epicuticular, foram observados diferenças marcantes entre os cultivares. Todavia, não se constatou relação direta entre polaridade dos componentes da cera e o grau de sensibilidade à mistura de herbicidas. Com relação a micromorfologia da lâmina foliar, não foram observadas diferenças marcantes entre os materiais.

6. CONCLUSÃO

Entre as características anatômicas (anatomia quantitativa), químicas e micromorfológicas, as primeiras, praticamente definiram as diferenças relacionadas ao grau de sensibilidade à mistura de herbicidas entre os cultivares.