

## ANÁLISE DA SUPERFÍCIE EPIDÉRMICA DE BIÓTIPOS DE AZEVÉM SUSCETÍVEL E RESISTENTES AO HERBICIDA GLYPHOSATE

RUCHEL, Q. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – queli.ruchel@yahoo.com.br), VARGAS, L. (Embrapa Trigo – CNPT, Passo Fundo/RS – leandro.vargas@embrapa.br), AGOSTINETTO, D. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – agostinetto@ig.com.br), FERNANDO, J. A. (IB – FB – UFPel, Pelotas/RS – juli\_fernando@yahoo.com.br), PERBONI, L. T. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – laliperboni@hotmail.com), TAROUCO, C. P. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – milatarouco@gmail.com)

**RESUMO:** O azevém é uma das principais plantas daninhas em lavouras de inverno e em pomares na região Sul do Brasil. O controle dessa espécie é geralmente realizado pelo herbicida glyphosate, no entanto, o uso continuado desse produto selecionou biótipos resistentes. As diferenças na suscetibilidade de plantas daninhas a herbicidas têm sido atribuídas a diversos fatores, dentre eles a anatomia das folhas que determina a facilidade com que esses produtos serão absorvidos pela planta. Sendo assim, objetivou-se com esse trabalho realizar a análise da superfície epidérmica de biótipos de azevém suscetível e resistentes ao herbicida glyphosate, oriundos de diferentes locais. O experimento foi realizado em casa de vegetação e laboratório utilizando-se quatro biótipos dessa espécie com distinta sensibilidade ao herbicida glyphosate, sendo um suscetível (SVA 2) e três resistentes (SVA 1, SVA 4 e PFU 5). As análises ocorreram a partir de impressões foliares de plantas no estágio de quatro folhas a um afilho. A densidade e o índice estomático verificados nas análises da superfície epidérmica dos biótipos de azevém, não são modificados pela característica de resistência a herbicidas, sendo diretamente influenciadas pelas características ambientais do local de origem.

**Palavras-chave:** Estômatos, *Lolium multiflorum*, herbicida

### INTRODUÇÃO

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é monocotiledônea de fecundação cruzada, com ciclo anual, adaptada a diversas condições ambientais (KISSMANN, 1999). Em solos férteis é altamente produtivo, possuindo considerável capacidade de rebrote e alta produção de afilhos, suportando assim, pastoreio intensivo e tornando-a excelente forrageira (CARÁMBULA, 2007). No entanto, em função da fácil dispersão e boa ressemeadura natural, tornou-se uma das principais plantas daninhas em lavouras de inverno e em pomares da região Sul do Brasil (VARGAS et al., 2007).

O controle do azevém é realizado, quase na sua totalidade, com a aplicação de herbicidas não seletivos, em diferentes estádios fenológicos, sendo o glyphosate o herbicida mais utilizado para esse fim (CHRISTOFFOLETI; LOPEZ-OVEJERO, 2003). Com o aumento da utilização desse herbicida, os produtores tem verificado maior dificuldade no controle do azevém com o herbicida glyphosate, levando a seleção de biótipos resistentes.

As diferenças na suscetibilidade de espécies de plantas daninhas a herbicidas têm sido atribuídas ao estágio de desenvolvimento da planta, à diferença na morfologia (área e forma do limbo, ângulos ou orientação das folhas em relação ao jato de pulverização), à anatomia foliar (presença de estômatos e tricomas, espessura e composição da camada cuticular) e às diferenças na absorção, translocação, compartimentalização, sensibilidade e expressão da enzima alvo e no metabolismo da molécula herbicida (VARGAS et al., 1999; TUFFI SANTOS et al., 2004).

A anatomia das folhas determina a facilidade com que esses produtos serão absorvidos pela planta. As principais barreiras à penetração de herbicidas em folhas de *Galinsoga parviflora* e *Ipomoea cairica* foram a baixa densidade estomática da face adaxial e, em foliar de *Conyza bonariensis* a alta densidade de tricomas e a baixa densidade de estômatos na face adaxial (PROCÓPIO et al., 2003).

O estudo anatômico de folhas pode melhorar o entendimento sobre as barreiras que cada espécie impõe à absorção dos herbicidas e, dessa maneira, fornecer subsídios para a busca de estratégias que superem esses obstáculos (COSTA et al., 2012; FERREIRA et al., 2012). Sendo assim, objetivou-se com esse trabalho realizar a análise da superfície epidérmica de biótipos de azevém suscetível e resistentes ao herbicida glyphosate, oriundos de diferentes locais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Herbologia (CEHERB) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. As sementes dos biótipos de azevém resistentes provieram de plantas que sobreviveram ao controle de glyphosate em lavouras no município de São Valentin, RS (SVA 1 e SVA 4) e Passo Fundo, RS (PFU 5); e, as do biótipo conhecidamente suscetível (SVA 2) de São Valentin, RS.

As sementes foram semeadas em vasos com capacidade para 1L, contendo solo do tipo Argissolo Vermelho-Amarelo. Quando as plantas estavam em estágio de quatro folhas a um afilho, procedeu-se a coleta de amostras da quarta folha totalmente expandida das plantas para a realização da análise no Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Botânica, do Instituto de Biologia da UFPel.

Para a análise da superfície epidérmica foram realizadas impressões foliares, aplicando fina camada de esmalte incolor. Após secar o esmalte, esse foi retirado da folha com auxílio de fita adesiva transparente e então afixado em lâminas histológicas. Para a determinação do índice estomático e densidade estomática foram analisadas porções da região mediana do limbo foliar, realizando-se 40 observações por planta, em campos de área correspondente a  $0,0475\text{mm}^2$ . O índice estomático foi calculado pela fórmula:  $IE = NE/(CE + NE)*100$ , em que IE é o índice estomático, NE é o número de estômatos e CE é o número de células epidérmicas (CUTTER, 1986). Já, a densidade estomática foi quantificada pela contagem dos estômatos por  $\text{mm}^2$ .

Realizou-se as análises da superfície epidérmica utilizando-se microscópio óptico (Motic<sup>®</sup>, modelo BA200) e a documentação fotográfica com câmara digital (Moticam 2500<sup>®</sup>, modelo 5.0 MPixel USB 2.0). As fotos foram analisadas, sem edição digital, e descritas de acordo com a nomenclatura histológica atual.

Os dados da superfície epidérmica foram analisados quanto à normalidade, com posterior análise da variância ( $p \leq 0,05$ ). Quando foi observada significância estatística, as médias dos biótipos foram comparadas pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade estomática mostrou-se variável entre os biótipos de azevém (Tabela 1). Na face adaxial observou-se que o biótipo resistente SVA 4 apresentou aproximadamente 200 estômatos  $\text{mm}^{-2}$ , sendo 30% superior ao biótipo PFU 5. Na face abaxial, verificou-se que o biótipo suscetível SVA 2 não diferiu estatisticamente dos demais biótipos, porém SVA 1 apresentou maior densidade estomática, com valores próximos a 47 estômatos  $\text{mm}^{-2}$ . Embora a densidade estomática seja diretamente influenciada pela idade e pelo habitat da planta, esse fator é de suma importância para o vegetal, pois o aumento na densidade estomática pode permitir que a planta tenha maior condutância de gases, evitando que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições do ambiente (LIMA JR. et al., 2006).

Analisando-se a variável índice estomático, observou-se que para ambas as faces do limbo foliar não há diferença para os biótipos SVA 2 e SVA 4, porém, PFU 5 menor índice, comparativamente a esses biótipos (Tabela 1). Dessa maneira, pode-se inferir que as diferenças observadas nas análises da superfície epidérmica do azevém são diretamente influenciadas pelas características ambientais em que as plantas se encontram.

A contagem do número de estômatos de 39 espécies demonstrou que, 16 eram anfiestomáticas e 23 hipoestomáticas (MEYER et al., 1973). Nas espécies anfiestomáticas, o número de estômatos na face adaxial foi normalmente inferior ao da face abaxial, resultado contrário ao observado neste trabalho.

Tabela 1. Densidade estomática (estômatos mm<sup>-2</sup>) e índice estomático de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível (SVA 2) e resistente (SVA 1, SVA 4 e PFU 5) ao herbicida glyphosate. DB, IB/UFPel, Capão do Leão/RS, 2012.

Biótipo	Densidade estomática (estômatos mm <sup>-2</sup> )				Índice estomático			
	Adaxial		Abaxial		Adaxial		Abaxial	
SVA 2 (S) <sup>1</sup>	178,0	b <sup>2</sup>	39,3	ab	27,4	a	13,9	a
SVA 1 (R)	165,6	b	47,0	a	23,6	b	13,6	a
SVA 4 (R)	199,3	a	37,2	b	27,8	a	12,7	a
PFU 5 (R)	136,8	c	36,5	b	22,7	b	10,2	b
C.V. (%)	6,30		10,30		3,92		9,36	

<sup>1</sup> Suscetível (S) e resistente (R). <sup>2</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan (p≤0,05).

Em pulverizações agrícolas, a dificuldade das gotículas atingirem a face abaxial é grande, conseqüentemente, a importância da absorção pelas células guarda dos estômatos desta face é tida como reduzida, sem considerar o fato que, em vários horários do dia os mesmos encontram-se fechados, inclusive em aplicações noturnas (FERREIRA et al., 2002). Cabe ressaltar que em folhas de *Chenopodium album* L. os estômatos foram a principal via de penetração do herbicida bentazon (TAYLOR et al., 1980).

## CONCLUSÃO

A densidade e o índice estomático verificados nas análises da superfície epidérmica dos biótipos de azevém, não são modificados pela característica de resistência a herbicidas, sendo diretamente influenciadas pelas características ambientais do local de origem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARÁMBULA, M. **Pasturas y forrajes**. Potenciales y alternativas para producir forraje. Editorial Agropecuario Hemisferio Sur, Montevideo, Tomo I, 2007. 357p.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.21, p.507-515, 2003.
- COSTA, J.P.R. et al. Análise de crescimento de dois cultivares de *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf. (Poaceae). **Biotemas**, v.25, p.17-22, 2012.
- CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**. Parte I. Células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. 304p.
- FERREIRA, E.A. et al. Características micromorfológicas de biótipos de capim-arroz resistente e suscetível ao quinclorac. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1048-1056, 2012.
- FERREIRA, E.A. et al. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas. I - *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. **Planta Daninha**, v.20, p.159-167, 2002.
- KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo, 1999. 976p.

LIMA JR., E.C. et al. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v.30, p.33-41, 2006.

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

PROCÓPIO, S.O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, v.21, p.1-9, 2003.

TAYLOR, F.E. et al. The effects of bentazon on stomatal behavior in *Chenopodium album* L. **New Phytologist**, v.85, p.369-376, 1980.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. **Planta Daninha**, v.22, p.101-108, 2004.

VARGAS, L. et al. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.567-571, 2007.

VARGAS, L. et al. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa, MG: Jard Produções Gráficas Ltda, 1999. 131p.