CARACTERIZAÇÃO ORGANOGRÁFICA E BIOQUÍMICA DE DEZ CULTIVARES DE CANA-DE-AÇUCAR (*Saccharum* spp.)

MARCÍLIO DE ALMEIDA

Orientador : Prof. Dr. OTTO JESU CROCOMO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Abril - 1986

A minha esposa CRISTINA

e as minhas filhas CAROLINA
e LÍVIA,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. OTTO JESU CROCOMO pela amizade e orientação segura deste trabalho;
- A COPERSUCAR pela concessão do material vegetativo utilizado neste trabalho;
- A Profa. Dra. Clarice G.B. Demétrio pela colaboração nas análises estatísticas deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Paulo Roberto de Camargo e Castro, chefe do Departamento de Botânica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo;
- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por permitir a execução da abordagem bioquímica deste trabalho no setor de Bioquímica de Plantas;
- Ao corpo docente e funcionários do Departamento de Botânica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pela amizade e auxílio durante a execução deste trabalho;
- Ao Sr. Paulo Roberto Cappelletti pela amizade e colaboração na realização deste trabalho;
- A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	
SUMMARY	
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Análises organográficas	12
3.1.1. Comprimento do colmo	12
3.1.2. Número de entre-nós por planta	13
3.1.3. Diâmetro e comprimento do entre-nó .	13
3.1.4. Comprimento e largura do limbo fo-	
liar	13
3.1.5. Comprimento da bainha	13
3.1.6. Forma da lígula, da aurícula e do	
"dewlap"	14
3.1.7. Forma do entre-nó	14
3.1.8. Forma da gema	14
3.1.9. Cor do colmo	14
3.2. Análises bioquímicas	22
3.2.1. Coleta e preparo do material	22
3.2.2. Proteína total solúvel	22
3.2.2.1. Extrações	22
3.2.2.2. Dosagem	22
3.2.3. Isoenzimas das gemas	22
3.2.4. Análise das proteínas	23
3.2.4.1. Separação eletroforética das	
proteínas não dissociadas .	23
3.2.4.2. Análise das isoenzimas	23
3.2.5. Sólidos solúveis (sacarose)	24
3.3. Delineamento estatístico	24

	Página
4. RESULTADOS	25
4.1. Descrição dos cultivares	25
4.2. Resumo das análises estatísticas	55
4.3. Chave para determinação dos cultivares	59
5. DISCUSSÃO	63
5.1. Análise morfológica	63
5.2. Análise bioquímica	67
6. CONCLUSÕES	74
7. LITERATURA CITADA	76

CARACTERIZAÇÃO ORGANOGRÁFICA E BIOQUÍMICA
DE 10 CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp.).

Autor: MARCÍLIO DE ALMEIDA

Orientador: Prof. Dr. OTTO JESU CROCOMO

RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura de grande interesse econômico, o que tem levado a uma série de trabalhos de melhoramento genético, na procura de híbridos mais resistentes e produtivos, resultando em um crescente número de cultivares lançados anualmente no mercado, tornando cada vez mais difícil o reconhecimento taxonômico destes.

No presente trabalho foram determinadas algumas características organográficas e o perfil isoenzimático diferencial de esterase e peroxidase, de 10 cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) atualmente cultivados no Brasil. Os cultivares estudados foram: NA 56-79, IAC 52-150, IAC 64-257, SP 70-1143, SP 71-3146, SP 71-3149, SP 71-1406, SP 71-6163, SP 71-6180 e SP 71-799.

Com os dados obtidos foi possível comprovar o valor taxonômico das características organográficas estudadas, além de permitir uma padronização dos termos botânicos para este gê-

nero. Para as características bioquímicas, que representam uma inovação em taxonomia de cana-de-açúcar no Brasil, foi possível caracterizar todos os 10 cultivares estudados a partir das isoenzimas de esterase, que se apresentaram com um padrão eletroforético específico para cada um deles. Enquanto que as isoenzimas de peroxidase só permitiram agrupar os cultivares, por apresentar o mesmo padrão eletroforético para cada grupo formado. Mas tanto as isoenzimas de peroxidase como esterase apresentaram-se constantes em um mesmo cultivar.

Os sólidos solúveis (sacarose) em graus Brix e a proteína total solúvel, mesmo sendo pouco variáveis, apresentaram-se úteis para a determinação dos cultivares.

As características organográficas que mais se destacaram na caracterização dos cultivares foram: largura da região mediana do limbo foliar; comprimento e presença de joçal na bainha; formato do "dewlap", ligula e aurícula; presença de pelos na gema e formato da gema.

Os dados permitiram a elaboração de uma chave analítica para a caracterização dos 10 cultivares.

ORGANOGRAPHICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION
OF 10 SUGARCANE (*Saccharum* spp.) CULTIVARS

Author: MARCÍLIO DE ALMEIDA
Adviser: Prof. Dr. OTTO JESU CROCOMO

SUMMARY

The great economical interest of the sugarcane crop has been leading to a series of genetic breeding works looking for more resistant and productive hybrids which resulted in a crescent number of cultivars that are threw to the market annually becoming more and more difficult the taxonomic recognition of them.

In this work the organographical characters and the isoenzymatic differential profiles of esterase and peroxidase of 10 sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivars planted at present in Brazil, were: NA 56-79, IAC 52-150, IAC 64-257, SP 70-1143, SP 71-3146, SP 71-3149, SP 71-1406, SP 71-6163, SP 71-6180 and SP 71-799.

The data obtained in this work allowed to prove the taxonomic value of the organographical characters besides allowing a standardization of some botanical terms for this genera.

The biochemical approach which represent an innovation to the sugarcane Brazilian taxonomy, allowed the characterization of all the 10 studied cultivars based on the esterase isoenzyme electrophoretic profiles, which presented with a specific electrophoretic pattern for each one. While peroxidase isoenzymes only have permit to groups generically the cultivars, because they showed the electrophoretic pattern for each group. But both the peroxidase isoenzyme and esterase isoenzyme, presented uniformly in the same cultivar.

The soluble solids (sucrose) in Brix and the total soluble protein showed useful for the cultivar determination.

The organographic characteristics that stand out more in characterization of cultivars were: width of the blade middle region; length and "joçal" presence in the sheath; shape of the dewlap; ligule and auricle; hairs presence in the bud and bud shape.

The data permitted the elaboration of an analytical key for the characterization of these 10 cultivars.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma das culturas de maior importância na atualidade, por ser a matéria prima básica para inúmeros produtos de grande importância sócio-econômica, como o açúcar e o álcool. Instituições de pesquisa e de melhoramento vegetal tem trabalhado intensamente para conseguir novos cultivares, mais produtivos e mais resistentes à pragas e moléstias.

Segundo JESWIET (1925), o gênero *Saccharum* L., apresenta as seguintes espécies: *S. officinarum* L., *S. spontaneum* L., *S. sinensis* Roxb. e *S. barberi* Jesw. No entanto, ARTSCHWAGER e BRANDES (1958), classificam o respectivo gênero com mais duas espécies: *S. robustum* Jesw. e *S. edule* Hask. De todas as espécies citadas acima, são consideradas puras apenas *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Jesw., sendo que as demais são de origem híbridas (STEVENSON, 1965).

A literatura científica relativa à cana-de-açúcar, é muito deficiente no que diz respeito as descrições or-

ganográficas das variedades. Tendo em vista que centenas de híbridos de *Saccharum* spp. são cultivados em todo o mundo e que milhares de espécies existentes em bancos de germoplasmas são utilizadas para hibridações, seria de grande importância que instituições de pesquisa fizessem caracterizações morfológicas, as mais completas possíveis, de seus novos híbridos. Esta medida diminuiria as confusões e ofereceria subsídios à identificação das variedades, contribuindo com isto, para uma padronização de termos e normas descritas. Facilitaria desta maneira a distinção das variedades pelos pesquisadores, extensionistas e técnicos, além de se familiarizarem em curto prazo com a terminologia previamente estabelecida.

Evitaria ainda o que ocorre em muitos lugares onde, além do pesquisador, o prático de campo é um dos poucos a reconhecer as variedades, isto mais pelo seu demorado contato diário e seu senso de observações, do que por características morfológicas descritíveis. Portanto o presente trabalho tem por objetivo, o estudo organográfico de caracteres botânicos e de componentes bioquímicos, como as isoenzimas esterásicas e peroxidásicas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), visando contribuir para a identificação mais segura de novos cultivares e também possibilitando novas pesquisas nesse campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

BACCHI (1983), classificou a cana-de-açúcar, como pertencente ao gênero *Saccharum* L., da sub tribo Saccharae, Tribo Andropogonae, Família Gramineae, Ordem Glumiflorae, Classe Monocotyledoneae, Sub divisão Angiospermae e Divisão Embryophyta siphonogama (Engler, 1954).

As variedades atuais de cana-de-açúcar são espécies e híbridos do gênero *Saccharum* L.. Por centenas de anos grande parte do açúcar era extraído de variedades da espécie *S. officinarum* L., mas outras espécies do gênero tem sido usadas na produção comercial do açúcar na Índia e na China, por isso nunca foi correto referir-se a cana-de-açúcar categoricamente com *S. officinarum* L., e hoje certamente é incorreto (STEVENSON, 1965).

Ainda segundo STEVENSON (1965), este gênero inclui outras espécies não usadas na obtenção do açúcar, que são: *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Jesw., formas selvagens que ocorrem no sul da Ásia, Arquipélago da Malásia e na Mela-

nesia. Elas contêm pouca ou nenhum açúcar, mas têm sido extensivamente usadas por geneticistas com grande sucesso em hibridação com *S. officinarum* L., que resultam nas variedades comerciais atuais.

BACCHI (1983) salientou que até 1925, a Agro-indústria Açucareira do Brasil foi sustentada pelas variedades "Nobres" ou "Tropicais", todas pertencentes à espécie *S. officinarum* L. A partir desta data, devido a grande incidência do mosaico nessa espécie, essas variedades passaram a ser substituídas por híbridos das espécies que apresentavam maior resistência à doença.

A procura de híbridos resistentes e mais produtivos, levou ao aparecimento de centenas de novos cultivares, causando uma crescente dificuldade na identificação dos mesmos, que nem sempre, com os métodos tradicionais de observações morfológicas, podiam ser reconhecidos.

LARSEN (1969) estabeleceu que "todas as manifestações morfológicas inerentes de diferenças varietais, devem ultimamente, ter uma diferença bioquímica, mas nem todas essas diferenças são necessariamente refletidas morfológicamente. Assim as diferenças bioquímicas deverão ser mais numerosas do que as morfológicas".

Uma demonstração deste postulado, foi relatada por ALMGARD e LANDEGREN (1974), quando o Swedish Official Committes of Cultivars, impediu a introdução de uma variedade agronomicamente melhorada, denominada 'Timo'. 'Timo' era o resultado do

cruzamento de 'Hero' x 'Parvus' e poderia ser diferenciada morfológicamente de 'Hero' mas não de 'Parvus'. No entanto, através de isoenzimas de esterase, demonstrou-se que 'Hero' e 'Timo' apresentavam duas bandas delgadas, enquanto 'Parvus' apresentava somente uma. Assim, o cultivar Timo teve sua aprovação, pois comprovou-se pela técnica isoenzimática, que de fato elas poderiam ser consideradas variedades diferentes.

Revela-se desse modo a importância de um método bioquímico aplicado à sistemática vegetal. Nesse sentido, o pioneiro foi BOULTER et alii (1967) que, analisando as globulinas de sementes de leguminosas através da eletroforese de disco, caracterizaram doze tribos desta ordem subdividindo as espécies estudadas dentro de cada grupo. Mais recentemente, DERBYSHIRE et alii (1976), basearam-se nos padrões eletroforéticos das globulinas de sementes de espécies de *Phaseolus*, classificaram em grupos as espécies deste gênero. Com os mesmos objetivos, ressaltaram os trabalhos de JOHNSON (1967, 1972), JOHNSON e HALL (1966), JOHNSON et alii (1967) e JOHNSON e THEIN (1970).

Um dos primeiros trabalhos do emprego de isoenzimas em taxonomia vegetal talvez tenha sido de THURMAN et alii (1967) quando, estudando as mobilidades eletroforéticas das desidrogenases glutâmicas de sementes de diferentes espécies de Fabaceae, concluíram que o método apresentava possibilidade de sucesso, quanto a classificação sistemática.

Diferentes enzimas que catalizam funções idênticas, são denominadas isodinâmicas. Quando se comparam enzi

mas isodinâmicas de diferentes fontes biológicas, torna-se evidente que a mesma atividade catalítica pode ser expressa por moléculas protéicas bastante diferentes.

Em alguns casos, onde o peso molecular pode ser bastante similar, as enzimas isodinâmicas apresentam outras diferenças significantes em outras propriedades, tais como, mobilidade eletroforética e composição em aminoácidos. Quando uma substância com uma dada atividade enzimática, isolada de uma única fonte biológica homogênea, for submetida, por exemplo, a eletroforese de alta resolução, e mostrar-se constituída de diversas formas isodinâmicas, tem-se isoenzimas.

A definição de isoenzimas como diferentes formas de uma mesma enzima proveniente de uma única célula ou tecido, torna-se deste modo, uma definição estritamente operacional, baseada num conjunto de parâmetros experimentais específicos. Assim, antes que se possa falar de isoenzimas verdadeiras, deve-se estabelecer que a matéria prima é homogênea, e que múltiplas formas de enzimas observadas não são artefatos do isolamento.

O termo isoenzimas foi primeiro introduzido por MARKERT e MOLLER (1959) para referir-se as múltiplas formas de uma enzima, com especificidade similar ou idêntica por um substrato, ocorrendo dentro do mesmo organismo.

O número de enzimas conhecidos na forma isoenzimica em espécies de plantas analisadas é muito grande. Em plantas superiores, elas vêm sendo investigadas, com respei-

to a regulação genética e bioquímica, propriedades físico-químicas, ontogenia, especificidade e papéis fisiológicos (SCANDALIOS, 1974). Além dessas aplicações, isoenzimas têm sido utilizadas em quimiotaxonomia vegetal (McKEE, 1973; PIERCE e BREWBAKER, 1973).

A técnica de isoenzima ainda não é aplicada extensivamente em cultivares e variedades, mas espera-se que seja um importante método suplementar para a identificação dos mesmos. A identificação dos clones por zimogramas, tem sido possível em batatas (DESBOROUGH e SHARON, 1968; DESBOROUGH, 1969); abacaxi (BREWBAKER, 1966). Os cultivares são comumente identificados isoenzimaticamente.

A aplicação de isoenzimas e outras técnicas químicas em taxonomia de plantas é de desenvolvimento relativamente recente. ALSTON e TURNER (1963) consideram a enzimologia comparada e possivelmente a química comparativa, como sendo o último nível em quimiotaxonomia.

Variações bioquímicas no DNA e nas enzimas distinguem claramente todas as espécies de animais e plantas. Ao utilizar-se de eletroforêse, a qual, além do menor custo em relação às demais técnicas, e de sua rapidez, ela poderá ser empregada em larga escala em programas de seleção de plantas. Ressalta-se ainda a reprodutibilidade da eletroforese de disco, como foi demonstrado por diversos pesquisadores (WHIPPLE, 1964), o que é conseguido desde que os extratos sejam preparados de um modo comum, à partir de órgãos comparáveis em um

mesmo estágio de desenvolvimento, e que sejam submetidos à eletroforese de uma maneira idêntica.

Segundo GOTTLIEB (1979) e AYALA (1976), as técnicas eletroforéticas baseadas na variabilidade existente para uma dada forma enzimática, com relação ao peso molecular, a sua carga elétrica, e a manutenção de sua atividade catalítica, tem permitido a confecção de padrões isoenzimáticos utilizáveis na identificação varietal e na determinação das bandas parentais na progênie híbrida.

O uso de múltiplas formas moleculares de enzimas, ou isoenzimas, fornecem um possível caminho de se obter marcadores bioquímicos que facilitam a interpretação e o reconhecimento de híbridos intervarietais ou interespecíficos (LEWONTIN, 1974; LEWIS, 1980).

A preferência por isoenzimas, substituindo as manifestações fenotípicas de características das plantas de cada cultivar, está bem situada (BASSIRI e ROUHANI, 1977). Isto, segundo diversos autores é decorrência da obtenção de padrões altamente repetitivos, desde que as isoenzimas são expressões quase que exclusivas da carga genética do cultivar, e deste modo não afetadas pelas condições ambientais (SCHWARTZ, 1960; LOESCHKE e STEGMANN, 1966; LEE e RONALDS, 1967; LARSEN, 1969). Entretanto, a estabilidade das isoenzimas dos diversos tecidos vegetais submetidos às condições ambientais distintas, é variável. De JONG et alii (1968) mostraram variações qualiquantitativas em isoenzimas de células de tabaco,

cultivadas em suspensão sob diferentes temperaturas. THOM e MARETZKI (1970), informaram que a idade e o estresse fisiológico podem causar modificações em isoenzimas, por afetar a estabilidade da informação genética. McCOWN et alii (1969) encontraram diferenças nas isoenzimas componentes da fosfatase ácida e esterase em *Dianthus* sob condições de inverno e verão.

Assim que uma planta cresce e o desenvolvimento ocorre, as variações isoenzimáticas qualitativas são frequentemente dramáticas e incluem o aparecimento de novas bandas e o desaparecimento de outras (PIERCE e BREWBAKER, 1973). THURMAN et alii (1965) verificaram que a atividade de sete bandas, presentes em uma semente madura decresce de atividade durante a germinação, e vinte e um dias após detecta-se somente uma banda; SIEGEL e GALSTON (1967) observaram diferenças isoenzimáticas quantitativas durante o desenvolvimento de ervilha; BHATIA e NILSON (1969) verificaram diferenças qualitativas nos padrões de esterase e peroxidase durante a germinação de sementes de trigo. MACKO et alii (1967), também estudando trigo durante a germinação e o crescimento, demonstraram variações nos padrões de doze isoenzimas. STODDART (1971) demonstrou variações isozímicas em uma enzima, durante a maturação de sementes de aveia. JOHNSON et alii (1973) relataram variações de isoenzima de fosfatase ácida durante a germinação de sementes de ervilha. KRASNOOK et alii (1979)

mostraram haver uma correlação qualiquantitativa com o poder germinativo das sementes de arroz.

A maior vantagem do método de isoenzima neste contexto, é que a maioria dos tecidos podem ser analisados. Cultivares de citrus, banana, abacaxi, plumêria e cravo, têm sido distinguidos isoenzimicamente, pela amostra de tecidos que são morfologicamente indistinguíveis (PIERCE e BREWBAKER, 1973). Isoenzimas de pólen identificam diferentes clones de abacaxi (BREWBAKER, 1971); clones altamente poliplóides de cana-de-açúcar são prontamente identificados por isoenzimas de folhas (HEINZ e GRACE, 1969).

Em cana-de-açúcar, a identificação de cultivares tem sido feita usando as isoenzimas peroxidase e esterase (THOM e MARETZKI, 1970); esterase, fosfatase ácida e leucilaminopeptidase (WALDRON e GLASZIOU, 1972); sendo que, segundo CURY e CROCOMO (1980), parece que nenhum trabalho é mencionado na literatura usando as isoenzimas desidrogenase alcoólica (ADH) ou desidrogenase málica (MDH) na identificação da cana-de-açúcar. Estes autores desenvolveram metodologia para a dosagem eletroforética em gel de poliacrilamida simultânea das isoenzimas de ADH e MDH.

GONÇALVES et alii (1981) propuseram que o melhor tecido para a análise de zimograma de cana-de-açúcar é a gema, e que o padrão eletroforético, no caso da esterase, se mantém em plantas de idades fisiológicas distintas, crescidas em ambiente controlado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho teve início em maio de 1982, quando, no campo foram utilizadas soqueiras, em quatro ruas de cinquenta metros, para cada cultivar. Em maio de 1984 iniciaram-se os trabalhos de observação morfológica e de análises bioquímicas.

A descrição botânica dos cultivares de cana-de-açúcar poderia ser feita tomando-se plantas de várias regiões do Estado de São Paulo, onde elas são cultivadas. Entretanto, não se teriam condições idênticas de solo, clima e tratamentos culturais, fatores estes que poderiam influenciar, em parte, as características morfológicas e bioquímicas, das plantas que foram observadas.

Por esta razão os seguintes 10 cultivares: NA 56-79, IAC 52-150, IAC 64-257, SP 70-1143, SP 71-799, SP 71-1406, SP 71-3146, SP 71-3149, SP 71-6163, SP 71-6180 foram plantadas em uma mesma área da Estação Experimental da COPER-SUCAR em Piracicaba (SP), sob condições as mais uniformes pos

síveis (climáticas, edáficas e culturais), afastando-se desta maneira, possíveis variações determinadas pelo meio. Para maior uniformização, durante a coleta das amostras, estipulou-se que as mesmas só seriam observadas quando afastadas um mínimo de três metros da bordadura, quando a exposição à luz e ao vento, tornam-se uniformes.

Para facilitar as observações, foi estabelecido que o último "dewlap" completamente exposto e com características definidas, em cada planta, passaria a representar o "dewlap" número 1, e todas as estruturas ligadas a ele, como folha, bainha, nó e entre-nó, também corresponderiam ao número 1, sendo portanto considerado o 2º, 3º, etc. as demais estruturas em direção à base. Isto se justifica pois, ao retirarmos a bainha correspondente ao 1º "dewlap", pode-se observar que o entre-nó que a bainha envolvia é o 1º com características como, comprimento, espessura, cor e estrutura interna definidas.

3.1. Análises organográficas

Os principais caracteres morfológicos estudados foram:

3.1.1. Comprimento do colmo: Foi medido com fita métrica graduada em centímetros do nível do solo até o "dewlap" número 1.

3.1.6. Forma da lígula, da aurícula e do "dewlap": Com o auxílio da câmara clara de um estereomicroscópio Wild-M7, efetuou-se um esquema do par de lígulas, de aurículas e de "dewlap" da folha 3 de cada planta estudada, comparando-se com os modelos, segundo ARTSCHWAGER (1939, 1951a,b e 1954).

3.1.7. Forma do entre-nó: O entre-nó da região mediana de cada planta estudada foi esquematizado em câmara clara de estereomicroscópio Wild-M7, e comparado com os modelos fornecidos por ARTSCHWAGER (1940).

3.1.8. Forma da gema: As gemas correspondentes aos entre-nós de números 5 e 10, de cada planta estudada, foram destacadas e fixadas em formaldeído, álcool etílico e ácido acético glacial (FAA) (SASS, 1958), esquematizadas em câmara clara do estereomicroscópio Wild-M7 e comparadas com modelo segundo ARTSCHWAGER (1954).

3.1.9. Cor do colmo: Usando como base o mapa de cores do THE BRITISH COLOUR COUNCIL (s/d), os colmos foram lavados para retirar o excesso de cera, e as cores foram determinadas distintamente para as regiões expostas (não cobertas pela bainha) e para as regiões não expostas (cobertas pela bainha).

As estruturas vegetais morfologicamente descritas na metodologia, encontram-se esquematizadas nas Figuras de 1 a 10.

Figura 1. Estruturas da folha de cana-de-açúcar (Seg. ARTSCHWAGER, 1940).

Figura 2. Organografia da gema e do nó de cana-de-açúcar (seg. ARTSCHWAGER, 1939).

Figura 3. Organografia de uma região do colmo de cana-de-açúcar (seg. ARTSCHWAGER, 1940).

Figura 4. Formatos de entre-nós de cana-de-açúcar: A, cilíndrico; B, tumescente; C, bobinado; D, conoidal; E, obconoidal; F, curvado (seg. ARTSCHWAGER, 1940).

Figura 5. Formas de gemas de cana-de-açúcar: A, triangular acuminada; B, oval; C, obovada; D, pentagonal; E, romboidal; F, redonda; G, ovalada; H, retangular; I, imbricada (seg. ARTSCHWAGER, 1940).

Figura 6. Pelos das gemas (seg. JESWIET, 1925).

Figura 7. Modelos de "dewlap" de cana-de-açúcar: A, retangular ascendente largo; B, quadrado alto e curto; C, quadrado sub-crescente alto e curto; D, quadrado sub-crescente largo, alto e curto; E, quadrado médio-alto, ascendente; F, ligulado médio-alto ascendente; G, ligulado estreito ascendente; H, quadrado sub-crescente; K, ligulado sub-crescente; L, deltóide alto sub-crescente; M, crescente/sub-crescente; N, deltóide crescente estreito descendente; O, crescente abruptamente descendente; P, deltóide crescente raso; com margem basal reta; Q, deltóide equilátero; R, deltóide crescente alto e curto; S, ligulado alto e curto; T, Romboidal alto e curto; U, deltóide descendente; V, deltóide crescente e sub-crescente alto e curto (seg. ARISCHWAGER, 1951a)...

Figura 8. Modelos de lígulas de cana-de-açúcar: A, linear cresc_{ente}; B, médio-crescente a orbicular-crescente; C, deltóide a deltóide-crescente; D, crescente com losango; E, cintiforme-crescente; F, sub-arcuada; G, arcuada; H, crescente invertida (seg. ARTSCHWAGER, 1954).

Figura 9. Tipos de aurículas de cana-de-açúcar: A;B;C, tipos transitórios; D, deltóide; E, dentiforme; F, unci-forme; G, calcariforme; H, lanceolada; I, falciforme (seg. ARTSCHWAGER, 1939).

Figura 10. Tipos de pelos da lígula (seg. ARTSCHWAGER, 1939).

3.2. Análises bioquímicas

3.2.1. Coleta e preparo do material: Foram extraídas as gemas correspondentes aos entre-nós de números 5 a 10, de 18 plantas de cada cultivar e conduzidas ao laboratório de Bioquímica de Plantas do CENA/USP, onde foram liofilizadas, moidas e conservadas em câmara fria à uma temperatura de 10°C.

3.2.2. Proteína total solúvel

3.2.2.1. Extrações: As proteínas totais solúveis foram extraídas com tampão Tris 0,2 M e NaCl 0,05 M; pH 8,0 (LEE, 1978), e com tampão acetato 0,1 M, pH 5,5. 100 mg de material liofilizado das gemas de cada cultivar, foram homogeneizadas com 2,0 ml do tampão em almofariz, a 4°C, durante um minuto. A suspensão foi centrifugada a 4°C por 30 minutos à 12.000 xg.

3.2.2.2. Dosagem: A proteína total solúvel foi determinada no sobrenadante obtido como descrito acima; utilizou-se o método de LOWRY et alii (1951), pH 5,5 e a pH 8,0.

3.2.3. Isoenzimas das gemas: As isoenzimas foram extraídas das gemas das diferentes cultivares, com o solvente e tampão acetato 0,1 M, pH 5,5, utilizando a proporção de 100 mg do material liofilizado das gemas, por 2 ml do tampão, com a adição de uma gota de 2-mercaptoetanol a 0,5%.

3.2.4. Análise das proteínas

3.2.4.1. Separação eletroforética das proteínas não dissociadas: Seguindo-se o método de DAVIS (1964), utilizou-se gel de poliacrilamida a 7% no gel de separação, com um comprimento de 5,5 centímetros e 0,5 cm de diâmetro. A eletroforese foi realizada a 4°C, sob 1 mA/gel até que o corante atingisse o gel de separação, seguido de 3 mA/gel, até o fim da corrida.

3.2.4.2. Análise das isoenzimas: Extratos das gemas foram submetidos a separação eletroforética (3.2.4.1), e pH dos géis foram neutralizados nos tampões de incubação por 5 minutos e a seguir géis distintos em duplicatas foram incubados para a visualização da atividade das isoenzimas descritas a seguir:

a) Esterase: os géis foram incubados no escuro durante 20 minutos à 25°C em tampão fosfato 0,1 M a pH 6,0; contendo 0,5 mg/ml de "Fast Blue RR" e 0,2 mg/ml de α -naftilacetato. À seguir, os géis foram fixados e descorados na mistura água + etanol + ácido acético (5 : 5 : 1).

b) Peroxidase: os géis foram incubados em ácido acético 10%, contendo 0,5 mg/ml de 0-dianisidina e H_2O_2 à 0,012 V. Após 30 minutos no escuro e a 37°C, paralisou-se a reação com ácido ascórbico 1% (NAGLE e HAARD, 1975).

3.2.5. Sólidos solúveis (sacarose): Em cada uma das 18 repetições de cada cultivar foram determinados os sólidos solúveis (sacarose) pelo processo refratométrico, expressos em graus Brix; para tal utilizou-se um Refratômetro Manual Modelo AO T/C.

3.3. Delineamento estatístico

O delineamento estatístico adotado para os caracteres: a) Comprimento do colmo; b) Número de entre-nós por planta; c) Comprimento da bainha; d) Comprimento do limbo foliar; e) Largura da região mediana do limbo foliar; f) Comprimento do entre-nó; g) Diâmetro do entre-nó; h) Sólidos solúveis (sacarose); foi o inteiramente casualizado, constando de 10 tratamentos (10 cultivares) e 18 repetições. Para a comparação das médias dos tratamentos foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5%. Estes dados estão apresentados nas Tabelas 1 a 8.

4. RESULTADOS

4.1. Descrição dos cultivares

'SP 71-6163'

Progenitores: NA 56-79 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Fern Green
0862/3; Região coberta pela bainha - Barium
Yellow 503/2;

Depressão da gema: Presente em todo o colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4A e F): 36% cilíndrico a 64% cur
vado;

Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 15,83;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 14,12 centíme-
tros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,73 centímetros;

Formato das gemas (Figura 19A e B): A gema de número 5 é re-
tangular, sendo modificada por uma expansão na
base, que se torna mais saliente do lado es-
querdo, e a de número 10 é obovada;

Pelos das gemas (Figura 19A e B): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,2a,3,4,5,7, 10,11,12,13,16,22,26,31 e 31a, enquanto que na de número 10 temos -1,2,2a,2b,3,5,7,8,10,11,11a 12,13,16,22,26,31 e 31a;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,06 metros;

Presença de cera no colmo: Regular;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 31,52 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 13A): Quadrado médio-alto ascendente;

Formato das aurículas (Figura 15F): A externa apresenta a forma transitória e a interna dentiforme;

Pelos das aurículas (Figura 15F): Tanto a aurícula externa como a interna, apresentam somente pelos do grupo 54;

Ponta das folhas: Retas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,59 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 5,60 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 25,22 graus Brix;

Zimograma das isoensinas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 10,04 mg/100mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 52,00mg/100mg de matéria seca.

'SP 71-3149'

Progenitores: NA 56-79 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Fern Green
o862/3; Região coberta pela bainha - Citro
Green 763;

Depressão da gema: Praticamente ausente em todo o colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4A, C e F): 29% cilíndrica, 47%
bobinado e 24% curvado;

Número de entre-nó por planta (Tabela 2): 20,33;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 15,79 centíme-
tros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,64 centímetros;

Formato das gemas (Figura 21C e D): A gema número 5 é obova-
da, com a região do poro germinativo ligeira-
mente triangular, e a número 10 é obovada nor-
mal;

Pelos das gemas (Figura 21C e D): Nas gemas de número 5 es-
tão presentes os seguintes pelos - 1,2,3,4,5,7,
8,10,11,12,16,22 e 26, enquanto que na de núme-
ro 10 temos - 1,2,3,4,5,7,8,10,11,12,13,16,22,
26 e 31;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,58 metros;

Presença de cera na bainha: Abundante;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 30,96 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Abundante;

Formato da lígula (Figura 11): Deltóide a deltóide-crescente;
Formato do "dewlap" (Figura 13B): Ligulado médio-alto ascendente;

Formato das aurículas (Figura 16D): A externa apresenta a forma unciforme e a interna transitória;

Pelos das aurículas (Figura 16D): Tanto a aurícula externa como a interna, apresentam somente pelos do grupo 51;

Ponta das folhas: Curvas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,42 centímetros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 4,43 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 23,22 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 8,81 mg/100 mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 43,25 mg/100 mg de matéria seca.

'IAC 64-257'

Progenitores: CO 419 x CO 356;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Chrysanthemum Crimson 824/2; Região coberta pela bainha Pod Green 061;

Depressão da gema: Praticamente ausente em todo colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4A): 100% cilíndrico;

Número do entre-nó por planta (Tabela 2): 21,17;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 15,04 centímetros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,90 centímetros;

Formato das gemas (Figura 20A e B): A gema número 5 é redonda, mas com excrecência na base da asa que lhe dá um aspecto triangular, e a de número 10 é oval, mas também com excrecência na base da asa, dando um aspecto retangular;

Pelos das gemas (Figura 20A e B): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,2a,7,8,11 e 12, enquanto que na de número 10 temos - 1,2,2a,7,11,11a e 12;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,79 metros;

Presença de cera no colmo: Pouca;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 30,74 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 13C): Quadrado sub-crescente alto e curto;

Formato das aurículas (Figura 15B): A externa apresenta a forma transitória e a interna unciforme;

Pelos das aurículas (Figura 15B): A externa apresenta os seguintes pelos - 51 e 54, e a interna - 51, 51b e 54;

Ponta das folhas: Dobradas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,57 metros;
Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 3,69 cen
tímetros;
Teor de sacarose (Tabela 8): 22,61 graus Brix;
Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidá
sicas (Figura 23);
Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 7,50 mg/100 mg
de matéria seca, e a pH 8,0 - 39,00 mg/100 mg
de matéria seca;

' SP 71-799 '

Progenitores: NA 56-79 x ?;
Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Magenta Rose
027/2; Região coberta pela bainha - Citro Green
763/2;

Depressão da gema: Presente em todo colmo;
Formato do entre-nó (Figura 4A, E e F): 57% cilíndrico, 15%
obconoidal e 28% curvado;
Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 19,00;
Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 14,16 centí-
metros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,98 centímetros;
Formato das gemas (Figura 18C e D): A gema número 5 é obova-
da e a de número 10 é redonda, mas com uma ex-
crescência na base da asa, que se projeta na re
gião mediana da gema;

Pelos das gemas (Figura 18C e D): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,2a,7,11,12, 13,e 31, e na de número 10 - 1,2,2a,7,8,11,12, 13,22 e 31;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,08 metros;

Presença de cera no colmo: Regular;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 27,94 centímetros;

Presença de joçol na bainha: Abundante;

Formato da lígula (Figura 11): Crescente com losango;

Formato do "dewlap" (Figura 14A): Quadrado médio-alto ascendente;

Formato das aurículas (Figura 15C): A externa apresenta a forma lanceolada e a interna deltóide;

Pelos das aurículas (Figura 15C): Tanto a externa quanto a interna apresentam somente pelos do grupo 51;

Ponta das folhas: Dobradas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,57 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 4,28 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 24,00 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 10,03 mg/100mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 52,00mg/100 mg de matéria seca.

'NA 56-79'

Progenitores: CO 419 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Fern Green
0862/3; Região coberta pela bainha - Barium
Yellow 503/1;

Depressão da gema: Presente em todo colmo, porém quase imperceptível;

Formato do entre-nó (Figura 4A e F): 22% cilíndrico e 78% curvado;

Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 22,89;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 15,75 centímetros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,66 centímetros;

Formato das gemas (Figura 18A e B): A gema número 5 é triangular, com excrecência na base da asa, tornando-se levemente arredondada em sua base, e a de número 10 é quadrada;

Pelos das gemas (Figura 18A e B): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,2a,3,4,7,8,11,12,16 e 31, enquanto que na de número 10 temos - 1,2,2a,3,7,10,12,15,31 e 31a;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 3,17 metros

Presença de cera no colmo: Abundante;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 32,31 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente e glabra;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 14C): Deltóide crescente alto e curto;

Formato das aurículas (Figura 15A): A externa apresenta a forma deltóide e a interna transitória;

Pelos das aurículas (Figura 15A): A externa apresenta os pelos do grupo 51 e a interna - 51 e 54;

Ponta das folhas: Dobradas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,45 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 4,08 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 25,03 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 10,01 mg/100mg de matéria seca, a pH 8,0 - 47,65 mg/100mg de matéria seca.

'SP 70-1143'

Progenitores: IAC 4865 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Pod Green 061/1; Região coberta pela bainha - Barium Yellow 503/1;

Depressão da gema: Presente na parte jovem e raro na adulta; ou base do colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4D, E e F): 25% conoidal, 62% obconoidal e 13% curvado;

Número de entre-nó por planta (Tabela 2): 19,67;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 17,02 centímetros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,52 centímetros;

Formato das gemas (Figura 17A e B): Tanto a gema de número 5, como a de número 10 são de forma romboidal;

Pelos das gemas (Figura 17A e B): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,3,7,8,12,16, e 26, enquanto que a de número 10 temos - 1,2, 3,7,8,11,12,15a,16 e 26;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,52 metros;

Presença de cera no colmo: Abundante;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 29,35 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Médio-crescente a orbicular - crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 12D): Quadrada médio-alto crescente;

Formato das aurículas (Figura 15E): A externa apresenta a forma transitória e a interna deltóide;

Pelos das aurículas (Figura 15E): A externa apresenta os seguintes pelos - 51 e 54, e a interna - 51, 51b e 54;

Ponta das folhas: dobradas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,36 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 5,41 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 24,86 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 6,47 mg/100 mg de matéria seca e a pH 8,0 - 34,50 mg/100 mg de matéria seca.

'SP 71-3146'

Progenitores: NA 56-79 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Fern Green 0862/3; Região coberta pela bainha - Barium Yellow 503/1;

Depressão da gema: Presente em todo o colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4B e D): 23% tumescente e 77% obconoidal;

Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 18,06;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 15,04 centímetros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 3,17 centímetros;

Formato das gemas (Figura 21A e B): A gema de número 5 é ovalada, mas levemente triangular, enquanto que a de número 10 é oval;

Pêlos das gemas (Figura 21A e B): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,4,5,7,8,10,11,12,13,16 e 22, enquanto que na de número 10 temos - 1,2,3,4,5,7,8,10,11,12,13,16,22,26 e 31;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,19 metros;

Presença de cera no colmo: Regular;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 24,93 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Abundante, sendo distribuído por toda a planta;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 12C): Ligulado estreito ascendente;

Formato das aurículas (Figura 15D): A externa apresenta a forma transitória e a interna deltóide;

Pêlos das aurículas (Figura 15D): A externa apresenta os seguintes pêlos - 51 e 51b, e a interna - 51;

Ponta das folhas: Retas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,31 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 5,46 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 22,06 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 9,93 mg/100 mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 47,65 mg/100 mg de matéria seca.

'SP 71-6180'

Progenitores: NA 56-79 x ?;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Granet Brown
oo918; Região coberta pela bainha - Fern Green
o862/2;

Depressão da gema: Presente em todo o colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4A e F): 13% cilíndrico e 87% cur
vado;

Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 19,11;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 14,44 centíme-
tros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 3,01 centímetros;

Formato das gemas (Figura 20C e D): A gema de número 5 é obo-
vada, e a de número 10 é retangular, mas com a
margem da asa se prolongando até a base;

Pelos das gemas (Figura 20C e D): Na gema de número 5 estão
presentes os seguintes pelos - 1,2,3,7,8,12,13,
16 e 31a, enquanto que na de número 10 temos
- 1,2,2a,3,7,7a,12,12a e 31;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,17 metros;

Presença de cera no colmo: Regular;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 29,53 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 12B): Quadrada sub-crescente alto
e curto;

Formato das aurículas (Figura 16C): A externa apresenta a for
ma transitória, e a interna lanceolada;

Pelos das aurículas (Figura 16C): Tanto a externa como a interna, apresentam somente pelos do grupo 51;
Ponta das folhas: Curvas;
Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,51 metros;
Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 4,48 centímetros;
Teor de sacarose (Tabela 8): 24,89 graus Brix;
Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);
Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 9,92 mg/100 mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 47,65 mg/100 mg de matéria seca.

'SP 71-1406'

Progenitores: NA 56-79 x ?;
Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Erythrite Red 27/2; Região coberta pela bainha - Citro Green 763/2;
Depressão da gema: Praticamente ausente em todo o colmo;
Formato do entre-nó (Figura 4A e F): 50% cilíndrico e 50% curvado;
Número de entre-nó por planta (Tabela 2): 16,00;
Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 17,02 centímetros;
Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 3,04 centímetros;

Formato das gemas (Figura 19C e D): A gema de número 5 é pentagonal, e a de número 10 é redonda, levemente pentagonal;

Pêlos das gemas (Figura 10C e D): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,3,4,7,8,10, 12,13,16 e 22, enquanto que na de número 10 temos - 1a,2a,3a,7,10,11,12,16a e 22;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,35 metros;

Presença de cera no colmo: Abundante;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 33,23 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Crescente com losango;

Formato do "dewlap" (Figura 12A): Ligulado estreito ascendente;

Formato das aurículas (Figura 16B): Tanto a aurícula externa como a interna são formas transitórias;

Pêlos das aurículas (Figura 16B): A externa apresenta pelos do grupo 51, e a interna do grupo 51 e 54;

Ponta das folhas: Retas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,59 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 5,66 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 22,72 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 10,03mg/100 mg de matéria seca, e a 8,0 - 52,00 mg/100mg de matéria seca.

'IAC 52-150'

Progenitores: CO 419 x CO 285;

Cor do colmo: Região não coberta pela bainha - Purple Madder 1028/3; Região coberta pela bainha - Willow Green 000862/1;

Depressão da gema: Praticamente ausente em todo o colmo;

Formato do entre-nó (Figura 4A e D): 75% cilíndrico e 25% conoidal;

Número de entre-nós por planta (Tabela 2): 18,83;

Comprimento dos entre-nós medianos (Tabela 6): 14,12 centímetros;

Diâmetro do entre-nó (Tabela 7): 2,43 centímetros;

Formato das gemas (Figura 17C e D): A gema de número 5 é obovada, com uma leve excrecência na base, como que elevando a gema; e a de número 10 é também obovada, mas a excrecência da base, a torna levemente arredondada;

Pelos das gemas (Figura 17C e D): Na gema de número 5 estão presentes os seguintes pelos - 1,2,2a,3,4,7,8, 10,11,12,13,16,22,26,31a e 32, enquanto que na de número 10 temos - 1,2,2a,3,4,7,8,10,11, 12, 13,16,22,26,31 e 31a;

Comprimento do colmo (Tabela 1): 2,90 metros;

Presença de cera no colmo: Abundante;

Comprimento da bainha (Tabela 3): 29,67 centímetros;

Presença de joçal na bainha: Praticamente ausente;

Formato da lígula (Figura 11): Cintiforme-crescente;

Formato do "dewlap" (Figura 14B): Quadrado médio-alto ascendente;

Formato das aurículas (Figura 16A): A externa apresenta a forma transitória modificada, e a interna a forma unciforme modificada;

Pelos das aurículas (Figura 16A): A externa apresenta os seguintes grupos de pelos - 51 e 54, e a interna - 51,54 e 71;

Ponta das folhas: Retas;

Comprimento do limbo foliar (Tabela 4): 1,35 metros;

Largura da região mediana do limbo foliar (Tabela 5): 4,82 centímetros;

Teor de sacarose (Tabela 8): 24,06 graus Brix;

Zimograma das isoenzimas: Esterásicas (Figura 22) e Peroxidásicas (Figura 23);

Proteína total solúvel (Tabela 9): A pH 5,5 - 9,95 mg/100 mg de matéria seca, e a pH 8,0 - 47,65 mg/100 mg de matéria seca.

Figura 11. Modelos de lígula dos 10 cultivares.

Figura 12. Par de "dewlaps" dos cultivares: A - SP 71 - 1406;
B - SP 71-6180; C - SP 71-3146; D - SP 70.1143.

Figura 13. Par de "dewlaps" dos cultivares: A - SP 71-6163;
B - SP 71-3149; C - IAC 64-257.

Figura 14. Par de "dewlaps" dos cultivares: A - SP 71—799;
B - SP 52-150; C - NA 56-79.

Figura 15. Par de aurículas dos cultivares: A - NA 56,79; B - IAC 64-257; C - SP 71-799; D - SP 71-3146; E - SP 70-1143; F - SP 71-6163.

Figura 16. Par de aurículas dos cultivares: A - IAC 52-150;
B - SP 71-1406; C - SP 71-6180; D - SP 71-3149.

Figura 17. Modelos de gemas dos cultivares: A - SP 70-1143 (gema 05); B - SP 70-1143 (gema 10); C - IAC 52-150 (gema 05); D - IAC 52-150 (gema 10).

Figura 18. Modelos de gemas dos cultivares: A - NA 56-79 (gema 05); B - NA 56-79 (gema 10), C - SP 71-799 (gema 05), D - SP 71-799 (gema 10).

Figura 19. Modelos de gemas dos cultivares: A - SP 71-6163 (gema 05); B - SP 71-6163 (gema 10); C - SP 71-1406, (gema 05); D - SP 71-1406 (gema 10).

Figura 20. Modelos de gemas dos cultivares: A - IAC 64-257 (gema 05); B - IAC 64-257 (gema 10), C - SP 71 - 6180 (gema 05); D - SP 71-6180 (gema 10).

Figura 21. Modelos de gemas dos cultivares: A - 71-3146 (gema 05); B - SP 71-3146 (gema 10); C - SP 71 - 3149 (gema 05), D - SP 71-3149 (gema 10).

Figura 22. Zimograma das isoenzimas de esterase dos cultivares.

Figura 23. Zimograma das isoenzimas de peroxidase dos cultivos.

4.2. Resumo das análises estatísticas

Tabela 1 - Comprimento do colmo.

Cultivares	Média das repetições
NA 56-79	3,17 a
IAC 52-150	2,90 b
IAC 64-257	2,79 bc
SP 71-3149	2,58 cd
SP 70-1143	2,52 d
SP 71-1406	2,35 de
SP 71-3146	2,19 ef
SP 71-6180	2,17 ef
SP 71-799	2,08 f
SP 71-6163	2,06 f
F (Trat.)	49,60**
D.M.S. (5%)	0,24
C.V. (%)	9,25

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 2 - Número de entre-nó por planta

Cultivares	Média das repetições
NA 56-79	22,89 a
IAC 64-257	21,17 ab
SP 71-3149	20,33 bc
SP 70-1143	19,67 bc
SP 71-6180	19,11 bc
SP 71-799	19,00 bc
IAC 52-150	18,83 bc
SP 71-3146	18,06 cd
SP 71-1406	16,00 d
SP 71-6163	15,83 d
F (Trat.)	16,09**
D.M.S. (5%)	2,41
C.V. (%)	11,96

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 3 - Comprimento da bainha

Cultivares	Média das repetições
SP 71-1406	33,23 a
NA 56-79	32,31 ab
SP 71-6163	31,52 abc
SP 71-3149	30,96 abc
IAC 64-257	30,74 abc
IAC 52-150	29,67 bcd
SP 71-6180	29,53 cd
SP 70-1143	29,35 cd
SP 71-799	27,94 d
SP 71-3146	24,93 e
F (Trat.)	14,99**
D.M.S. (5%)	2,73
D.V. (%)	8,62

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 4 - Comprimento do limbo foliar.

Cultivares	Média das repetições
SP 71-6163	1,59 a
SP 71-1406	1,59 a
IAC 64-257	1,57 a
SP 71-799	1,57 a
SP 71-6180	1,51 a
NA 56-79	1,45 a
SP 71-3149	1,42 a
SP 70-1143	1,36 a
IAC 52-150	1,35 a
SP 71-3146	1,31 a
F (Trat.)	0,86
D.M.S. (5%)	0,52
C.V. (%)	33,67

- Não significativo.

Tabela 5 - Largura da região mediana do limbo foliar.

Cultivares	Média das repetições
SP 71-1406	5,66 a
SP 71-6163	5,60 a
SP 71-3146	5,46 a
SP 70-1143	5,41 a
IAC 52-150	4,82 b
SP 71-6180	4,48 bc
SP 71-3149	4,43 bc
SP 71-799	4,28 c
NA 56-79	4,08 cd
IAC 64-257	3,69 d
F (Trat.)	59,56**
D.M.S: (5%)	0,41
C.V. (%)	8,06

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6 - Comprimento do entre-nó mediano.

Cultivares	Média das repetições
IAC 52-150	18,56 a
SP 71-1406	17,02 ab
SP 70-1143	17,02 ab
SP 71-3149	15,79 bc
NA 56-79	15,75 bc
IAC 64-257	15,04 bc
SP 71-3146	15,04 bc
SP 71-6180	14,44 c
SP 71-799	14,16 c
SP 71-6163	14,12 c
F (Trat.)	9,28**
D.M.S. (5%)	2,13
C.V. (%)	12,89

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 7 - Diâmetro do entre-nó mediano.

Cultivares	Média das repetições
SP 71-3146	3,17 a
SP 71-1406	3,04 a
SP 71-6180	3,01 ab
SP 71-799	2,98 ab
IAC 64-257	2,90 abc
SP 71-6163	2,73 bcd
NA 56-79	2,66 cd
SP 71-3149	2,64 cd
SP 70-1143	2,52 d
IAC 52-150	2,43 d
F (Trat.)	13,86**
D.M.S: (5%)	0,30
C.V. (%)	10,05

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 8 - Sólidos solúveis (sacarose) em graus brix.

Cultivares	Média das repetições
SP 71-6163	25,22 a
NA 56-79	25,03 a
SP 71-6180	24,89 ab
SP 70-1143	24,86 ab
IAC 52-150	24,06 abc
SP 71-799	24,00 abc
SP 71-3149	23,22 bcd
SP 71-1406	22,72 cd
IAC 64-257	22,61 cd
SP 71-3146	22,06 d
F (Trat.)	9,03**
D.M.S (5%)	1,71
C.V. (%)	6,79

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

4.3. Chave para determinação dos cultivares

1. Largura da região mediana do limbo foliar superior a 5,00 centímetros 2
2. Diâmetro do entre-nó mediano menor que 2,60 centímetros; ausência dos pelos 22 e 4 nas gemas 5 ou 10; ponta das folhas dobradas e formato da lígula do tipo crescente a orbicular crescente 'SP 70-1143'
- 2'. Diâmetro do entre-nó mediano maior que 2,60 centímetros; presença dos pelos 22 e 4 nas gemas 5 ou 10; ponta das folhas retas e formato da lígula do tipo cintiforme-crescente ou crescente com losango 3
3. Ausência dos pelos 5 nas gemas 5 ou 10; formato da lígula do tipo crescente com losango e abundante quantidade de cera no colmo 'SP 71-1406'
- 3'. Presença dos pelos 5 nas gemas 5 ou 10; formato da lígula do tipo cintiforme-crescente e regular quantidade de de cera no colmo 4
4. Comprimento da bainha maior que 28,00 centímetros; sólidos solúveis (sacarose) maior que 24,00 graus Brix e abundante quantidade de joçal na bainha 'SP 71-6163'

- 4'. Comprimento da bainha menor que
28,00 centímetros; sólidos so-
lúveis (sacarose) menor que 24,00
graus Brix e joçal praticamen-
te ausente na bainha 'SP 71-3146'
- 1'. Largura da região mediana do limbo foliar
inferior a 5,00 centímetros 5
5. Formato do "dawlap" do tipo deltóide
crescente alto e curto ou ligulado me
dio-alto ascendente e abundante ou pra-
ticamente sem cera no colmo 6
6. Formato do "dawlap" do tipo ligula-
do médio-alto ascendente; bainha
com abundante quantidade de joçal,
formato da lígula do tipo deltóide
a deltóide-crescente e ponta das fo-
lhas curvas 'SP 71-3149'
- 6'. Formato do "dewlap" do tipo del-
tóide crescente alto e curto; bai-
nha praticamente sem joçal; forma-
to da lígula do tipo cintiforme-
crescente e ponta das folhas dóbra-
das 7

7. Presença dos pelos 3, 4, 16 e 31 nas gemas 5 ou 10; Abundante quantidade de cera no colmo; comprimento médio do colmo maior que 3,0 metros; sólidos solúveis (sacarose) maior que 24,00 graus Brix e proteína total solúvel a pH 5,5 igual a 9,94 mg/100 mg de mat. seca e a pH 8,0 igual a 47,65 mg/100 mg de matéria seca.....'NA 56-79'
- 7'. Ausência dos pelos 3, 4, 16 e 31 nas gemas 5 ou 10; pouca cera no colmo; comprimento médio do colmo menor que 3,00 metros; sólidos solúveis (sacarose) menor que 24,00 graus Brix e proteína total solúvel a pH 5,5 igual a 6,47 mg/100mg de mat. seca e a pH 8,0 igual a 34,50mg/100 mg de mat. seca 'IAC 64-257'

5'. Formato do "dewlap" do tipo quadrado médio
alto ascendente ou quadrado crescente alto
e curto e média quantidade de cera no col-
mo..... 8

8. Formato do "dewlap" do tipo quadrado sub-
crescente alto e curto; ponta das folhas
curvas e ausência dos pelos 22 nas gemas 5
ou 10 "SP71-6180"

8'. Formato do "dewlap" do tipo quadrado médio
alto ascendente; ponta das folhas retas
ou dobradas e presença dos pelos 22 nas ge
mas 5 ou 10 9

9. Formato da lígula do tipo cintiformeu
 crescente; praticamente sem jogal nas
 bainhas; depressão da gema ausente ou
 rara em todo o colmo; ponta das fo-
 lhas retas; comprimento médio do coll
 mo maior que 2,50 metros; comprimen-
 to dos entre-nós medianos maior que
 16,00 centímetros; e diâmetro menor
 que 2,70 centímetros; a presença dos
 pelos 2a,3,4,10,16,26,31a e 32 na
 gemas 5 ou 10 'IAC 52-150'
- 9'. Formato da lígula do tipo crescente
 com losango; presença abundante de jog
 çal na bainha; depressão da gema preu
 sente em todo colmo; ponta das fo-
 lhas dobradas; comprimento médio do
 colmo menor que 2,50 metros; compri-
 mento dos entre-nós medianos menor
 que 16,00 centímetros, e diâmetro
 maior que 2,70 centímetros; e ausên-
 cia dos pelos 2a,3,4,10,16,26,31a e
 32 nas gemas 5 ou 10 'SP 71-799'

5. DISCUSSÃO

As características morfológicas e bioquímicas são expressões resultantes da interação gênica com o ambiente, o que justifica o presente trabalho ter sido conduzido com os dez cultivares sob as mesmas condições climáticas, edáficas e de tratos culturais.

5.1. Análise Morfológica

Na apreciação dos caracteres botânicos dos cultivares, verificou-se que dentre eles, somente o comprimento do limbo foliar revelou-se pouco variável e não significativo, enquanto que os demais caracteres se apresentaram com maior importância taxonômica.

Segundo DILLEWIJN (1952), o "dewlap" ou articulação da folha, é a junção do limbo com a bainha, cuja superfície externa assemelha-se a um colarinho e a interna é co

nhecida como garganta. O valor diagnóstico dos modelos de "dewlap" tem sido rejeitado por muitos taxonomistas em cana-de-açúcar, porém, ARTSCHWAGER (1951a), considera os "dewlaps" taxonomicamente importantes, por apresentarem especificações necessárias para a determinação das variedades de cana-de-açúcar.

Neste experimento, as características do "dewlap" podem ser comprovadas, porém seu uso na determinação dos cultivares estudados está sujeito a duas condições:

1) que sejam considerados somente os "dewlaps" de folhas adultas, visto que nas jovens, ou seja, as que ainda se encontram enroladas no palmito, os mesmos variam muito de forma até atingirem o modelo padrão do cultivar;

2) que não se considere a coloração dos "dewlaps", pois a cor tende a se alterar, ou até mesmo desaparecer, devido à deposição de cera durante o amadurecimento.

A lígula em cana-de-açúcar, é um apêndice membranáceo atado à junção da lâmina com a bainha, de grande valor taxonômico (ARTSCHWAGER, 1954). Os modelos básicos de lígula são: Linear, Deltóide, Crescenteforme e Arcuada, sendo um caráter constante no cultivar e variável na espécie (ARTSCHWAGER, 1951b).

Nos cultivares estudados, os tipos encontrados de lígulas foram: Orbicular-crescente; Deltóide; Crescente com losango e sub-arcuada, sendo comprovado sua estabilidade e valor taxonômico.

As aurículas são apêndices da bainha, cujos modelos mais frequentes segundo ARTSCHWAGER (1954), são: Lanceolado e Deltóide, e os menos frequentes são: Falcata e Unciforme. Para os dez cultivares examinados, as formas transitórias, seguidas pelas formas deltóide, unciforme e lanceolada, foram nesta ordem as mais frequentes, sendo assim de grande auxílio no agrupamento e na determinação dos cultivares, por apresentarem grande estabilidade entre eles.

Os pelos, tanto das gemas, como das aurículas, são apontados por JESWIET (1925), como parte fundamental na determinação de cultivares de cana-de-açúcar. O presente trabalho evidenciou que para os cultivares examinados, os pelos das gemas apresentaram-se mais variáveis entre eles, e portanto de maior importância que os das aurículas, como se pode observar nas Figuras 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21.

ARTSCHWAGER (1940), descreveu o entre-nó da cana-de-açúcar, como sendo uma característica morfológicamente instável, tanto na variedade como na própria planta. O presente trabalho confirmou o fato de que o comprimento e o diâmetro dos entre-nós variam na mesma planta, porém pode-se observar que estes se mantêm estáveis para estas duas características, tanto na planta como no cultivar, se considerarmos somente a região mediana do colmo, geralmente compreendida pelos entre-nós de número 5 e 10, tornando-se desta maneira recomendado o uso do diâmetro e do comprimento do entre-nó, na caracterização de cultivares de cana-de-açúcar.

A utilização do número de entre-nós por colmo, em taxonomia de cana-de-açúcar, pode ser aconselhada, desde que só se considerem os entre-nós a partir do nível do solo até o entre-nó correspondente ao "dewlap" número 1. Isto porque a determinação do número de entre-nós, no caso de soqueira, é difícil e instável principalmente quando estes são considerados abaixo do nível do solo, ocorrendo a mesma dificuldade com os entre-nós do palmito.

Quanto a forma dos entre-nós, somente os da região mediana apresentam-se com modelos estáveis, tanto na planta como no cultivar, enquanto que os da base e do ápice, são instáveis na própria planta.

A forma da gema é uma característica botânica apreciável, desde que se considerem somente as gemas da região mediana do colmo, por se apresentarem mais estáveis tanto na planta como na variedade, enquanto que as gemas do ápice, por se encontrarem em fase de desenvolvimento, não têm forma definida e as da base normalmente apresentam-se deformadas pelo início da brotação.

Segundo ARTSCHWAGER (1940), o comprimento da bainha varia de 15 a 52 cm, porém, é razoavelmente constante dentro da variedade. No presente trabalho, comprovou-se este fato; pode-se, contudo, notar que o tamanho das bainhas jovens apresentam-se relativamente diferentes das maduras, ou seja, das bainhas de folhas complementemente abertas. Assim sendo, estipulou-se medir o comprimento da bainha número 3 como

forma de padronização, por se tratar da primeira folha completamente adulta. Este dado permitiu separar os 10 cultivares em 5 grupos, sendo que 'SP 71-3146', apresentou o menor comprimento da bainha.

Os demais caracteres organográficos apresentaram relativa importância, ou seja, em alguns dos cultivares se mostraram significativos e em outros com menor variação.

5.2. Análise Bioquímica

Na apreciação das características bioquímicas, foi possível observar que os sólidos solúveis (sacarose) em graus Brix apresentou grande importância, principalmente por sua facilidade de aplicação e custo relativamente baixo. Para variedades cultivadas melhoradas geneticamente, foi possível notar uma pequena variação entre os mesmos, o que traz a necessidade de se obter dados extremamente precisos. Para tanto, recomenda-se utilizar somente os entre-nós da região mediana do colmo, por se tratar da região de maior estabilidade da planta, pois tanto os entre-nós mais velhos da base, como os mais jovens do ápice, são bioquimicamente instáveis devido, respectivamente aos gastos energéticos necessários durante o processo de brotação, e à sua imaturidade.

A proteína total solúvel, tanto a pH 5,5 como a pH 8,0, apresentou-se muito estável no cultivar, e pouco

variável entre eles, mas é uma característica que permite agrupar as variedades, em alguns casos, como 'SP-6163', 'SP 70-1143' e 'IAC 64-257', cada cultivar apresentou um valor próprio, que os distinguia dos demais.

Objetivando um projeto de seleção de cultivares, devem-se levar em consideração o método de análise e qual o parâmetro de comparação. Como a insensibilidade às flutuações ambientais é um fator essencial em qualquer programa de seleção, todo material coletado para as análises das isoenzimas dos 10 cultivares, foram mantidos sob as mesmas condições, como forma de padronizar as possíveis alterações causadas pelo ambiente.

Segundo GONÇALVES et alii (1981), a gema da cana-de-açúcar é o material mais recomendado para a determinação de isoenzimas por se tratar de uma estrutura mais estável e menos dependente do ambiente. Em uma planta adulta de cana-de-açúcar, podem ser observados três estágios de gemas em um mesmo colmo, que são: gemas jovens e em formação, representadas pelas gemas do palmito até as de número três a quatro; gemas maduras e latentes, que se encontram na região mediana do colmo; e gemas em início de brotação, que geralmente se encontram na base da planta. Optou-se pelo uso das gemas maduras e latentes, por já terem completado seu desenvolvimento, logo apresentam suas características morfológicas e bioquímicas manifestadas, e por estarem latentes, pode-se garantir uma estabilidade enzimática relativamente alta para to

dos os cultivares examinados, pois as expressões das isoenzimas dos diversos tecidos vegetais pode ser alterada pelo ambiente (DeJONG et alii, 1968; THOM e MARETZKI, 1970; e McCOWN et alii, 1969).

Por estas razões, a gema da cana-de-açúcar é um instrumento mais valioso na determinação de cultivares, que os demais caracteres vegetativos, onde as alterações ontogênicas, geralmente induzidas pelo ambiente nos padrões isoenzimáticos, podem transcender a variabilidade interespecífica (HART e BHATIA, 1967; KELLEY e ADAMS, 1977).

De acordo com LOOMIS (1974), tecidos vegetais apresentam problemas especiais para o isolamento de enzimas, devido à presença de uma grande variedade de produtos secundários e de fenol oxidases. Apesar de até o momento não existirem métodos gerais aplicáveis para isolar enzimas de vegetais, o presente trabalho levou em consideração estes fatores, e durante o procedimento de extração procurou-se minimizá-los. Assim sendo, utilizou-se baixa temperatura e um tempo mínimo necessário de extração, para superar principalmente o problema de proteólise, a qual poderia, pela degradação parcial das proteínas originar artifícios no perfil das isoenzimas. Sendo ainda relevante o fato de que, a porcentagem de proteínas extraídas durante 1 minuto em almofariz, é a mesma que LEE (1978), extraiu em trinta minutos de agitação em câmara fria.

Agentes antioxidantes sulfídricos foram utilizados para impedir a polimerização das proteínas, que poderiam inibir totalmen-

te as enzimas, bem como reduzir sua atividade, produzindo faixas artificiais (CURY, 1980). Ainda segundo CURY e CROCOMO (1980), o uso de tampão acetato 0,1M a pH 5,5 com a adição de 2-mercaptoetanol a 0,5%, mostrou ser o melhor extraente de isoenzimas de tecido de gema de cana-de-açúcar.

Hoje está bem documentado que, assim que uma diferenciação celular progride levando a um desenvolvimento morfológico e uma especialização funcional, há uma contínua síntese e/ou degradação de enzimas específicas e proteínas estruturais. Um fator comum em desenvolvimento e diferenciação celular, é a habilidade das células em perder ou adquirir características bioquímicas específicas.

Duas das principais alterações encontradas na maioria dos organismos, são as variações quantitativas e qualitativas na atividade enzimática dentro de suas células. O aparecimento de uma nova atividade enzimática ou seu aumento no organismo em desenvolvimento, pode ser o resultado da síntese de nova molécula enzimática, ou a ativação de um precursor pré-existente da enzima (SCANDALIOS, 1974).

Assim que uma planta cresce e o desenvolvimento ocorre, as variações isoenzimáticas qualitativas são frequentemente dramáticas e incluem o aparecimento de novas faixas e o desaparecimento de outras (PIERCE e BREWBAKER, 1973). Diferenças qualiquantitativas foram observadas e comprovadas por diversos autores em diferentes plantas e órgãos (THURMAN et alii, 1965; SEIGEL e GALSTON, 1967; BHATIA e NILSON, 1969; STODDART, 1971; JOHNSON et alii, 1973; e KRASNOOK et alii, 1979).

SHANNON (1968) comprovou que, quando células de diferentes órgãos são crescidas em cultura "in vitro" e expostas a idênticas condições, elas desenvolvem um padrão enzimático uniforme. Assim sendo, o meio citoplasmático deve controlar uma atividade diferencial dos genes e deste modo regular os padrões isoenzimáticos específicos dos tecidos. Ainda SHANNON (1968) demonstrou que em plantas, o padrão isoenzimático pode ser influenciado pela presença ou ausência de fitoreguladores, como ácido giberélico, ácido indolacético e cinetina.

OCKERSE et alii (1966), demonstraram que uma isoenzima de peroxidase do caule, é reprimida pelo ácido indolacético; e GALSTON (1967), relatou que o ácido indolacético pode alterar o nível de várias peroxidases.

Todos estes fatos, como alterações qualiquantitativas das isoenzimas, produzidas pelo desenvolvimento e diferenciação, como pela ação de fitoreguladores, também justificam o uso da gema de cana-de-açúcar, em estágio de dormência, como sendo a melhor estrutura na análise de isoenzimas na determinação de cultivares.

Isoenzimas de diversos sistemas enzimáticos poderiam ter sido utilizados na determinação dos dez cultivares examinados, mas segundo THOM e MARETZKI (1970), os modelos de isoenzimas de esterase e peroxidase em um mesmo tecido de cana-de-açúcar, são específicos para cada clone, diferindo qualitativa e quantitativamente um do outro, com poucas

exceções. Segundo BARRETO e SIMON (1982), 19 variedades de cana-de-açúcar foram diferenciadas pelos zimogramas de peroxidase e ésterase, devido a variação intervarietal existente, de maneira a ser recomendado seu uso na determinação de variedades em cana-de-açúcar.

GONÇALVES et alii (1981) informaram que o padrão eletroforético, no caso das isoenzimas de ésterase, se mantém em plantas com idades fisiológicas distintas, desde que, crescidas em ambiente controlado. Com base nestes Autores, é que foram utilizadas no presente trabalho as isoenzimas de esterase e peroxidase como parâmetro de diferenciação dos 10 cultivares estudados.

Com relação às isoenzimas de esterase (Figura 22), pode-se observar um comportamento específico nos zimogramas de cada cultivar, sendo que as faixas, a contar pela origem, de número 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 13, não foram constantes nos cultivares, e somente a faixa de número 6, esteve presente e com a mesma intensidade em todos, mostrando ser provavelmente uma faixa comum à espécie, enquanto que as faixas de número 1, 2 e 12, apesar de sempre estarem presentes, apresentam-se com diferentes intensidades entre os cultivares.

Para as isoenzimas de peroxidase (Figura 23), obteve-se menor número de faixas do que com esterase, os quais também foram menos variáveis entre os cultivares, existindo padrões eletroforéticos idênticos, que permitiram agrupar alguns dos cultivares, tais como: IAC 52-150 e SP 71-799,

e também SP 71-3146; SP 71-3149 e SP 71-6163, por apresentarem padrões isoenzimáticos semelhantes em cada um dos agrupamentos. Nos demais cultivares, apesar de apresentarem zimogramas específicos, notou-se que as diferenças entre eles foram muito poucas, pois 'NA 56-79' apresentou-se diferente do agrupamento com 'SP 71-3146', 'SP 71-3149' e 'SP 71-6163', por não apresentar a faixa delgada que ocorre entre a primeira e a segunda faixa intensa. Já os cultivares SP 70-1143 e SP 71-6180, são distintos de SP 71-1406, por uma faixa, ou seja, 'SP 70-1143' apresenta a terceira faixa a partir da origem, o que não ocorre em 'SP 71-1406'. O cultivar SP 71-6180 apresenta uma faixa extra, o que não ocorre entre as duas primeiras de 'SP 71-1406'. Somente o IAC 64-257 apresentou um zimograma característico e mais distinto para as isoenzimas de peroxidase que os demais cultivares.

6. CONCLUSÕES

Dos estudos feitos para a caracterização dos 10 cultivares de cana-de-açúcar analisados, ou sejam: NA 56-79, IAC 52-150, IAC 64-257, SP 70-1143, SP 71-3146, SP 71-3149, SP 71-1406, SP 71-6163, SP 71-6180, destacam-se as seguintes conclusões:

1. As características organográficas que mais se destacaram na caracterização dos cultivares foram: Largura da região mediana do limbo foliar; Comprimento e presença de joçal na bainha; Formato do "dewlap", lígula e aurícula; Presença de pelos na gema e formato de gema;

2. Apenas o comprimento do limbo foliar não é suficiente para identificá-los;

3. A região mediana do colmo, é a mais recomendada, para estudos de caracterização, tanto do ponto de vista morfológico, como bioquímico;

4. Os sólidos solúveis (sacarose) em graus Brix e a proteína total solúvel, mesmo sendo pouco variáveis, têm um valor satisfatório na determinação dos cultivares;

5. As isoenzimas de peroxidase permitem agrupar os cultivares, assim: 'IAC 52-150' com 'SP 71-799' e 'SP 71-3146' com 'SP 71-3149' e 'SP 71-6163';

6. O padrão eletroforético das isoenzimas de esterase, é específico para cada um dos 10 cultivares estudados;

7. As isoenzimas de peroxidase e esterase apresentam-se constantes em um mesmo cultivar;

8. Com os dados morfológicos e bioquímicos obtidos foi possível a elaboração de uma chave analítica para a determinação dos cultivares.

7. LITERATURA CITADA

ALMGARD, G. e U. LANDEGREN, 1974. Isoenzimatic variation used for the identification of barley cultivars. Z. Pflanzenzüchtg, 72: 63-73.

ALSTON, R.E. e B.L. TURNER, 1963. Biochemical systematics. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

ARTSCHWAGER, E., 1939. Illustrated outline for use in taxonomic description of sugarcane varieties. Proc. Int. Soc. Sug. Cane Tech., 6: 116-127.

ARTSCHWAGER, E., 1940. Morphology of the vegetative organs of sugarcane. Journal of Agricultural Research, 60: 504-544.

ARTSCHWAGER, E., 1951a. Structure and Taxonomic Value of the Dewlap in sugarcane. Technical Bulletin U.S. Dept. of Agriculture, 1038: 12p.

ARTSCHWAGER, E., 1951b. The role of the ligule in sugarcane taxonomy. American Journal of Botany, 38: 144-146.

- ARTSCHWAGER, E., 1954. A Taxonomic study of *Saccharum sinense* Roxb and *S. barberi* Jesw. Tech. Bul. U.S. Dept. of Agriculture, 1089: 87p.
- ARTSCHWAGER, E. e E.W. BRANDES, 1958. Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Washington, Department of Agriculture. Agriculture Handbook, 122. 307p.
- AYALA, F.J., 1976. Molecular evolution. Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Massachusetts, 425p.
- BACCHI, O.O.S., 1983. Botânica da cana-de-açúcar. In: ORLANDO FILHO, J., Coord. Nutrição e Adubação da cana-de-açúcar no Brasil. Piracicaba. Instituto do Açúcar e do Alcool - Planalsucar, 2: 25-37.
- BARRETO, A. e SIMON, J.P., 1982. Identificación de progenies y progenitores por el analisis del numero cromossômico em *Saccharum*. Turrialba, 32(3): 321-327.
- BASSIRI, A. e I. ROUHANI, 1977. Identification of broad bean cultivars based on isozymes patterns. Euphytica, 26: 279-286.
- BHATIA, C.R. e J.P. NILSON, 1969. Isozyme changes accompanying germination of wheat seeds. Biochem. Genet., 3: 207-214.
- BOULTER, D.; D.A. THURMAN e E. DEBYSHIRE, 1967. A disc electrophoretic study of globulin proteins of legume seeds with reference to their systematics, New Phytol., 66: 27-36.
- BREWBAKER, J.L., 1966. Enzyme fingerprints for the plant detective. Hawaiian Bot. Soc. Newsletter, 1(1): 1-3.

- BREWBAKER, J.L., 1971. Pollen enzymes and isoenzymes. In *Polen: development and physiology*. p.156-170. Butterworth & Co., London.
- CURY, J.A., 1980. Contribuição ao estudo das isoenzimas de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 124p. (Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Química da USP/SP).
- CURY, J.A. e I.J. CROCOMO, 1980. Determinação simultânea de desidrogenase alcoólica (ADH) e desidrogenase málica (MDH), em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Energ. Nucl. Agric., 2(1): 74-77.
- DAVIS, B.J., 1964. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. Ann. N.U. Acad. Sci., 121: 407-427.
- DeJONG, D.W.; A.C. OLSON; K.M. HAWKER e E.F. JANSEN, 1968. Effect of cultivation temperature on peroxidase isoenzymes of plant cells grown in suspension. Plant Physiology, 43: 841-844.
- DERBYSHIRE, E.; D.J. WRIGHT e D. BOULTER, 1976. Review: Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. Phytochem., 15: 3-24.
- DESBOROUGH, S. e J.M. SHARON, 1968. Potato variety identification by use eletroforetic patterns of tuber proteins and enzymes. J. Expt. Bot., 18: 100-109.

- DESBOROUGH, 1969. Turber proteins from haploide, self and cultivars of group tuberosum separated by acid gel disc eletroforesis. Theor. & Appl. Gen, 39: 43-47.
- DILLEWIJN, C.V., 1952. Botany of sugarcane. Waltham, Msss, U.S.A. The Chronica Botanica Co.; Book Department, vol. (1): 371p.
- GALSTON, A.W., 1967. Regulatory systems in higher plants. Amer. Sci., 55: 144-160.
- GONÇALVES, C.H.R.P.; J.A. CURY e O.J. CROCOMO, 1981. Isoenzyman na identificação e seleção de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp). Anais do 29 Congr. Nac. da Soc. de Téc. Açucareiros do Brasil, vol. II/IV: 329-340.
- GOTTLIEB, S.P., 1979. Eletrophoretic evidence and plant systematics. Annual Missouri Botany Gard., 64: 161-180.
- HART, G.E. e C.R. BHATIA, 1967. Acrylamide gel eletrophoresis of soluble leaf proteins and enzymes from *Nicotiana* species. Can. J. Genet. Cytol., 9: 367-374.
- HEINZ, D.J. e GRACE, W.P. Mee, 1969. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. Crop. Sci., 9: 346-348.
- JESWIET, J., 1925. Beschrijving der soorten van het swikerriet. Elf de bijdrage. Bijdrage tot de systematick van het geslacht *Saccharum*. Meded Proefst. Java - Suikerind., 391-404.
- JOHNSON, B.L. e O. HALL, 1966. Eletroforetic studies of species relationship in the *Triticum*. Acta Agric. Scand, 16: 222-224.

- JOHNSON, B.L., 1967. Tetraploid wheats: seed eletrophoretics patters of the Emmer and Timopheevi groups. Science, 158: 131-132.
- JOHNSON, B.L.; D. BARNHART e O. HALL, 1967. Analysis of genome and species relationships in the polyploids wheats by protein eletrophoresis. Amer. J. Bot., 54: 1089-1093.
- JOHNSON, B.L. e M.M. THEIN, 1970. Assessment of evolutionary affinities in *Gossypium* by protein electrophoresis. Amer. J. Bot., 57: 1081-1092.
- HOHNSON, B.L., 1972. Protein electrophoretic profiles and the origin of the B genome of wheat. Proc. Nat. Acad. Sci., 69: 1398-1402.
- JOHNSON, C.B.; B.R. HOLLOWAY; H. SMITH e D. GRIERSON, 1973. Isoenzymes of acid phosphatase in germinating peas. Plan-ta, 116: 1-10.
- KELLEY, W.A. e R.P. ADAMS, 1977. Seasonal variations of iso-enzymes in *Juniperus scopulorum*: Systematic signce. An. J. Bot., 64(9): 1092-1096.
- KRASNOOK, N.P.; E.A. MORGUNOVA; E.T. BYKHTOYAROVA e I.A. VISH NYAKOVA, 1979. Changes in activity and isoenzyme composition of cytoplasmic and mitochondrial dehidrogenases and cytochrome oxidase in rice seeds with different germinating capacities. Soviet Plant Physiol., 26(1): 64-70.
- LARSEN, A.L., 1969. Isoenzymes and varietal identification. Seed World, 104(8): 5-6.

- LEE, J.W. e J.A. RONALDS, 1967. Effect of environment on wheat gladin. Nature, 213: 844-846.
- LEE, T.G., 1978. Proteínas de reserva de feijão (*Phaseolus vulgaris*). Tese de Doutorado em Bioquímica apresentada ao Departamento de Química da USP, SP. 125p.
- LEWIS, W.A., 1980. Polyploid: biological relevance. Plenum Press. New York. 583p.
- LEWONTIN, R.C., 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press, New York. 352p.
- LOESCHCKE, V. e H. STEGMANN, 1966. Proteine der kartoffelknollen in Abhängigkeit von Sorte und Virose (Polyacrylamide-liktrophorese). Phytochem., 5: 985-991.
- LOOMIS, W.D., 1974. Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and ortanella. In: Methods in Enzymology, 31: 528-544.
- LOWRY, O.H.; N.J. ROSENBROGH, A.L. FARR e R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- MACKO, V.; G.R. HONOLD e M.A. STAHMANN, 1967. Soluble proteins and multiple enzyme forms in early growth of wheat. Phytochem., 6: 465-471.
- MARKERT, C.L. e F. MOLLER, 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. Proc. Nat. Acad. Sci., 45: 753-763.

- McCOWN, B.H.; T.C. HALL e G.E. BECK, 1969. Plant leaf ant stem proteins. II. Isozymes and environmental change. Plant Physiology, 44: 210-216.
- McKEE, G.W., 1973. Chemical and Biochemical techniques for varietal identification. Seed.Sci e Technol., 1: 181-199.
- NAGLE, N.E. e N.F. HAARD, 1975. Fracionation and characterization of peroxidase from ripe banana fruit. J. Food Sci., 40: 576-579.
- OCKERSE, R.; B.Z. SIEGEL e A.W. GALSTON, 1966. Hormone induced repression of a peroxidase isozyme in plant tissue . Science, 151: 452-453.
- PIERCE, L.C. e J.L. BREWBAKER, 1973. Applications of isozyme analysis in horticultural.Science. Hortscience, 8(1): 17-22.
- SASS, J.E., 1958. Botanical Microtechnique. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, Third Edition, 228p.
- SCANDALIOS, J.G., 1974. Isoenzymes in Development and differentiation. Ann. Rev. Plant Physiol., 25: 255-258.
- SCHAWARTZ, D., 1960. Genetic studies on mutant enzymes in maize: synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. Proc. Nat. Acad. Sci., 46: 1210-1215.
- SHANONN, M.L., 1968. Plant Isoenzymes. Ann. Rev. Plant Physiol., 19: 187-210.

SIEGEL, B.Z. e A.W. GALSTON, 1967. The isoperoxidases of *Pisum sativum*. Plant Physiology, 42: 221-226.

STEVENSON, G.C., 1965. Genetics and Breedings of sugarcane. Tropical Science Series. Longmans, Green and Co. Ltd, London. 284p.

STODDART, J.L., 1971. Sequential changes in amylase isozymes during grain maturation in barley. Plant, 97: 70-82.

THE BRITISH COLOUR COUNCIL (s/d). Horticultural colour chart. London, C., 2v.

THOM, M. e A. MARETZKI, 1970. Peroxidase and esterase isozymes in Hawaiian sugarcane. Hawaiian Planter's Record, 58(6): 81-94.

THURMAN, D.A.; C. PALIN e M.V. LAYCOCK, 1965. Isoenzymatic nature of L-glutamic dehydrogenase of higher plants. Nature, 207(4993): 193-194.

THURMAN, D.A.; D. BOULTER; E. DERBYSHIRE e B.L. TURNER, 1967. Eletrophoretic mobilities of formic and glutanic dehydrogenase in the Fabaceae: A systematic survey. New Phytol., 66: 37-48.

WALDRON, J.C. e K.T. GLASZIOU, 1972. Isoenzymes as a method of varietal identification in sugarcane, XIV Congress Proceedings of the International Society of Sugarcane Technologists, New Orleans, Louisiana, U.S.A. p.249.259.

WHIPPLE, H.E. (Ed.), 1964. In: Gel electrophoresis (A conference). Ann. N.Y. Acad. Sci., 121: 305.