**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Fisioativadores e a fitotoxicidade causada pelos herbicidas sulfentrazone,
imazapique e clomazone na cultura de cana-de-açúcar**

Jeisiane de Fátima Andrade

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2020**

Jeisiane de Fátima Andrade
Bacharel em Agronomia

**Fisioativadores e a fitotoxicidade causada pelos herbicidas sulfentrazone,
imazapique e clomazone na cultura de cana-de-açúcar**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO ROBERTO DE CAMARGO E CASTRO**

Coorientador:
Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Andrade, Jeisiane de Fátima

Fisioativadores e a fitotoxicidade causada pelos herbicidas sulfentrazone, imazapique e sulfentrazone na cultura de cana-de-açúcar / Jeisiane de Fátima Andrade. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2020.

95 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Saccharum* spp 2. Plantas daninhas 3. Metabolismo 4. α -esterase I. Título

**Aos meus amados pais, Joaquim e Fátima, aos meus
irmãos, Jean e Jefferson, ao meu noivo Lucas,**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- A Deus, à quem devo tudo;
- Aos meus pais Joaquim Balbino de Andrade e Maria de Fátima Carvalho Andrade os quais me ensinaram os princípios da vida, me ensinaram a lutar e alcançar com dignidade meus objetivos, e sempre foram exemplos de garra e perseverança mesmo diante das dificuldades;
- Aos meus irmãos Jean Carlos de Andrade e Jefferson de Andrade, por acreditarem em mim e me apoiar em todas minhas decisões. Estes, os quais eu amo incondicionalmente e me orgulho em chamar de família;
- Ao meu noivo Lucas Genessis da Silva, por todo amor, paciência, persistência e companheirismo em toda minha jornada acadêmica;
- A minha ‘pequena’ amiga Eng. Agrônoma Jéssica Cursino Presoto por todo companheirismo, colaboração e pela excelente amizade construída nesses anos;
- Ao grande amigo Eng. Agrônomo Dr. Acácio Gonçalves Netto, pela amizade, pela pré-disposição em sempre ajudar nos assuntos científicos, administrativos ou assuntos triviais;
- Ao amigo Eng. Agrônomo MSc. Marcelo Rafael Malardo pela amizade construída, pela prontidão em sempre colaborar para o desenvolvimento desse trabalho;
- A amiga Eng. Agrônoma Verônica Gleice de Oliveira e tantos outros colegas que colaboraram de forma árdua, intelectual e crucial para o desenvolvimento deste trabalho;
- Ao meu orientador Professor Dr. Paulo Roberto de Camargo e Castro pela oportunidade da orientação, pelo incentivo e atenção, pelo vasto conhecimento compartilhado, por estar sempre disposto em me auxiliar, contribuindo de forma singular ao desenvolvimento do meu trabalho;
- Ao meu Coorientador Professor Pedro Jacob Christoffoleti pela oportunidade da co-orientação, pela atenção, dedicação e disponibilidade em compartilhar dos seus conhecimentos que foram fundamentais para o cumprimento dessa etapa tão importante para mim;

- Ao Professor Dr. Saul Jorge Pinto de Carvalho pela amizade, pela paciência, por todo amparo científico compartilhado, pelos conselhos valiosos que iam além da função de Professor, além de ser o principal incentivador e motivador para minha entrada no Mestrado nessa Escola tão renomada;
- Ao Engenheiro Agrônomo Dr. Marcelo Nicolai pela amizade, pela significativa ajuda concedida e por compartilhar do seu vasto conhecimento na área, para enriquecimento do meu trabalho;
- Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Mathias Azania e a Dra. Andrea Aparecida de Pádua Mathias Azania pelo apoio científico prestado;
- Aos demais amigos e familiares que de alguma forma contribuíram para minha chegada e conclusão do Mestrado;
- À AGROCON pela apoio prestado;
- Ao Biólogo Dr. Luís Henrique Franco de Campos, pela colaboração para a realização do experimento;
- Ao IAC – Centro de Cana por disponibilizar seu laboratório para realização das análises enzimáticas;
- À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, pelo embasamento teórico e científico de qualidade inquestionável, por todo amparo, em especial pelo Programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela oportunidade concedida na realização desse trabalho;
- À exímia secretária do programa Maria Solizete Granziol Silva por todo auxílio, dedicação e paciência nas questões administrativas;
- Ao CNPq pelo fomento desse trabalho.

MUITO OBRIGADA!

“O temor do Senhor é a instrução da sabedoria; e adiante da honra vai a humildade”

Provérbios 15:33

BIOGRAFIA

Jeisiane de Fátima Andrade – nascida em São Sebastião do Paraíso, Estado de Minas Gerais, Brasil, aos 14 de Julho de 1994. Graduiu-se em Agronomia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Campus Machado, Minas Gerais (IFSULDEMINAS), no ano de 2018. Desde 2015 atua na área de Manejo Químico e Biologia das Plantas Daninhas. Em 2018, ingressou no curso de Mestrado em Ciências – Fisiologia e Bioquímica de Plantas, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo (ESALQ/USP), com auxílio financeiro do CNPq. Nos últimos anos publicou trabalhos cujo temas foram referentes à Matologia, participou de eventos relacionados à área.

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
Referências.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 A cultura da cana-de-açúcar.....	16
2.2 Plantas daninhas na cultura de cana-de-açúcar.....	17
2.3 Herbicidas de época seca	18
Sulfentrazone	19
Imazapique	20
Clomazone	20
2.4 Físioativadores	21
Físioativador Crop ⁺ ®	22
Físioativador Foltron Plus®	23
Físioativador Seven®	23
2.5 Isoenzima alfa-esterase	23
Referências.....	24
3 FÍSIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR SULFENTRAZONE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	29
RESUMO	29
ABSTRACT.....	30
3.1 INTRODUÇÃO	31
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.3.1 Condições de aplicação em pré-emergência	36
Fitotoxicidade	36
Índice de Clorofilas (SPAD)	37
Altura	39
Perfil enzimático da alfa-esterase	40
Produção de colmos	42
3.3.2 Condição de aplicação em pós-emergência inicial	42
Fitotoxicidade.....	42
Índice de Clorofilas (SPAD).....	44
Altura	45
Perfil enzimático da alfa-esterase	46
Produção de colmos	48
3.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS	49
REFERÊNCIAS.....	49
4 FÍSIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR IMAZAPIQUE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	53
RESUMO	53
ABSTRACT.....	54
4.1 INTRODUÇÃO	55
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	56

4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.3.1	Condição de aplicação em pré-emergência	60
	Fitotoxicidade	60
	Índice de Clorofilas (SPAD)	61
	Altura.....	61
	Perfil enzimático da alfa-esterase.....	62
	Produção de colmos.....	64
4.3.2	Condição de aplicação em pós-emergência inicial.....	65
	Fitotoxicidade	65
	Índice de Clorofilas (SPAD)	66
	Altura.....	67
	Perfil enzimático da alfa-esterase.....	68
	Produção de colmos.....	69
4.4	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	70
	REFERÊNCIAS	71
5	FISIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR CLOMAZONE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	73
	RESUMO	73
	ABSTRACT	74
5.1	INTRODUÇÃO.....	74
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	75
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.3.1	Condição de aplicação em pré-emergência	80
	Fitotoxicidade	80
	Índice de Clorofilas (SPAD)	81
	Altura.....	82
	Perfil enzimático da alfa-esterase.....	83
	Produção de colmos.....	85
5.3.2	Condição de aplicação em pós-emergência inicial.....	86
	Fitotoxicidade	86
	Índice de Clorofilas (SPAD)	87
	Altura.....	88
	Perfil enzimático da alfa-esterase.....	89
	Produção de colmos.....	90
5.4	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	91
	REFERÊNCIAS	92
6	CONCLUSÕES.....	95

RESUMO

Fisioativadores e a fitotoxicidade causada pelos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone na cultura de cana-de-açúcar

Quando a aplicação herbicida não é totalmente seletiva à cultura, esta pode causar estresse sobre as plantas cultivadas, interferindo sobre processos enzimáticos do vegetal. Tem sido bastante estudado o efeito de bioestimulantes, biorreguladores e fisioativadores em plantas para redução de estresse hídrico. Porém, não têm sido encontrados na literatura muitos trabalhos que demonstrem a ação da aplicação de fisioativadores sobre plantas estressadas pela aplicação de herbicidas. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores, possam reduzir a fitotoxicidade nas plantas submetidas a aplicação dos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone na cultura da cana-de-açúcar, na condição de pré ou pós-emergência inicial da cultura. Foram conduzidos seis experimentos semelhantes, porém independentes, sendo três na condição de aplicação em pré-emergência e três na condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Em cada uma das seis áreas foram aplicados os herbicidas sulfentrazone (750 g ha^{-1}), imazapique (133 g ha^{-1}) ou clomazone (960 g ha^{-1}), um em cada área, e na condição de pré ou pós-emergência inicial da cana-de-açúcar. Posteriormente foram aplicados três fisioativadores isolados sobre cada área que recebeu o herbicida, em duas doses, sendo eles: Crop⁺® (1 e 2 L ha^{-1}), Foltron[®] (2 e 4 L ha^{-1}) ou Seven[®] (4 e 8 L ha^{-1}). Observou-se que as variáveis que revelam o fenótipo da planta, como fitotoxicidade, índice de clorofilas (SPAD) e altura, em sua maioria não foram influenciadas pela aplicação dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron[®] e Seven[®]. Os herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone causam fitotoxicidade oculta na cana-de-açúcar, demonstrada pelo perfil isenzimático da α -esterase. Os fisioativadores Crop⁺® e Seven[®] se destacam na recuperação do estresse causado pelos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone. Ocorrem interações negativas dos herbicidas com os fisioativadores. Aos 120 DAA todas as plantas estavam visualmente sadias em relação à aplicação dos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone, nas doses de 750, 133 e 960 g ha^{-1} , respectivamente. Indicando que a variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante aos herbicidas estudados e suas respectivas doses, comumente empregadas à campo. A aplicação dos herbicidas combinados ou não à aplicação sucessiva dos fisioativadores não influenciaram na produção de colmos da cultura.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., Plantas daninhas, Metabolismo, α -esterase

ABSTRACT

Physioactivators and phytotoxicity caused by sulfentrazone, imazapic and clomazone herbicides in sugarcane crop

When a herbicide application is not totally selective for the crop, it can cause stress on the cultivated plants, interfering with the plant's enzymatic processes. The effect of biostimulants, bioregulators and physioactivators on plants to promote protection has been extensively studied. However, no studies were found in the literature that demonstrate an action of applying physioactivators on plants stressed by the application of herbicides. Given the above, the objective of this work was to verify the hypothesis of some researchers, to use phytotoxicity in plants submitted to the application of sulfentrazone, imazapic and clomazone herbicides in sugar cane crop, in the condition of pre or post-period of the crop as a process that could be inhibited by physioactivators. Six similar, but independent experiments were carried out, three in conditions of pre-emergence application and three in post-emergence. Each of the six areas was applied the herbicides sulfentrazone (750 g ha⁻¹), imazapic (133 g ha⁻¹) or clomazone (960 g ha⁻¹), one in each area, and in pre or post-emergence condition of the crop. Subsequently, three physioactivators registered on each area that received herbicide were selected, in two doses: Crop⁺® (1 and 2 L ha⁻¹), Foltron® (2 and 4 L ha⁻¹) or Seven® (4 and 8 L ha⁻¹). It was observed how variables that where or phenomenon of the plant, such as phytotoxicity, green index (SPAD) and height, were mostly not influenced by the application of Crop⁺®, Foltron® and Seven® physioactivators. The herbicides sulfentrazone, imazapic and clomazone cause hidden phytotoxicity in sugarcane, demonstrated by the enzymatic analysis of α -esterase. Crop⁺® and Seven® physioactivators highlight the recovery from stress caused by the herbicides sulfentrazone, imazapic and clomazone. Negative interactions between herbicides and physioactivators occur. At 120 days of application (DAA) all plants were visually healthy in relation to the application of sulfentrazone, imazapic and clomazone herbicides, at doses of 750, 133 and 960 g ha⁻¹, respectively. Indicating that the CV0618 sugarcane variety is tolerant to the herbicides studied and to their doses, commonly used in the field. The application of herbicides combined or not in the successive application of physioactivators does not affect the stalk production of the crop.

Keywords: *Saccharum* spp, Weeds, Metabolism, α -esterase

1 INTRODUÇÃO

A seletividade de herbicidas é uma das principais características observada para escolha da molécula a ser pulverizada na lavoura. Quando um herbicida controla de forma eficaz as plantas daninhas em meio a área cultivada com a cultura de interesse, sem que a plantação sofra injúrias visíveis ou “invisíveis”, ou seja desarranjos metabólicos sem danos aparentes, essa molécula é seletiva à cultura, o que significa dizer que seu uso não implicará na redução da produtividade da lavoura (OLIVEIRA Jr., 2011; VELINI et al., 2000). Vários atributos interferem sobre essa característica, dentre eles as características físico-químicas do herbicida, modo de aplicação, dose utilizada, as particularidades das plantas como estágio fenológico, similaridade às plantas daninhas, posicionamento da semente no solo, ou natureza da propagação vegetativa (OLIVEIRA Jr., 2011).

Quando uma aplicação herbicida não é seletiva à cultura, esta pode causar estresse sobre as plantas cultivadas, interferindo sobre processos enzimáticos, desencadeando reações oxidativas que geram radicais livres na planta, o que pode induzir a ativação de genes, e por conseguinte, o aparecimento de diversas formas moleculares (GOTTLIEB, 1982). Tem sido bastante estudado o efeito de bioestimulantes, biorreguladores e fisioativadores em plantas para redução de estresse hídrico. Porém, não têm sido encontrados na literatura muitos trabalhos que demonstrem a ação da aplicação de fisioativadores sobre plantas estressadas por herbicidas.

Os bioestimulantes combinam em sua formulação um complexo de compostos como aminoácidos, polissacarídeos, ácidos graxos, esteroides, poliaminas, macro e micronutrientes, além de compostos orgânicos advindos de extratos de algas, cujas atribuições envolvem funções nutricionais e enzimáticas (MACKINNON et al., 2010; SHARMA et al., 2014).

Os biorreguladores são compostos formados pelas moléculas isoladas ou combinadas, pertencentes aos grupos das auxinas, giberelinas, citocininas, retardadores, inibidores e etileno, que, quando aplicados nas plantas, sob baixas concentrações, são capazes de interferir sobre processos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos da planta de forma a inibi-los, modificá-los ou até promovê-los, proporcionando respostas positivas como melhorar em número ou qualidade a produção de cultivos agrícolas (CASTRO et al., 2016).

Os fisioativadores podem ser definidos como substâncias naturais ou sintéticas, tais como macro e micronutrientes, minerais, aminoácidos, extratos vegetais, carboidratos, glicina-betaína e bioestimulantes, combinados ou não com biorreguladores, direcionados para uso em diversas espécies vegetais de interesse agrônomo, cuja função é proporcionar vigor ao sistema fisiológico da planta, de forma a alcançar o equilíbrio na disponibilidade dos nutrientes

essenciais para o metabolismo vegetal, fazendo com que o sistema fisiológico exerça sua função vital, sem sofrer prejuízos quando submetidas a estresses bióticos e abióticos, como temperatura, déficit hídrico, ataque de patógenos ou até mesmo estresses causadas por herbicidas.

Os aminoácidos e os extratos de algas são compostos relevantes para o desenvolvimento vegetal, pois seus componentes estão relacionados aos processos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos das plantas, atuando como precursores de hormônios endógenos, em reações enzimáticas, na síntese de proteínas, na disponibilização dos promotores de crescimento, além de realizar efeito complexante com minerais, bem como configurar maior tolerância às plantas ao estresse biótico e abiótico, o que os caracteriza como antiestressantes (CASTRO, 2006; CASTRO ; CARVALHO, 2014).

Segundo alguns autores, há indícios que os hormônios citocininas e giberelinas (GAs) estejam envolvidos nos mecanismos de defesa da planta à estresses abióticos (ALBACETE et al., 2008; HA et al., 2012).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores, em função dos seus componentes, possam reduzir a fitotoxicidade nas plantas submetidas à aplicação dos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone na cultura da cana-de-açúcar, nos estádios fenológicos de pré ou pós-emergência inicial da cana-de-açúcar.

Referências

- ALBACETE, A.; GHANEM, M. E.; MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C.; ACOSTA, M.; SÁNCHEZ-BRAVO, J.; MARTÍNEZ, V.; LUTTS, S.; DODD, I. C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. **Journal of Experimental Botany**, v.59, n.15, p.4119-4131, 2008.
- CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. USP/ESALQ, Piracicaba, DIBD, 2006, n.32, 46p. (Série Produtor Rural).
- CASTRO, P. R. C.; ARAÚJO, D. K; ANGELINI, B. G.; MENDES, A. C. C. M. **Biorreguladores na agricultura**. USP/ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2016, n.esp., 154p. (Série Produtor Rural).
- CASTRO, P. R. C; CARVALHO, M. E. A. **Aminoácidos e suas aplicações na agricultura**. USP/ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2014, n.57, 58 p. (Série Produtor Rural).
- GOTTLIEB, L. D. Conservation and duplications of isozymes in plants. **Science**, v.216, n.4544, p.373-380, 1982.

HA, S.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L. S. Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. **Trends Plant Science**, v.17, n.3, p.172-179, 2012.

MACKINNON, S. L.; HILTZ, D.; UGARTE, R.; CRAFT, C. A. Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. **Journal of Applied Phycology**, v.22, n.4, p.489-494, 2010.

MAGOME, H.; YAMAGUCHI, S.; HANADA, A.; KAMIYA, Y.; ODA, K. Dwarf and delayed flowering 1, a novel *Arabidopsis* mutant deficient in gibberellin biosynthesis because of overexpression of a putative AP2 transcription factor. **Plant Journal**, v.37, n.5, p.720-729, 2004.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Mecanismo de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.) **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Ominipax, 2011. p.141-192.

SHARMA, H. S. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v.26, n.1, p. 465–490, 2014.

VELINI, E. D.; MARTINS, D.; MANOEL, L. A.; MATSUOKA, S.; TRAVAIN, J. C.; CARVALHO, J. C. Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryne, aplicada em pré ou pós-emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana planta). **Planta Daninha**, v.18, n.1, p.123-134, 2000.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura de cana-de-açúcar

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, representando grande importância para o agronegócio brasileiro, é considerada uma das grandes alternativas para o setor de biocombustíveis devido ao enorme potencial na produção de etanol, açúcar e seus respectivos subprodutos. Além da produção de etanol e açúcar, as unidades de produção têm buscado operar com maior eficiência, com geração de energia elétrica, auxiliando na redução dos custos e contribuindo para a sustentabilidade da atividade. O aumento da demanda mundial por etanol, oriundo de fontes renováveis, aliado às grandes áreas cultiváveis e condições edafoclimáticas favoráveis à cana-de-açúcar, tornam o Brasil um país promissor para a exportação dessa commodity. A área total de cana-de-açúcar a ser colhida na safra 2019/20 é estimada em 8.481,2 hectares, representando uma redução de 1,3% em relação ao colhido na última safra. Enquanto a produção de cana-de-açúcar, estimada é de 642,7 milhões de toneladas, com acréscimo de 3,6% em relação à safra anterior. A estimativa de produção a partir da cana-de-açúcar é de 33,8 bilhões de litros, com acréscimo de 4,6% em relação à safra passada. E estima-se que a produção alcançará 30,1 milhões de toneladas, crescimento de 3,8% em relação ao produzido na safra 2019/20 (CONAB, 2020).

A cana-de-açúcar é uma planta da família das Poaceae, semi-perene, adaptada ao clima tropical e subtropical, com metabolismo fisiológico C4, o que caracteriza um elevado potencial fotossintético, pois concentra CO₂ nas células mesofílicas, que após incorporado é transportado e descarboxilado nas células da bainha vascular, na forma de malato (molécula de quatro carbonos) (VIDAL; TREZZI, 2011; ALLEN; JONES; JONES, 1985). Mesmo em condições de elevada concentração de CO₂, não ocorre saturação desta molécula, como ocorre nas plantas de metabolismo C3, o que a caracteriza como uma planta pertencente ao grupo de vegetais com maior eficiência fotossintética e uso da água, conferindo a ela a principal responsável pelo açúcar consumido pelo homem, cerca de 75% (TAIZ; ZEIGER, 2009; CASAGRANDE; VASCONCELOS, 2008; SOUZA et al., 2008).

Especula-se que a via fotossintética C4, evoluiu da C3, através da pressão de seleção para ambientes com altas temperaturas, secos e salinos, baseado no metabolismo de carbono e eficiência no uso da água (CHRISTIN et al., 2011). As plantas C3 perdem cerca de 6 vezes mais moléculas de H₂O por molécula de CO₂ fixada, comparadas às plantas C4 (600:100 moléculas) (DIETRICH; SANDERS; HEDRICH, 2001).

As plantas C4 possuem maior condutância mesofilica, o que permite uma menor condutância estomática e consequentemente uma maior eficiência no uso da água, o que permite a maior adaptabilidade dessas plantas ao clima árido (VARANASI; VARA PRASAD; JUGULAM, 2016).

Em função da alta eficiência fotossintética da cana, esta requer condições favoráveis para completar seu ciclo, com isso as condições climáticas interferem diretamente sobre a melhor época de plantio em cada região do país (RICAUD; COCHRAN, 1980). Somados aos fatores escalonamento de colheita e planejamento estratégico, no centro-sul do país determinaram-se prioritariamente em duas épocas do ano, de setembro a dezembro, estabelecendo a “cana de ano”, que significa dizer que sob as condições desta época de cultivo, um ano após o plantio a cultura poderá ser colhida. Quando plantada de janeiro a março, meses onde as condições climáticas são menos favoráveis, demandará cerca de 18 meses para atingir o ponto de colheita, originando então a “cana de ano e meio” (BARBIERI; VILLA NOVA, 1977; BASSINELLO; MATSUOKA, 1985). Entretanto, em ambos sistemas, a programação da colheita ocorre entre os meses de abril a novembro do ano (SILVA, 1986).

No período entre a implantação do canavial até a colheita, é fundamental realizar o controle eficiente de plantas daninhas na área, para que essas não influam negativamente sobre a produtividade, visto que podem reduzir em até 85% o peso dos colmos, fatores como época de plantio, regime hídrico e método de colheita, interferem diretamente sobre o manejo de plantas daninhas a ser realizado (BLANCO; BARBOSA; OLIVEIRA, 1982; VICTORIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004).

2.2 Plantas daninhas na cultura de cana-de-açúcar

As plantas daninhas estão entre os principais elementos bióticos capazes de interferir negativamente sobre o rendimento final da cultura da cana-de-açúcar, em função da aptidão que estas possuem em competir por água, luz, nutrientes, espaço, liberar substâncias alelopáticas e então inibir a brotação da cana-de-açúcar; além disso servir de hospedeiras para pragas e doenças inerentes à cultura, podendo interferir negativamente no rendimento da colheita mecanizada. Quando uma ou mais dessas condições limitantes interagem com o canavial, podem levar à redução de produtividade em até 85% na quantidade e qualidade da cana colhida, e ainda reduzir o número de cortes economicamente viáveis (PITELLI, 1985; LORENZI, 1988; VICTÓRIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004). Silva et al. (2009), observaram diminuição de rendimentos na ordem de 46% em cana soca, quando não controlada predominantemente *Ipomoea hederifolia* em cana soca. Portanto, é indispensável o manejo para o controle de

plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar combinando técnicas preventivas, culturais, biológicas, mecânicas e químicas. Entretanto, em função da diversidade de espécies de plantas daninhas na cultura da cana, em sua maioria de ciclo curto, o controle químico por herbicidas é o mais adotado, o qual permite um amplo controle das espécies com um investimento econômico satisfatório (PROCÓPIO et al., 2003).

Diversas são as plantas daninhas que interferem na cultura da cana-de-açúcar. Com ciclo de vida anual se destacam a *Brachiaria plantaginea* (capim-marmelada), *Digitaria horizontalis* (capim-colchão), *Cenchrus echinatus* (capim-carrapicho), *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha), *Ipomoea* spp. (corda-de-viola), *Amaranthus* spp. (caruru), *Portulaca oleraceae* (beldroega), *Bidens pilosa* (picão-preto), *Acanthospermum hispidum* (carrapicho-de-carneiro), *Euphorbia heterophylla* (leiteiro), *Emilia sinchifolia* (falsa-serralha), *Commelina* spp. (trapoeraba), *Sonchus oleraceus* (serralha), *Ageratum conyzoides* (mentrasto), *Richardia brasiliensis* (poaia-branca), *Croton lobatos* (croton), entre outras. E dentre as principais espécies perenes estão: *Cynodon dactylon* (grama-seda), *Panicum maximum* (capim-colonião), *Brachiaria decumbens* (capim-braquiária), *Sorghum halepense* (capim-massambará), *Cyperus rotundus* (tiririca) e *Sida* spp. (ganxuma) (VICTÓRIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004).

Além dessas, algumas outras plantas daninhas têm se destacado nos últimos anos, pois foram muito usadas como adubo verde e adaptaram-se ao sistema, se tornando plantas daninhas de difícil controle, visto que suas sementes são grandes, podendo ser facilmente transportadas pelas colheitadeiras ou mesmo emergirem sob a palhada deixada na área após a colheita da cana, sendo elas a *Stizolobium aterrimum* (mucuna preta), *Ricinus comunis* (mamona), *Luffa aegyptiaca* (bucha), *Neonotonia wightii* (soja perene) e *Momordica charantia* (melão-de-São-Caetano), segundo Squassoni (2012).

2.3 Herbicidas de época seca

Em função do planejamento e logística das operações agrícolas, a colheita da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo ocorre prioritariamente no inverno, o que faz da aplicação de herbicidas em época seca uma boa opção para o controle das plantas daninhas (AZANIA et al., 2006).

Para o controle satisfatório das plantas daninhas em época de seca, algumas características intrínsecas aos herbicidas, como alta solubilidade em água, baixa sorção aos colóides do solo, pouca ou nenhuma volatilidade, ausência de sensibilidade à fotodecomposição,

e também serem degradados por via microbiana, devem ser consideradas (MONQUERO et al., 2008; CHRISTOFFOLETI et al., 2009).

Na cana-de-açúcar, por se tratar de uma planta semi-perene, com grande espaçamento entrelinhas, requer um longo período para o estabelecimento e fechamento do dossel e a consequente supressão das plantas daninhas pela cultura, com isso, para o controle efetivo das plantas daninhas se faz necessário o uso de herbicidas que possuam ação residual prolongada no solo (VELINI; NEGRISOLI, 2000; CARVALHO et al., 2005).

Em geral, prioritariamente para a cana-de-açúcar, os herbicidas são usados em condições de pré e pós-emergência inicial das plantas daninhas, os quais são aplicados no solo após o plantio da cultura, porém antes ou após a emergência das plantas daninhas, respectivamente. Além disso, pode também ser empregado o controle em pré-plantio da cultura, o que acontece após a dessecação da área, antes do plantio e da aplicação em pré-emergência (VICTÓRIA FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004).

Dentre os herbicidas registrados para a cultura da cana-de-açúcar em época seca e com longo residual, estão as moléculas amicarbazone, imazapique, hexazinona, isoxaflutole, sulfentrazone, tebutiuron e a mistura comercial clomazone + hexazinona (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018; PROCÓPIO et al., 2008). Essas moléculas possuem características ideais ao período de seca como alta à extremamente alta solubilidade, pouco ou não voláteis, fraca ou moderada adsorção no solo e hidrofílicas ou medianamente lipossolúveis (VIDAL, 2002; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Sulfentrazone

O sulfentrazone (2', 4'-dicloro-5' - (4-difluorometil-4,5-di-hidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il) metanossulfonânida), é um herbicida pré-emergente, pertencente ao grupo químico das triazolinonas, registrado para o controle de plantas daninhas monocotiledôneas, dicotiledôneas e ciperáceas, nas culturas de cana-de-açúcar, café, soja, fumo e eucalipto. É um herbicida indicado para épocas secas em função das seguintes características, solubilidade em água (780 mg L⁻¹), pressão de vapor de 1x10⁻⁷ mm Hg a 25°C, moderada mobilidade, baixa adsorção (K_{oc} 43), pK_a 6,56 e K_{ow} 9,8 (pH 7,0), com meia vida no solo em média de 180 dias, e sua degradação ocorre via microrganismos (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

A molécula herbicida sulfentrazone, atua inibindo a enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), evitando a conversão de protoporfirinogênio IX em protoporfirina IX, com isso este se acumula no cloroplasto, e quando a organela não comporta a quantidade do protoporfirinogênio IX acumulado, há extravasamento celular para o citosol, no qual o

protoporfirinogênio IX é convertido em protoporfirina IX, que na presença de luz gera oxigênio reativo e a membrana celular é rompida, acarretando a morte da planta (BARBERIS; TRINDADE; VELINI, 2009).

Esse herbicida é extensivamente utilizado na cana-de-açúcar para controle de gramíneas e folhas largas e no controle de plantas resistentes à acetolactato sintase – ALS, na cultura da soja (HULTING et al., 2001).

Imazapique

O imazapique (ácido (RS) -2- (4-isopropil-4-metil-5-oxo-2-imidazolin-2-il) -5-metilnicotínico) é um herbicida sistêmico, pertencente à classe das imidazolinonas, indicado para aplicação em condições de pré e pós-emergência inicial, registrado para as culturas de amendoim e cana-de-açúcar. Esse herbicida é uma ótima alternativa para época seca, pois possui alta solubilidade em água (2200 mg L⁻¹), *kow* 0,01 (pH 7,0), pressão de vapor a 25°C (1,3 x 10⁻⁵ mm Hg), entretanto em função da sua alta afinidade pela água, não há problemas com volatilização. Sua meia-vida em solos brasileiros é, em média, de 30 dias, variando a partir das condições edafoclimáticas locais, sendo a atividade microbiológica seu principal mecanismo de degradação (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

O imazapique atua na inibição da enzima acetolactato sintase (ALS) ou também conhecida como hidroxiaacético sintetase (AHAS), bloqueando a síntese de três aminoácidos alifáticos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina, com isso há interrupção da síntese proteica, por consequência a biossíntese do DNA e crescimento celular serão cessados e a planta morre. Em função da sua eficácia no controle de diversas espécies de plantas daninhas à baixas doses, seletividade a várias culturas e baixa toxicidade aos mamíferos, esses herbicidas têm se destacado nas escolhas do agricultor (LEITE et al., 1998; MONQUERO; CHRISTOFFOLETI; DIAS, 2000; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Devido às características físico-químicas dos herbicidas classificados nesse grupo, tais como os coeficientes de dissociação em meio ácido (pKa) e de partição octanol: água (Kow), as quais regulam a dinâmica desses produtos no solo, sua persistência no solo é prolongada (VENCILL, 2002; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Clomazone

O clomazone (2 - [(2-clorofenil) metil]-4,4-dimetil-3-isoxazolidinona), pertence ao grupo químico das isoxazolidinonas, é um herbicida pré-emergente, registrado para controle de

mono e dicotiledôneas nas culturas de cana-de-açúcar, algodão, arroz de sequeiro e arroz irrigado. Possui solubilidade em água de 1100 mg L^{-1} e pressão de vapor de $1,4 \times 10^{-4} \text{ mm Hg}$ a 25°C , pKa a zero e Kow a 350, Koc a 300 mL/L , sendo a degradação microbiana a principal, entretanto em condições anaeróbicas, prevalece a degradação química (oxiredução), características inerentes que faz deste herbicida uma boa opção para o uso em época seca da cultura de cana-de-açúcar (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018; CARVALHO, 2013). A meia vida do clomazone no solo, em condições aeróbicas está entre 90 a 276 dias, diminuindo em condições anaeróbicas, na qual a meia-vida é na ordem de 60 dias (LEWIS et al.; 2016).

O controle de plantas daninhas pelo clomazone ocorre através da inibição na enzima 1-desoxi-xilulose-5-fosfatase sintase (DOXP), mediada pela via MEP, a formação de isoprenoides ligados a cloroplastos, incluindo pigmentos fotossintéticos (fitol da cadeia lateral da clorofila), carotenoides, transportadores de elétrons (plastoquinona), tocoferol e hormônios (giberelinas), segundo Scott et al., 1994.

Na fotossíntese, quando ocorre a excitação da clorofila pela luz, vários estados energéticos são alcançados. A clorofila no estado singlete interage com o oxigênio molecular, transferindo sua energia para o último orbital, produzindo oxigênio singlete, o qual pode oxidar moléculas que estão em torno de si. Entretanto, para não danificar a maquinaria fotossintética os carotenoides coloridos possuem a importante responsabilidade de absorver a energia do oxigênio singlete e a dissipar em forma de calor. Porém, quando há diminuição na quantidade de carotenoides coloridos pela ação de herbicidas inibidores da DOXP sintase, a dissipação de calor para proteção da clorofila é prejudicada, a clorofila fica superexcitada, e sofre foto-oxidação, um processo irreversível que tem como produto os radicais livres como superóxido (O_2^-), esses por sua vez interagem com a clorofila e a destroem (BÖGER, 1996; TAIZ; ZEIGER, 2004). Sem clorofila as plantas ficam brancas, incapazes de captar e converter a energia luminosa em energia química pelo processo da fotossíntese e então morrem.

2.4 Físioativadores

Os físioativadores são substâncias naturais ou sintéticas, contendo macro e micronutrientes, minerais, aminoácidos, extratos vegetais, carboidratos, glicina-betaína e bioestimulantes, combinados ou não com biorreguladores, direcionados para uso em diversas espécies vegetais de interesse agrônômico, cuja função é proporcionar robustez ao sistema fisiológico da planta, de forma a alcançar o equilíbrio na disponibilidade dos nutrientes essenciais para o metabolismo vegetal, fazendo com que o sistema exerça sua função vital sem

sofrer prejuízos quando submetido a estresses bióticos e abióticos, como temperatura, déficit hídrico, ataque de patógenos ou até mesmo estresses causadas por herbicidas.

Os macro e micronutrientes são fundamentais aos processos vitais da cana-de-açúcar, estando associados à produtividade, e aos processos enzimáticos do vegetal, respectivamente. Por vezes, a adubação de base necessita de complementariedade, ou um ajuste fino para induzir a planta a alcançar o potencial de máximo desempenho do sistema fisiológico, e esta pode ser suprida via adubação foliar, pois possibilita ajustar com equilíbrio a fertilização do solo, bem como suprir de forma rápida a carência de nutrientes em casos de estresses (VITTI; MAZZA, 2002; FILGUEIRA, 2003).

Outro componente desses fisioativadores são os aminoácidos, estes quando presentes em altas concentrações na planta, podem atuar diretamente sobre a desintoxicação das EROs (Espécies Reativas de Oxigênio). Por exemplo, a prolina possui a capacidade de estabilizar proteínas e proteger as membranas contra os efeitos danosos advindos da formação das EROS (SHARMA; DUBEY, 2005). A glicina betaína realiza funções protetoras de grande importância aos vegetais, dentre elas preservar a eficiência dos processos fotoquímicos da fotossíntese, através da proteção das membranas dos tilacoides (ASHRAF; FOOLAD, 2007).

Com o avanço no emprego tecnológico ao setor sucroalcooleiro, várias técnicas têm sido empregadas em busca de ganhos quantitativos e qualitativos na produção de cana-de-açúcar. Dentre elas está o emprego de biorreguladores, os quais podem interferir positivamente sobre os processos fisiológicos e bioquímicos da planta, propiciando incremento no vigor, teor de sacarose, na precocidade de maturação e aumento na produtividade (MARTINS; CASTRO, 1999; CAPUTO et al., 2007).

Com base no potencial sobre as culturas, os estudos com essas moléculas em combinações, como fisioativadores têm sido ampliadas, mas ainda pouco exploradas cientificamente.

Fisioativador Crop⁺®

É registrado como fertilizante foliar organomineral classe A, composto por C, N, S, B, Co, Fe, Cu, Mn, Mo, Zn, nas concentrações de 78; 13; 40,3; 1,17; 0,78; 16,9; 13; 14,3; 0,52 e 29,9 g/L, respectivamente, além de extrato de algas e aminoácidos. É recomendado para uso em culturas como frutíferas, hortaliças, algodão, café, cana-de-açúcar, soja, milho, dentre outras. A dose recomendada é de 250 mL a 2 L ha⁻¹.

Fisioativador Foltron Plus®

É registrado como fertilizante foliar mineral misto, composto por N, P, K, C, nas concentrações de 62,5; 242,0; 62,5 e 9 g/L, respectivamente. Além de extratos vegetais, ácidos húmicos, folscisteína e giberelina. É recomendado para uso em cultivos em geral, bem como hortaliças, citros, soja, milho, sorgo, algodão. A dose recomendada em bula varia de 500 mL a 2 L ha⁻¹.

Fisioativador Seven®

É registrado como fertilizante foliar organomineral, composto por N, P, K, B e Mo, nas concentrações de 192; 24; 48; 0,24 e 0,12 g/L, respectivamente. É recomendado para uso em cana-de-açúcar, dentre outras culturas. A dose recomendada para a cana é de 4 a 5 L ha⁻¹.

2.5 Isoenzima α -esterase

Etapas naturais como avanço do estágio fenológico, desenvolvimento de órgãos e tecidos com atividades específicas, bem como as variações e estímulos ambientais sofridas pelas plantas, influem diretamente sobre os processos responsivos à adaptação e sobrevivência, estímulos esses que controlam a expressão dos genes, para produção de proteínas reparadoras, denominados isoenzimas (RAMÍREZ; CALDERON; ROCCA, 1991).

Essas enzimas, por vezes atuam no sistema de defesa da planta, dentre elas estão a superóxido dismutase (SOD); a catalase (CAT); a ascorbato peroxidase (APX); a glutational peroxidase (GPX); e a guaiacol peroxidase (GOPX) (HERNÁNDEZ et al., 2001; CAVALCANTI et al., 2004). Além dessas, a planta possui uma enzima denominada alfa-esterase (α -esterase), a qual é muito importante para o alívio ao estresse oxidativo das plantas, causado por fatores abióticos (LOPES, 2003; CACCIATORE; GUERRERO; CHOCÓ, 2013)

As esterases, pertencem à extensa família das carboxilesterases, que compreende também as proteases, lipases, peroxidases e hidrolases, dentre as funções das esterases estão a hidrólise de ésteres, peptídeos, amidas e haletos, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (MACKNESS; WALKER, 1983; LENFANT et al., 2004; SANTOS; MENEZES; VILELLA, 2005). A ação das enzimas α -esterase e peroxidase é imprescindível para manter ou diminuir os níveis de radicais O₂ e H₂O₂ nas células, ao capturar íons metálicos atenuando a formação do radical OH, substância tóxica que causa destruição dos lipídios da membrana, permitindo o extravasamento do conteúdo celular, e morte da planta (MITTLER, 2002).

As isoenzimas α -esterase e beta-esterase (β -esterase) são consideradas importantes na fase I da metabolização de xenobióticos, na qual ocorrem processos metabólicos como oxidação, redução e hidrólise de moléculas. Pois atuam de forma rápida na captura de substâncias exógenas, como os herbicidas por exemplo, entretanto sua metabolização é lenta (MANNERVIK; DANIELSON, 1988; CACCIATORE; GUERRERO; CHOCÓ, 2013).

Para análise de isoenzimas como α -esterase emprega-se a técnica de eletroforese, e com o intuito de obter alta resolução das bandas formadas é usado o gel de poliacrilamida. Nesse sistema denominado PAGE (gel de poliacrilamida) a visualização da isoenzima é salientada quando os substratos ésteres de naftil e corantes histoquímicos são utilizados, após ocorrer a hidrólise do α -naftil acetato com corante Fast Blue RR Salt, formam a coloração preta das bandas (VALENTINI, 2007).

Logo, como as isoenzimas estão diretamente relacionadas a mudanças metabólicas e mecanismos de defesa vegetal, tais características as viabilizam serem usadas para estudos em estresse abiótico e biótico nas plantas (TORGGLER; CONTEL; TORGGLER, 1995).

Referências

ALEN, L. H.; JONES, P. H.; JONES, J. W. Rising atmospheric CO₂ and evapotranspiration. In: **Advances in evapotranspiration**. ASAE, St. Joseph, 1985. p. 13-27.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n.2, p. 206-216, 2007.

AZANIA, C. A. M.; ROLIM, J. C.; CASAGRANDE, A. A.; LAVORENTI, N. A.; AZANIA, A. A. P. M. Seletividade de herbicidas. III - Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época da estiagem. **Planta Daninha**, v.24, n.3, p.489-495, 2006.

BARBERIS, L. R. M.; TRINDADE, M. L. B.; VELINI, E. D. Seleção de genótipos de cana-de-açúcar para acúmulo de protoporfirina IV com uso de herbicidas inibidores da PROTOX. **Planta Daninha**, v.27, n.4, p. 809-814, 2009.

BARBIERI, V.; VILLANOVA, N. A. **Climatologia e a cana-de-açúcar**. Araras: PLANALSUCAR, Coordenadoria Regional Sul – COSUL, Climatologia, Araras, 1977. p.1-22.

BASSINELLO, A. I.; MATSUOKA, S. Manejo de variedades de cana-de-açúcar para condições ecológicas da região Centro-Sul. **IAA – Planalsucar**, Araras, 1985. 75 p.

BLANCO, H. G.; BARBOSA, J. C.; OLIVEIRA, D. A. Competição de uma comunidade natural de mato em cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), de ano e meio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 14.; CONGRESSO DE LA ASOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 6., 1982, Campinas. **Resumos**. Campinas: 1982. p.30-31.

BÖGER, P. Mode of action of herbicides affecting carotenogenesis. **Journal Pesticide Science**, v.21, n.4, p.473-478, 1996.

CACCIATORE, L. C.; GUERRERO, N. V.; COCHÓN, A. C. Cholinesterase and carboxylesterase inhibition in *Planorbarius corneus* exposed to binary mixtures of azinphos-methyl and chlorpyrifos. **Aquatic Toxicology**, v.128-129, n.1, p.124-134, 2013.

CAPUTO, M. M.; SILVA, M. A.; BEAUCLAIR, E. G. F.; GAVA, G. J. C. Acúmulo de sacarose, produtividade e florescimento de cana-de-açúcar sob reguladores vegetais. **Interciencia**, Caracas, v.32, n.12, p.834-840, 2007.

CARVALHO, L. B. **Herbicidas**. Edição do autor, 2013, Lages, 62p.

CARVALHO, S. J. P.; LOMBARDI, B. P.; NICOLAI, M.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; MEDEIROS, D. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, v.23, n.3, p.535-542, 2005.

CASAGRANDE, A. A.; VASCONCELOS, A. C. M. Fisiologia da parte aérea. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, G. A. **Cana-de-açúcar**. 1.ed. Instituto Agronômico, Campinas, 2008, p.45-56.

CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, J. T. A.; MARTINS-MIRANDA, A. S.; VIEGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea plants. **News Phytologist**, v.163, n.3, p.563-571, 2004.

CHRISTIN, P. A.; SAGE, T. L.; EDWARDS, E. J.; OGBURN, R. M.; KHOSHRAVESH, R.; SAGE, R. F. Complex evolutionary transitions and the significance of C3-C4 intermediate forms of photosynthesis in Molluginaceae. **International Journal of Organic Evolution**, v.65, n.3, p.643-660, 2011.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; DAMIN, V.; CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**. CP 2, Piracicaba, 2009, 72p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-açúcar**. Safra 2019/20. Terceiro Levantamento, v.6, n.3, p.1-58, 2020.

DIETRICH, P.; SANDERS, D.; HEDRICH, R. The role of ion channels in light- dependent stomatal opening. **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.363, p.1959-1967, 2001.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. UFV, Viçosa, 2003, 412 p.

HERNÁNDEZ, J. A.; FERRER, M. A.; JIMÉNEZ, A.; BARCELÓ, A. R.; SEVILLA, F. Antioxidant systems and O_2^- / H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiology**, v.127, n.3, p.827-831, 2001.

HULTING, A. G.; MAX, L. M.; NELSON, R. L.; SIMMONS, F. W. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivar tolerance to sulfentrazone. **Crop Protection**, v.20, n.8, p.679-683, 2001.

LEITE, C. R. F.; ALMEIDA, J. C. V.; PRETE, C. E. **Aspectos fisiológicos, bioquímicos e agrônômicos dos herbicidas inibidores da enzima ALS (AHAS)**. Edição do autor, Londrina, 1998, 68 p.

LENFANT, N.; HOTELIER, T.; VELLUET, E.; BOURNE, Y.; MARCHOT, P.; CHATONNET, A. ESTHER, the database of the alpha/beta-hydrolase fold superfamily of proteins. **Nucleic Acids Research**, London, v.32, n.1, p. D145-147, 2004.

LEWIS, K. A.; TZILIVAKIS, J.; WARNER, D.; GREEN, A. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, v.22, n.4, p.1050-1064, 2016.

LOPES, R. C.; CASALI, V. W. D.; BARBOSA, L. C. A.; CECON, P. R. Caracterização isoenzimática de oito acessos de erva-de-bicho. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p.433-437, 2003.

LORENZI, H. Plantas daninhas e seu controle na cultura da cana-de-açúcar. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 4., 1988, Piracicaba. **Anais...** São Paulo: COPERSUCAR, 1988. p.281-301.

MACKNESS, M. I.; WALKER, C. L. Partial purification and properties of sheep serum 'A'-esterases. **Biochemical Pharmacology**. v. 32, n. 15, p.2291-2296, 1983.

MANNERNVIK, B.; DANIELSON, U. H. Glutathione transferases: structure and catalytic activity. **Critical Reviews in Biochemistry**, v.23, n.3, p.283-337, 1988.

MARTINS, M. B. G.; CASTRO, P. R. C. Efeitos de giberelina e ethephon na anatomia de plantas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.10, p.1855-1863, 1999.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v.7, n.9, p.405-410, 2002.

MONQUERO, P. A.; BINHA, D. P.; SILVA, A. C.; SILVA, P. V.; AMARAL, L. R. Eficiência de herbicidas pré-emergentes após períodos de seca. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.185-193, 2008.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; DIAS, C. T. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, v.18, n.3, p.419-425, 2000.

PITELLI, R. A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, v.11, n.129, p.16-27, 1985.

PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; VARGAS, L. Manejo e controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Ed) **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. 2.ed. EMBRAPA Trigo, Passo Fundo, 2008. 780 p.

PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; VARGAS, L.; FERREIRA, F. A. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana de açúcar**. UFV, Viçosa, 2003. 150p.

RAMÍREZ, H.; CALDERON, A.; ROCCA, W. Técnicas moleculares para evaluar y mejorar el germoplasma vegetal. In: ROCCA, W.; MROGINSKI, L. (Ed.) **Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y plicaciones**. CIAT, Cali, 1991, p.825-856.

RICAUD, R. B.; COCHRAN, M. Methods of planting sugarcane for sugar and biomass production in Louisiana. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIEY OF SUGAR CANE TECHNOLOGYSTS. 17, Lousiana, 1980, **Proccedings**. ISSCT, Lousiana, 1980, p.118-120.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7^a ed, Londrina, 764 p, 2018.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.104-114, 2005.

SCOTT, J. E.; WESTON, L. A.; CHAPPELL, J.; HANLEY, K. Effects of clomazone on IPP isomerase and prenyl transferase activities in cell suspension cultures and cotyledons of solanaceous species. **Weed Science**, v.42, n.4, p.509-516,1994.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v.162, n.8, p.854-862, 2005.

SILVA, G. L. S. P. Efeitos das condições do tempo sobre a produtividade da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**. v.5, n.1, p.19-24, 1986.

SILVA, I. A. B.; KUVA, M. A.; ALVES, P. L. C. A.; SALGADO, T. P. Interferência de uma comunidade de plantas daninhas com predominância de *Ipomoea hederifolia* na cana-soca. **Planta Daninha**, v.27, n.2, p.265-272, 2009.

SOUZA, A. P.; GASPAR, M.; SILVA, E. A.; ULIAN, E. C.; WACLAWOSKY, A. J.; NISHIYAMA JR, M. Y.; SANTOS, R.V.; TEIXEIRA, M. M.; SOUZA, G. M.; BUCKERIDGE, M. S. Elevated CO₂ increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane. **Plant Cell and Environment**. v.31, n.8, p.1116-1127, 2008.

SQUASSONI, V. L. **Monitoramento da comunidade de plantas daninhas na cana-de - açúcar e da eficiência de controle químico por meio de técnicas de análise multivariada de dados**. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal/SP, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 719p.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas – variabilidade genética em plantas**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1995. 175p.

VALENTINI, L. C. **Caracterização genética e funcional de α - e β - esterases em cultivares de soja (*Glycine max* l. merrill) no estado do Paraná**. 2007. 47 f. Dissertação (Mestrado) -

Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá, 2007.

VARANASI, A.; VARA PRASAD, P.; JUGULAM, M. Impact of climate change factors on weeds and herbicide efficacy. **Advances in Agronomy**, v.135, s/n, p.107-146, 2016.

VELINI, E. D; NEGRISOLI, E. D. Controle de plantas daninhas em cana crua. In: 22 Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, **Anais**, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, Foz do Iguaçu, 2000, p.148-164.

VENCILL, W. K. **Herbicide handbook**. 8.ed. Weed Science Society of America, Lawrence, 2002, 493 p.

VICTÓRIA FILHO, R.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo de plantas daninhas e produtividade da cana. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n.1, p. 32-37, 2004.

VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M. Origem da cultura e sua importância. In: **Teoria e prática do manejo de infestantes na cultura da cana-de-açúcar no Brasil**. VIDAL, R. A., Porto Alegre, 2011. 136p.

VIDAL, R. **Ação dos herbicidas**. Edição do Autor, Porto Alegre, 2002, 89 p.

VITTI, G. C.; MAZZA, J. A. **Planejamento, estratégias de manejo e nutrição da cultura de cana-de-açúcar**. POTAFOS, Piracicaba, n.97, 2002. 16p. (Informações Agronômicas).

3 FISIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR SULFENTRAZONE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

O herbicida sulfentrazone é amplamente utilizado na cultura da cana-de-açúcar na época de seca. Entretanto, o uso desse herbicida pode acarretar injúrias indesejadas na cultura. Poucos são os estudos realizados para reversão de fitotoxicidade nas culturas, principalmente para a cana-de-açúcar. O uso de compostos para redução de estresses causados por fatores abióticos como o estresse hídrico têm sido amplamente estudados, o que ainda não acontece para o estresse oriundo da aplicação de herbicidas. Nesse cenário, alguns produtos disponíveis no mercado, os fisioativadores, possuem potencial de estudo acerca desse tema, pois detêm em sua formulação componentes precursores de processos metabólicos, enzimáticos e nutricionais essenciais e ativos como desencadeadores de mecanismos de defesa das plantas. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®], possam reduzir a fitotoxicidade causada à cana-de-açúcar oriunda do herbicida sulfentrazone, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura. Foram conduzidos dois experimentos semelhantes, porém independentes, sendo um na condição de aplicação em pré-emergência e o outro na condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar, em cada área foi aplicado o herbicida sulfentrazone na dose de 750 g ha⁻¹. Posteriormente, foram aplicados três fisioativadores isolados sobre cada área que recebeu o herbicida, em duas doses, sendo eles: Crop⁺ (1 e 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 e 4 L ha⁻¹) ou Seven[®] (4 e 8 L ha⁻¹). A partir dos 60 DAA as plantas já estavam sadias, as quais recuperaram de forma igualitária na presença ou ausência dos fisioativadores. A recuperação fitotoxicidade causada pelo herbicida sulfentrazone foi mais rápida quando aplicado em pré-emergência, aos 45 DAA, e mais tardia quando aplicado em pós-emergência inicial, aos 120 DAA. Em pré-emergência houve oscilação do índice de clorofilas durante o ciclo, já na condição de pós-emergência inicial, aos 14 DAA, o índice de clorofilas foi estável e semelhante para todos os tratamentos. Considerando o estresse, avaliado através da isoenzima α -esterase, em pré-emergência somente o fisioativador Seven[®] na dose de 4 L ha⁻¹ proporcionou recuperação das plantas. Enquanto em pós-emergência inicial, aos 45 DAA todos os fisioativadores foram capazes de detoxificar as plantas, quando submetidas à aplicação de sulfentrazone (750 g ha⁻¹), com ênfase para o Foltron[®] na dose de 4 L ha⁻¹. A recuperação do metabolismo contra o estresse abiótico provocado pelo herbicida sulfentrazone, analisada pela expressão da isoenzima α -esterase no experimento em pré-emergência foi proporcionada pelos fisioativadores na seguinte ordem: Seven[®] 4 L > Crop⁺ 1 L > Crop⁺ 2 L = Foltron[®] 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L. Já em pós-emergência inicial, foi o seguinte: Seven[®] 8 L = Crop⁺ 1 L > Foltron[®] 2 L = Crop⁺ 2 L = Seven[®] 4 L > Foltron[®] 4 L. Aos 120 DAA, o índice médio de verde para a cana-de-açúcar foi de 36,24 e a altura média foi de 137,46 cm. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida sulfentrazone, na dose de 750 g ha⁻¹, nas condições de aplicação em pré ou pós-emergência inicial.

Palavras-chave: Herbicida; Injúrias; Fisiologia; Estresse abiótico; α -esterase

3 PHYSIOACTIVATORS AND PHYTOTOXICITY CAUSED BY SULFENTRAZONE IN THE SUGARCANE CROP

Abstract

The sulfentrazone herbicide is widely used in sugarcane cultivation during the dry season. However, the use of this herbicide can cause unwanted damage to the crop. The researches developed present studies carried out to revert the phytotoxicity in the crop, mainly for the sugarcane. The use of compounds for stress reduction is affected by factors such as water stress. Is widely studied, or it has not yet occurred for stress arising from the application of herbicides. In this scenario, some products available on the market, physioactivators, have the potential to act in this topic, since they have their precursor components of essential and active metabolic, enzymatic and nutritional processes as triggers for plant defense actions. In this context, the objective of this work was to verify the hypothesis of Crop⁺, Foltron[®] and Seven[®] physioactivators, to reduce phytotoxicity, using sugarcane after the herbicide sulfentrazone, when used in pre or post-initial emergence of the crop. Two similar but independent experiments were conducted, one condition being at pre-emergence and the other at post-initial emergence condition of sugarcane, in each area the herbicide sulfentrazone was applied at a dose of 750 g ha⁻¹. Subsequently, three selected physioactivators were applied over each area that received herbicide, in two doses, namely: Crop⁺ (1 and 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 and 4 L ha⁻¹) or Seven[®] (4 and 8 L ha⁻¹). After 60 days after application (DAA), the plants were already healthy, how to recover their egalitarian form in the presence or absence of physioactivators. Phytotoxicity recovery caused by the herbicide sulfentrazone was faster when applied in pre-emergence, up to 45 DAA, and later when applied at post-initial emergence, up to 120 DAA. In an emergency, the green index fluctuated during the cycle, already in the post-initial emergence condition, up to 14 DAA, or the green index was stable and similar to all procedures. Stress assessed using isoenzyme α -esterase, at pre-emergence only with the physioactivator Seven[®] at a dose of 4 L ha⁻¹, provided plant recovery. While in post-initial emergence, up to 45 DAA all physioactivators were able to detoxify like plants when subjected to the application of sulfentrazone (750 g ha⁻¹), with an emphasis on Foltron[®] at a dose of 4 L ha⁻¹. The recovery of metabolism against the abiotic stress caused by the herbicide sulfentrazone, analyzed by the expression of the isoenzyme α -esterase in the pre-emergence experiment was provided by the physioactivators in the following order: Seven[®] 4 L > Crop⁺ 1 L > Crop⁺ 2 L = Foltron[®] 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L. In post-initial emergence, it was as follows: Seven[®] 8 L = Crop⁺ 1 L > Foltron[®] 2 L = Crop⁺ 2 L = Seven[®] 4 L > Foltron[®] 4 L. At 120 DAA, the average green index for sugarcane was 36.24 and the average height was 137.46 cm. The sugarcane variety CV0618 is tolerant to the herbicide sulfentrazone, at a dose of 750 g ha⁻¹, in the conditions of application in pre or post-initial emergence.

Keywords: Herbicide; Injuries; Physiology; Abiotic stress; α -esterase

3.1 Introdução

A cultura de cana-de-açúcar, apesar de rústica e extremamente eficiente em seu crescimento e desenvolvimento, pode sofrer reduções na produtividade se cultivada sem o controle de plantas daninhas, principalmente no estágio inicial da lavoura, o que torna o controle de plantas daninhas essencial para o desempenho produtivo da cultura. Entretanto, devido à similaridade de diversas plantas daninhas com a cultura de interesse, usualmente pode causar fitotoxicidade à cultura na presença de herbicidas, como o sulfentrazone, comumente usado nesta cultura (NEGRISOLI et al., 2004; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

O herbicida sulfentrazone é amplamente utilizado na cultura da cana-de-açúcar na época de seca, com doses de bula variando entre 600 a 800 g ha⁻¹, para o controle de gramíneas, ciperáceas e folhas largas importantes na cultura, como capim-braquiária, capim-colchão, capim-colonião, capim-pé-de-galinha, corda-de-viola, guanxuma, erva-quente, trapoeraba, tiririca, entre outras (AZANIA et al, 2006; CARBONARI et al., 2016; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Entretanto, reforça-se que o uso desse herbicida pode acarretar injúrias indesejadas na cultura, conforme confirmado por Ferreira et al. (2012), que observaram intoxicação de até 40% às variedades de cana-de-açúcar estudadas (RB925345, RB867515, SP80-1816 e RB855146), como necrose foliar pontual. O sulfentrazone limita a síntese da clorofila, provocando diminuição na taxa fotossintética, em função da falha na captação da energia luminosa, a qual seria convertida em poder redutor para a fixação e assimilação do CO₂ no ciclo de Calvin (CARRETERO, 2008).

O assunto estresse abiótico vem sendo cada vez mais estudado, a fim de diminuir os efeitos negativos deste nos cultivos. Entretanto, no que diz respeito ao estresse abiótico oriundo da aplicação de herbicidas pouco se conhece, em função da carência de trabalhos existentes nessa linha. Sendo assim, poucos são os estudos realizados para minimizar ou reverter a fitotoxicidade causada pelos herbicidas nas culturas, principalmente para a cana-de-açúcar. Estão disponíveis no mercado produtos denominados fisioativadores, que possuem potencial para esse fim, visto que possuem em sua formulação componentes que são precursores de processos metabólicos, enzimáticos e nutricionais essenciais e ativos como desencadeadores de mecanismos de defesa vegetal, entretanto seu emprego nessa problemática é pouco conhecido (SHARMA; DUBEY, 2005; ASHRAF; FOOLAD, 2007; MACKINNON et al., 2010; SHARMA et al., 2014; CASTRO; CARVALHO, 2014; CASTRO et al., 2016).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em função dos seus componentes, possam reduzir a fitotoxicidade causada à cana-de-açúcar oriunda do herbicida sulfentrazone, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura.

3.2 Material e métodos

Conduziu-se o experimento a campo, em área comercial de cana-de-açúcar no município de Santa Bárbara d'Oeste – SP (22° 48' 57,4" S 47° 28' 28,1" O; 602 m de altitude), entre junho de 2019 e maio de 2020. Realizaram-se dois experimentos independentes, com aplicação do herbicida sulfentrazone na condição de pré e outro em pós-emergência inicial da cana-de-açúcar, em soqueira de segundo corte da variedade CV0618.

A dose adotada do sulfentrazone foi de 750 g ha⁻¹, para as respectivas épocas de aplicação. Para os fisioativadores (Crop⁺®, Foltron® e Seven®) foram consideradas as doses recomendadas em bula, e duas vezes a dose. As doses dos herbicidas foram fundamentadas na prática agrícola, na granulometria do solo (Tabela 3.1), bem como na recomendação pelos fabricantes (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). As doses dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, foram estabelecidas conforme instruções de bula, 1, 2 e 4 L ha⁻¹, respectivamente.

Tabela 3.1.: Características químicas e físicas da área onde foi instalado o experimento

Latossolo vermelho amarelo												
P	M.O.	pH	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	Argila	Areia	Silte
mg/dm ³	g/dm ³	CaCl ₂			Cmol _c /dm ³				%		g Kg ⁻¹	
14	15	6,3	0,10	3,32	1,39	1,3	4,81	6,15	78,18	245	616	138

Fonte: Laboratório Agrícola da unidade.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC) com oito tratamentos, os quais estão descritos abaixo (Tabela 3.2), cada parcela foi constituída por cinco linhas de cana (1,50 m entre linhas) e 4 m de comprimento, perfazendo uma área de 24 m² por parcela. Considerando-se quatro repetições, cada experimento contou com 32 unidades experimentais, totalizando nas duas condições de aplicação, 64 parcelas.

No experimento conduzido na condição de pré-emergência, aplicou-se o sulfentrazone antes da emergência da cana, e 15 dias após aplicação (DAA) do herbicida aplicaram-se os fisioativadores nas doses pré-estabelecidas. Enquanto em pós-emergência inicial, o

sulfentrazone foi aplicado após a emergência da cana, na fase de brotação, e 2 DAA do herbicida aplicaram-se os fisioativadores, nas respectivas doses.

Realizaram-se ambos tratamentos utilizando pulverizador costal de precisão, pressurizado por CO₂, acoplado a barra de seis pontas do tipo TeeJet 110.02 com indução de ar (TTI), posicionadas a 0,50 m do alvo, com consumo relativo de calda de 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação em pré-emergência as condições meteorológicas foram as seguintes: Temperatura 22 °C, UR 65,2 %, Vento 0,94 m s⁻¹, céu limpo, em 18 de junho de 2019. Já para a aplicação em pós-emergência inicial as condições foram: Temperatura 26 °C, UR 56,8 %, Vento 1,4 m s⁻¹, céu limpo, em 25 de junho de 2019. Durante o período de condução do experimento a temperatura média foi de 30,32 °C, e ocorreu uma precipitação de 35 mm.

Tabela 3.2. Tratamentos adotados nos experimentos em pré e pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	Dose	
	Herbicida	Fisioativador
1. Testemunha absoluta	0 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
2. Sulfentrazone	750 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
3. Sulfentrazone e Crop ⁺ ® (DOSE)	750 g ha ⁻¹	1,0 L ha ⁻¹
4. Sulfentrazone e Crop ⁺ ® (2x DOSE)	750 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
5. Sulfentrazone e Foltron [®] (DOSE)	750 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
6. Sulfentrazone e Foltron [®] (2x DOSE)	750 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
7. Sulfentrazone e Seven [®] (DOSE)	750 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
8. Sulfentrazone e Seven [®] (2x DOSE)	750 g ha ⁻¹	8,0 L ha ⁻¹

Após a implantação dos tratamentos, realizaram-se análises de fitotoxicidade, índice de clorofilas, altura das plantas, perfil enzimático da isoenzima α -esterase e a colheita. As análises da fitotoxicidade causada pelo herbicida sulfentrazone, foram efetuadas conforme o método proposto pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995), o qual é baseado numa escala de 0 a 100%, sendo 0% atribuído à ausência de sintomas causados pelos herbicidas e 100% para a morte das plantas. Realizaram-se as avaliações aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA para o experimento em pré-emergência, e aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA, para o experimento em pós-emergência inicial.

Determinou-se o índice de clorofilas (SPAD), utilizando-se o clorofilômetro de campo Modelo Spad 502 Minolta, no terço médio da folha +1 em três plantas escolhidas ao acaso na área útil da parcela (três linhas centrais). Além disso mensurou-se a altura das plantas medindo-se a distância do colo da planta até a aurícula da folha +1 de três plantas escolhidos ao acaso na área útil da parcela. Aos 310 dias após a emergência da cana-de-açúcar (DAE), realizou-se a

colheita de todos os colmos em 3 m de sulco, dentro área útil de cada parcela, pesou-se o feixe, e fez-se a extrapolação para a obtenção da produção de colmos ($t\ ha^{-1}$). Os dados foram submetidos a análise de variância por meio do teste F, e quando significativo para os tratamentos, empregou-se o teste de Tukey, ambos com 5% de significância, para os dois experimentos.

Realizaram-se aos 45 DAA, para ambos experimentos, a análise da isoenzima α -esterase, através de eletroforese, a fim de construir o perfil isoenzimático da mesma sob condições de estresse causado pelo herbicida sulfentrazone, bem como suas respectivas respostas quando tratadas com fisioativadores. As análises da isoenzima α -esterase foram efetuadas no Centro de Cana, pertencente ao Instituto Agrônomo - IAC, Ribeirão Preto – SP ($21^{\circ} 12' 28,29'' S$, $47^{\circ} 52' 23,30'' O$; 621m de altitude). Para tanto, em cada parcela escolheu-se um colmo aleatório na área útil e coletou-se o terço médio da folha +1. As repetições foram agrupadas formando uma amostra composta para cada tratamento, as quais foram acondicionadas em cassetes tipo histológicos e acondicionadas em caixa de isopor com gelo para transporte do campo até o laboratório, no qual as amostras ficaram preservadas em ultra freezer ($-80\ ^{\circ}C$) para manter a integridade das enzimas, até o processamento das análises.

Para construção do perfil isoenzimático da α -esterase por meio de eletroforese, inicialmente macerou-se com auxílio de nitrogênio líquido, 0,2 g de tecido foliar de cada amostra composta, em cadinho de porcelana individual. Em seguida, cada macerado foi acondicionado em Eppendorf, e adicionou-se 0,04 g de PVP 10 (polivinilpolipirrolidona) para adsorver e inativar fenóis que pudessem oxidar a amostra. Pois, segundo Alfenas (2006), na maceração para análise com isoenzimas, pode haver interação dos compostos fenólicos com as proteínas, inativando as enzimas ou alterando a mobilidade destas no gel de corrida para a formação das bandas. Também adicionou-se 0,8 mL da solução tampão composta de (fosfato de sódio bibásico 0,6 g; sacarose 7g; PVP-10 2,56 g; L-ácido ascórbico 100 mg; bissulfito de sódio 50 mg; borato de sódio 50 mg; β -mercaptoetanol 0,2 mL; polietilenoglicol 1 g; água deionizada 100 mL) os quais possuem função antioxidante e quelatizante para diminuir interferência de compostos secundários à amostra (adaptado de Alfenas, 2006). Logo após o extrato adquirido, esse foi centrifugado por dois minutos a 1500 rpm, e o sobrenadante obtido, foi analisado, transferido para um Eppendorf e acondicionado no freezer a $-20\ ^{\circ}C$, para manter intactas as propriedades da solução obtida.

É fundamental que todas as etapas para obtenção do perfil isoenzimático sejam realizadas à baixas temperaturas e as amostras estejam resfriadas por gelo constantemente. Segundo Almeida e Crócomo (1994), pode ocorrer proteólise das enzimas, caso as etapas sejam morosas, então se faz necessário ter agilidade para realização das etapas. Posteriormente, fez-

se a precipitação das enzimas através da poliacrilamida-bis, o qual permite maior resolução das bandas em função da ampla variação controlada do diâmetro dos seus poros. Para separação da isoenzimas foi utilizada uma cuba vertical de eletroforese imersa em solução tampão de corrida elétrica tris glicina (0,05 M, pH 8,0), contendo gel de separação poliacrilamida-bis não desnaturante, em duas concentrações, na posição inferior centrado a 10 % e a 5 % na altura superior (LAEMMILI, 1970). Após a colocação do gel na cuba, na parte superior foi colocado um pente de corrida com 30 pocinhos, e após viragem da solução líquida em estado gelatinoso, o pente foi retirado com muito cuidado, e os pocinhos formados foram preenchidos com 30 μ L do extrato de tecido foliar, previamente preparado. Em seguida, a cuba de corrida foi colocada dentro de um ambiente resfriado (4 °C), para proteção das enzimas à desnaturação, a qual foi calibrada com voltagem de 200 volts, e lá permaneceu por volta de dez horas para separação e demarcação das bandas (ALFENAS et al., 2006).

Após a corrida do gel, a cor que demarca as bandas precisa ser intensificada para visualização a olho nu. Para isso, previamente foi preparada e quantificada uma alíquota de 100 mL da solução tampão 0,1 M (pH 6,2) composta por 81,5 mL de solução A: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 0,1M (4,14 g / 300 mL) + 18,5 mL de solução B: Na_2HPO_4 a 0,1 M (4,26 g / 300 mL) acrescida dos reagentes colorantes α -naftil acetato e fast blue RR (PASTEUR et al., 1988). Os quais foram dissolvidos na seguinte ordem, 0,02 g de α -naftil acetato em 500 μ L de acetona, agitado e colocado posteriormente sobre 80 mL de solução tampão fosfato, em seguida espera-se aproximadamente 15 minutos e então se acrescenta 20 mL da solução tampão fosfato, acrescida de 0,018 g de fast blue RR. Posteriormente, o recipiente contendo a solução de coloração e o gel foram colocados no agitador tipo “Rocking Platform” Bio Rad, em ambiente escuro, a 20 rpm até o aparecimento de bandas (adaptado de BRUNE; ALFENAS; JUNGHANS, 2006).

Após a coloração, o gel foi lavado cuidadosamente com água deionizada, e colocado em solução secadora, a qual reduzirá parcialmente o tamanho da placa de gel, favorecendo a resolução das bandas, e posteriormente foi envolto por papel celofane umedecido em solução secadora, e levado ao aparelho de secagem forçada “Gel Dryer Model 583” da Bio Rad na configuração PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) por 40 minutos a 80°C. Esse processo desidrata o gel e permite que o mesmo seja guardado por muito tempo (adaptado de Alfenas et al., 2006).

Os géis obtidos foram escaneados e as imagens geradas foram analisadas pelo software ImageJ, obtendo-se a somatória da área ocupada pelas bandas de cada perfil isoenzimático em cada tratamento, bandas mais intensas é um indicativo de maior quantidade de enzimas ligadas ao seu substrato, e conseqüentemente maior atividade destas (ABRÀMOFF et al. 2004). Para

obter-se uma comparação prática, adotou-se uma margem de 5% sobre o padrão da testemunha absoluta, nos quais os padrões enzimáticos fora da margem foram considerados diferentes entre si.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Condição de aplicação em pré-emergência

Fitotoxicidade

Na condição de aplicação do herbicida sulfentrazone em pré-emergência, as análises começaram aos 21 DAA. O herbicida sulfentrazone na dose de 750 g ha^{-1} causou fitotoxicidade na cana-de-açúcar, provocando lesões pontuais necróticas com a borda avermelhada sobre as folhas.

Para a variável fitotoxicidade em pré-emergência (Tabela 3.3) observa-se que aos 21 DAA todos tratamentos diferiram de forma similar da testemunha absoluta (plantas isentas de aplicação de herbicidas ou fisioativadores), os quais possuíam injúrias causados pelo herbicida sulfentrazone (750 g ha^{-1}). As injúrias observadas na testemunha herbicida (plantas que receberam apenas herbicida) foram semelhantes as observadas nos tratamentos que receberam a aplicação dos fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®], tanto na dose como no dobro dela. Em experimento realizado por Barela (2005), verificou-se que a aplicação de sulfentrazone na dose de 800 g ha^{-1} , em condição de pré-emergência foi seletivo à cultura, mesmo com injúrias iniciais de fitointoxicação, mas não resultou em perdas significativas ao final do experimento.

Diferentemente do visto aos 28 DAA, onde o tratamento que recebeu aplicação de Seven[®] na menor dose (4 L ha^{-1}), ainda possuía um maior percentual de injúrias visíveis, em relação à testemunha herbicida.

Entretanto, a partir dos 45 DAA todos tratamentos se igualaram à testemunha absoluta, diminuindo a porcentagem de injúrias visíveis causadas pelo herbicida sulfentrazone até os 120 DAA, nessa data a fitotoxicidade já havia desaparecido. Ressalta-se que a partir dos 45 DAA as plantas que receberam apenas tratamento sulfentrazone (750 g ha^{-1}) se recuperaram igualmente aos demais tratamentos da fitotoxicidade por este causada. Em experimento realizado por Giraldeleli (2019), resultados semelhantes foram observados, aos 30 DAA as plantas já haviam se recuperado das injúrias causadas pela aplicação de sulfentrazone na dose de 800 g ha^{-1} .

Tabela 3.3. Porcentagem de injúrias causadas à cana-de-açúcar após aplicação do herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, em condição de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	0,00 a	0,00 a	0,00	0,00	0,00
Sulfentrazone	7,75 b	2,00 ab	1,00	1,25	0,00
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 1 L	6,25 b	2,00 ab	1,00	0,00	0,00
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 2 L	10,50 b	2,00 ab	1,00	1,00	0,00
Sulfentrazone + Foltron® 2 L	8,25 b	5,75 bc	0,00	1,00	0,00
Sulfentrazone + Foltron® 4 L	12,50 b	5,00 bc	0,50	0,75	0,00
Sulfentrazone + Seven® 4 L	9,25 b	5,75 c	0,50	0,50	0,00
Sulfentrazone + Seven® 8 L	10,00 b	3,50 bc	0,00	1,00	0,00
F_{trat}	15,62**	10,69**	1,06 ^{NS}	1,11 ^{NS}	0,00 ^{NS}
CV (%)	14,26	16,37	27,83	26,03	0,00
DMS	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x + 1)}$; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Pode-se, através dos dados obtidos considerar que nenhum dos tratamentos com aplicação de fisioativadores se destacou para recuperação visual das injúrias nas folhas tratadas, o que já era esperado, visto que a aplicação de sulfentrazone causa lesões necróticas pontuais e irreversíveis na região de contato do herbicida com a folha, visto que esse é um herbicida de contato, quando aplicado em condição de pós-emergência inicial. Com isso, as novas folhas formadas, estavam isentas da fitotoxicidade visual causada pelo herbicida, visto que o sulfentrazone possui movimento limitado no floema, em função da rápida destruição celular (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Índice de clorofilas (SPAD)

Silva et al. (2014) verificaram que o índice SPAD é correlacionado com conteúdo de clorofilas e carotenoides em cana-de-açúcar para avaliação da influência de estresse abiótico. Logo, é possível ter uma percepção básica sobre o equilíbrio da planta com o meio em que esta se encontra, com base nos dados mensurados pelo SPAD, correlacionando parcialmente índice clorofiliano com a atividade fotossintética.

Para o experimento instalado em pré-emergência (Tabela 3.4), inicialmente, aos 21 e 28 DAA não houve diferenças no índice de clorofilas entre os tratamentos. Entretanto, com base nos dados amostrais, observa-se que o índice SPAD só se diferenciou entre os tratamentos, aos

45 DAA. No tratamento Seven[®] (8 L ha⁻¹) observa-se cerca de 10% a mais de teor verde quando comparado ao tratamento Crop⁺ 1 L ha⁻¹.

Aos 45 DAA, o índice SPAD do tratamento Seven[®] (8 L ha⁻¹) foi superior ao da testemunha absoluta e, também das parcelas que receberam somente herbicida. Os tratamentos Foltron[®] (2 L ha⁻¹) e Foltron[®] (4 L ha⁻¹) foram superiores no índice SPAD, quando comparados ao tratamento com Crop⁺ 1 L ha⁻¹. Em experimento realizado por Ferreira et al. (2010) evidenciou que a maioria das combinações herbicida-variedade causou fitointoxicação à cultura de cana-de-açúcar, cujo índice SPAD foi menor que a testemunha.

Aos 60 DAA houve estabilização no índice SPAD entre os tratamentos, os quais não se diferiram entre si. Logo, com o avanço do ciclo da cultura, aos 120 DAA, houve uma diferença entre os tratamentos, na qual os tratamentos Crop⁺ (2 L ha⁻¹) e Foltron[®] (4 L ha⁻¹) foram superiores ao tratamento Crop⁺ (1 L ha⁻¹). Porém todos se igualaram à testemunha.

Tabela 3.4. Índice de clorofilas (SPAD) mensurado na cana-de-açúcar previamente tratadas com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	23,97	29,42	32,19 bc	35,72	35,85 ab
Sulfentrazone	26,33	28,96	32,25 bc	34,49	37,10 ab
Sulfentrazone + Crop ⁺ 1 L	20,24	24,45	29,14 c	33,76	31,54 b
Sulfentrazone + Crop ⁺ 2 L	24,73	29,88	34,13 abc	37,56	38,26 a
Sulfentrazone + Foltron [®] 2 L	25,83	28,87	36,34 ab	37,03	36,68 ab
Sulfentrazone + Foltron [®] 4 L	26,39	31,21	36,19 ab	36,22	38,94 a
Sulfentrazone + Seven [®] 4 L	23,78	28,92	34,20 abc	35,02	35,34 ab
Sulfentrazone + Seven [®] 8 L	27,53	29,89	39,31 a	35,02	38,05 ab
F_{trat}	2,25 ^{NS}	1,00 ^{NS}	4,73**	1,66 ^{NS}	2,84*
CV (%)	12,13	13,63	8,38	5,64	7,60
DMS	-	-	6,80	-	6,57

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Em síntese, observa-se um incremento de verde com o avançar do crescimento e desenvolvimento (dos 21 aos 120 DAA) em todos tratamentos, em média de 11,50 %. Entretanto, ainda aos 120 DAA, as plantas não haviam alcançado a igualdade entre os tratamentos com fisioativadores, porém, a diferença numérica nesta data foi baixa. Contudo, todos se igualaram à testemunha absoluta. Considerando que todos os tratamentos possuíam em sua composição o nitrogênio, explica-se a estabilidade no índice SPAD. A coloração verde das plantas está intimamente correlacionada com o teor de clorofilas nas folhas, o que é diretamente

influenciado pela disponibilidade de nitrogênio nestas. O desenvolvimento das plantas é totalmente influenciado pelos níveis de clorofilas *a*, *b* e total e carotenoides, pois atuam na captação da energia luminosa para realização da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Em todas épocas de avaliação, estatisticamente as plantas do tratamento que recebeu apenas aplicação de herbicida ficou visualmente semelhante em todo o ciclo da cultura, visto que o sulfentrazone é um herbicida de contato. Aos 120 DAA o índice SPAD médio da cana-de-açúcar foi de 36,47.

Altura

Para a variável altura, na condição de pré-emergência (Tabela 3.5), aos 7 DAA observou-se que a maioria dos tratamentos não promoveram variações comparados a testemunha. A observação que se faz é que as plantas tratadas com Crop⁺® (1 L ha⁻¹), possuíam menor altura comparadas aos tratamentos testemunha herbicida e Crop⁺® (2 L ha⁻¹). Nota-se que a partir dos 28 DAA, as diferenças de altura entre tratamentos não mais ocorreram.

Em pré-emergência a aplicação do herbicida sulfentrazone na dose de 750 g ha⁻¹ não causou interferência na altura das plantas em nenhuma época de avaliação (dos 7 aos 120 DAA). Nenhum tratamento, em qualquer época promoveu altura superior às plantas, comparado à testemunha. Aos 120 DAA, a altura média das plantas foi de 126,18 cm. Assim, também foi visto por Orsi Júnior (1997), ao aplicar sulfentrazone em pré-emergência nas doses de 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 g ha⁻¹, na variedade RB76-5418 de cana-de-açúcar.

Tabela 3.5. Altura da cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) em pré-emergência e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, avaliada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	41,00 ab	48,08	56,41	76,74	134,75
Sulfentrazone	46,33 a	45,32	55,66	69,74	135,50
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 1 L	33,41 b	30,33	46,83	55,00	129,58
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 2 L	47,50 a	41,83	53,24	72,16	126,33
Sulfentrazone + Foltron® 2 L	44,99 ab	45,99	62,58	64,83	128,75
Sulfentrazone + Foltron® 4 L	44,41 ab	34,83	57,33	67,33	115,16

Sulfentrazone + Seven® 4 L	40,08 ab	35,82	54,74	62,08	115,50
Sulfentrazone + Seven® 8 L	43,16 ab	42,16	55,66	65,50	123,91
F_{trat}	3,01*	1,67 ^{NS}	1,53 ^{NS}	2,01 ^{NS}	1,07 ^{NS}
CV (%)	12,12	23,81	12,81	13,93	11,85
DMS	12,25	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos respectivos aos números demonstrados nos histogramas da α -esterase estão apresentados na Tabela 3.6. A somatória de áreas de bandas na testemunha nunca será zero, visto que a isoenzima α -esterase atua sobre estresse abiótico em geral, porém quando submetida a herbicidas, sua atividade é acentuada. Então o padrão (100%) dessa análise é a testemunha absoluta, e os demais tratamentos são comparados a esta, considerados diferentes quando a margem de diferença é de no mínimo 5% entre eles.

Tabela 3.6. Tratamentos e respectiva identificação numérica, analisados para construção do histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase, adotados nos experimentos em pré e pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste/ Ribeirão Preto, 2019.

NUMERAÇÃO	TRATAMENTOS
1	Testemunha absoluta
2	Testemunha herbicida (sulfentrazone a 750 g ha ⁻¹)
3	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 1 L ha ⁻¹
4	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 2 L ha ⁻¹
5	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Foltron® 2 L ha ⁻¹
6	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Foltron® 4 L ha ⁻¹
7	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Seven® 4 L ha ⁻¹
8	Sulfentrazone (750 g ha ⁻¹) e Seven® 8 L ha ⁻¹

Analisando o histograma representativo (Figura 3.1), observa-se de forma linear, em pré-emergência, que todos os tratamentos com fisioativadores quando aplicados na maior dose, diminuem ou igualam a atividade da α -esterase, porém na maioria dos tratamentos a atividade enzimática foi baixa, dificultando a recuperação rápida das plantas ao estresse causado pelo herbicida. Pode-se dizer que ao aplicar os fisioativadores, aos 15 DAA do herbicida sulfentrazone, este já havia interferido no metabolismo do vegetal mesmo que aplicado em pré-emergência, ou seja os fisioativadores não conseguiram impedir a ação do herbicida na planta, dificultando a recuperação destas, pois ao mesmo tempo era requerido diversas atividades pela

planta, como se livrar dos compostos xenobióticos (herbicida), manter o equilíbrio no funcionamento do metabolismo para o crescimento e desenvolvimento das plantas e ainda absorver e assimilar as substâncias presentes nos fisioativadores.

Figura 3.1. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pré-emergência com o herbicida sulfentrazone (750 g ha^{-1}) e os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

O tratamento com o fisioativador Seven® na dose de 4 L ha^{-1} foi superior à testemunha herbicida, se igualando a testemunha absoluta na atividade da α -esterase, o que significa dizer que esse tratamento propiciou alta síntese da isoenzima, bem como a sua atividade para desintoxicação das plantas.

Observou-se que a testemunha herbicida possui atividade enzimática superior a todos os tratamentos com fisioativadores, com exceção do tratamento com Seven® (4 L ha^{-1}), ou seja, pode-se considerar que a adição dos fisioativadores propiciou uma possível interação negativa dos produtos gerados pela aplicação dos fisioativadores com o sulfentrazone aos 45 DAA em pré-emergência da cultura, dificultando a produção da α -esterase para alívio do estresse. Outros estudos precisam ser realizados para conhecimento da interação das moléculas catalisadas a partir do sulfentrazone, dos aminoácidos e dos biorreguladores. Beluci et al. (2015) também observaram alteração do perfil isoenzimático da α -esterase na cana-de-açúcar, quando

submetida à herbicidas inibidores da ALS, FSII e PROTOX, em pré plantio incorporado (PPI), 20 e 40 dias antes do plantio.

Produção de colmos

Em relação à variável produtividade (Tabela 3.7), observa-se que não houve diferenciação de nenhum dos tratamentos em relação à testemunha, ou seja, tanto a aplicação isolada do herbicida sulfentrazone em pré-emergência, bem como a adição de fisioativadores nos tratamentos não favoreceram ou prejudicaram o rendimento final de colmos da cultura de cana-de-açúcar. Os resultados desse trabalho corroboram com os resultados obtidos por Perez (2017), o qual estudando a variedade CTC11, observou que a aplicação de sulfentrazone em pré-emergência na cultura de cana-de-açúcar na dose de 800 g ha⁻¹ não afetou o rendimento final do canavial.

Tabela 3.7. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	88,63
Sulfentrazone	89,08
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 1 L	88,42
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 2 L	87,58
Sulfentrazone + Foltron® 2 L	88,17
Sulfentrazone + Foltron® 4 L	87,00
Sulfentrazone + Seven® 4 L	87,29
Sulfentrazone + Seven® 8 L	87,17
F_{trat}	1,22 ^{NS}
CV (%)	1,57
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

3.3.2 Condição de aplicação em pós-emergência inicial

Fitotoxicidade

Para o experimento conduzido em pós-emergência inicial, as análises foram iniciadas aos 7 DAA. Observou-se na Tabela 3.8 que aos 7, 14 e 21 DAA todos os tratamentos foram igualmente afetados, diferindo-se apenas da testemunha absoluta, sendo possível observar halos pontuais amarelados com evolução à necrose nas folhas. Quando a cultura está no estágio inicial de desenvolvimento, é possível que a aplicação de herbicidas possa provocar fitotoxicidade

sobre as plantas, tais como clorose, necrose e até pequenas falhas iniciais de brotação (INOUE et al., 2007).

Tabela 3.8. Porcentagem de injúrias causadas à cana-de-açúcar após aplicação do herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00	0,00
Sulfentrazone	18,75 b	21,25 b	8,75 b	4,25 b	3,50 b	1,25	0,00
Sulfentrazone + Crop ⁺ 1 L	13,00 b	15,25 b	7,00 b	4,50 b	2,00ab	0,50	0,00
Sulfentrazone + Crop ⁺ 2 L	18,75 b	22,25 b	8,75 b	3,50 b	3,50 b	0,25	0,00
Sulfentrazone + Foltron [®] 2 L	17,25 b	23,00 b	10,00 b	4,75 b	3,50 b	0,75	0,00
Sulfentrazone + Foltron [®] 4 L	22,50 b	23,25 b	11,75 b	5,00 b	2,75ab	1,00	0,00
Sulfentrazone + Seven [®] 4 L	14,50 b	20,25 b	9,00 b	5,00 b	2,25ab	0,50	0,00
Sulfentrazone + Seven [®] 8 L	14,00 b	17,75 b	8,50 b	3,00 ab	2,75ab	0,50	0,00
F_{trat}	12,65**	29,13**	20,07**	4,60**	2,93*	1,21 ^{NS}	0,00 ^{NS}
CV (%)	17,52	11,70	12,24	20,64	23,14	22,26	0,00
DMS	-	-	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x+1)}$; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Aos 28 DAA as parcelas tratadas com Seven[®] na maior dose (8 L ha⁻¹) se recuperaram parcialmente, cujo visual se comparava aos demais tratamentos, porém estatisticamente se igualava à testemunha. No entanto, aos 45 DAA, nota-se que os tratamentos testemunha herbicida, Crop⁺ na maior dose (2 L ha⁻¹) e Foltron[®] na menor dose (2 L ha⁻¹), ainda não haviam se recuperado totalmente da fitotoxicidade sofrida, enquanto os tratamentos com Foltron[®] 4 L ha⁻¹, Seven[®] 4 e 8 L ha⁻¹ já estavam menos intoxicados, podendo se comparar visualmente com a testemunha absoluta.

Nota-se que aos 120 DAA, as plantas que receberam apenas sulfentrazone, através da ativação dos seus mecanismos de defesa naturais já haviam se desintoxicado da fitotoxicidade visual causada pelo herbicida. Estudando a seletividade de herbicidas nas variedades RB855453, RB845257, SP813250, SP90-3414, SP90-1638, SP89-1115, IAC91-2218 e IAC91-5155 de cana-de-açúcar, Schiavetto et al., (2012), observaram aos 50 DAA a inexistência de injúrias provocadas pelos herbicidas sulfentrazone associado à demais herbicidas.

Índice de clorofilas (SPAD)

De acordo com os dados obtidos na avaliação do índice de clorofilas, aos 7 DAA (Tabela 3.9), o índice de clorofilas de todos tratamentos foi inferior à testemunha absoluta, com exceção do tratamento Foltron (2 L ha⁻¹). Uma semana depois, dos 14 aos 120 DAA, todos os tratamentos já haviam recuperado o índice de clorofilas, resultando em dados similares à testemunha absoluta. O índice de clorofilas é afetado inicialmente, porém com o avançar do ciclo da cana-de-açúcar, este é recuperado, comumente visto por vários autores, como Schiavetto et al. (2012) e Perez (2017).

Aos 120 DAA, o índice médio SPAD foi de 36,02. Ainda observado por Perez (2017), a aplicação do herbicida sulfentrazone na variedade de cana CTC 11 dose 800 g ha⁻¹ não afetou consideravelmente o teor de clorofila, a altura, o perfilhamento, a produtividade e a qualidade tecnológica da cultura.

Tabela 3.9. Índice clorofilas (SPAD) mensurado na cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	31,08 a	22,60	27,73	28,70	33,49	32,42	34,00
Sulfentrazone	20,70 b	24,69	28,34	28,18	35,89	30,56	35,50
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 1 L	22,41 b	24,72	27,27	27,47	34,75	32,16	35,86
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 2 L	22,26 b	20,64	27,29	26,82	34,62	30,28	37,10
Sulfentrazone + Foltron [®] 2 L	24,42 ab	24,25	29,30	25,60	32,05	32,33	36,77
Sulfentrazone + Foltron [®] 4 L	22,77 b	24,45	27,92	24,29	33,19	32,89	36,97
Sulfentrazone + Seven [®] 4 L	18,50 b	23,41	27,37	27,26	35,01	31,80	35,50
Sulfentrazone + Seven [®] 8 L	22,70 b	22,19	25,07	27,73	34,11	32,55	36,51
F_{trat}	6,33**	1,80 ^{NS}	1,11 ^{NS}	1,19 ^{NS}	0,72 ^{NS}	0,57 ^{NS}	0,67 ^{NS}

CV (%)	12,59	9,32	8,31	9,77	8,30	7,89	7,04
DMS	6,90	-	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Altura

Aos 7 DAA (Tabela 3.10), não se notou nenhuma diferença na altura das plantas observada entre os tratamentos. Já aos 14 DAA, observou-se que o tratamento Seven 4 L ha⁻¹, foi o tratamento com menor altura, comparado aos tratamentos testemunha absoluta, testemunha herbicida, Foltron[®] em ambas doses (2 e 4 L ha⁻¹). O tratamento Seven[®] (8 L ha⁻¹) implicou em menor altura comparado à testemunha. Aos 21, 28, 45 e 60 DAA, não houve diferença entre os tratamentos. Aos 120 DAA, todos os tratamentos foram indiferentes em relação à testemunha. Porém, para o tratamento Foltron[®] (4 L ha⁻¹) a altura das plantas foi menor, comparada à aplicação isolada do herbicida sulfentrazone.

De modo geral, verificou-se que a altura dos tratamentos foi equivalente à testemunha absoluta, sem danos majoritários ou ganhos impostos pelos tratamentos. A aplicação do herbicida sulfentrazone isolado em pós-emergência inicial não interferiu na altura das plantas em nenhuma data de avaliação. Aos 120 DAA a altura média das plantas foi de 1,49 m.

Tabela 3.10. Altura (cm) da cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, avaliada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	51,00	67,92 a	49,41	51,08	59,33	73,66	149,08 ab
Sulfentrazone	51,50	62,00 ab	44,08	45,08	59,50	61,25	160,91 a
Sulfentrazone + Crop ⁺ [®] 1 L	50,58	57,16 abc	38,58	50,00	57,75	71,91	152,44 ab
Sulfentrazone + Crop ⁺ [®] 2 L	52,91	57,49 bc	33,25	43,58	53,91	55,58	148,49 ab
Sulfentrazone + Foltron [®] 2 L	55,41	63,91 ab	40,37	47,00	61,50	64,74	146,24 ab
Sulfentrazone + Foltron [®] 4 L	51,50	63,16 ab	31,99	47,58	56,66	60,99	133,66 b
Sulfentrazone + Seven [®] 4 L	46,75	46,91 c	30,16	40,91	57,22	66,50	144,50 ab
Sulfentrazone + Seven [®] 8 L	51,67	55,25 bc	41,75	54,41	56,91	62,58	154,66 ab
F _{trat}	0,55 ^{NS}	7,58**	1,77 ^{NS}	1,32 ^{NS}	0,71 ^{NS}	1,63 ^{NS}	2,58*
CV (%)	12,74	8,26	25,58	15,91	9,33	14,43	6,70
DMS	-	11,53	-	-	-	-	23,63

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos analisados para construção do perfil isoenzimático da α -esterase podem ser consultados na Tabela 3.6, mostrada anteriormente. Na condição de pós-emergência inicial da cultura, aos 45 DAA observa-se que a expressão da α -esterase foi superior a testemunha (Figura 3.2), em todos os tratamentos, respeitando a margem de 5 % para diferenciação entre os tratamentos, ou seja, todas as plantas que receberam a aplicação dos fisioativadores estavam mais intoxicadas do que a testemunha absoluta e menos intoxicados do que a testemunha de herbicida. Como a aplicação dos fisioativadores foi aos 2 DAA dos herbicidas, estes ainda não haviam afetado integralmente o metabolismo das plantas, o que pode ser confirmado ao analisar a Tabela 3.8, a qual mostra o pico da fitotoxicidade, aos 14 DAA. Então, os aminoácidos, os nutrientes bem como os demais componentes dos fisioativadores agiram no metabolismo vegetal prevenindo o estresse provocado pelo sulfentrazone,

Confirma-se a informação anterior quando notou-se que a testemunha herbicida expressou maior concentração da isoenzima α -esterase. De acordo com a Figura 3.2 a planta produziu cerca 84 % a mais isoenzimas comparadas à testemunha, o que significa dizer que estava acontecendo a biossíntese de α -esterase para reverter o desarranjo metabólico causado pelo sulfentrazone, já que esta não recebeu a aplicação de fisioativadores. O estresse provocado induziu as plantas à ativação dos seus mecanismos de defesa naturais, contra o estresse abiótico. Ao estudar as isoenzimas α -esterase e peroxidase, Silva et al. (2013) observaram que a formação de bandas foi intensificada em tratamentos herbicidas, inferindo maior atividade enzimática, com ênfase para a α -esterase, que mesmo em plantas sem injúrias visuais aos 58 DAA estava ativa, ou seja em processo de metabolização dos herbicidas.

Figura 3.2. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pós-emergência inicial com o herbicida sulfentrazone (750 g ha^{-1}) e os fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®], em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

Dentre os tratamentos com adição de fisioativadores, notou-se que aqueles com Crop⁺ e Seven[®], foram os que mais se assemelharam à testemunha quanto ao alívio do estresse causado pelo herbicida, através da síntese da α -esterase. Para os tratamentos com os fisioativadores Crop⁺ e Foltron[®], barras 3, 4, 5 e 6, respectivamente, observa-se que o incremento na dose (dobro da dose) favorece a atividade da α -esterase, ou seja, o incremento da dose pode ser indesejado pois aumenta metabólitos a serem catalisados, visto que o aumento da atividade da α -esterase ocorre quando há mais compostos prejudiciais para serem degradados na planta. Logo o tratamento com Foltron[®] na dose de 4 L ha^{-1} atuou de forma mais sutil na prevenção dos efeitos indesejáveis do herbicida, demandando maior atividade da α -esterase comparado aos demais. Contudo, ressalta-se que seu desempenho na prevenção da ação do herbicida foi positivo.

O inverso acontece nos tratamentos com Seven[®], quando se faz um incremento da dose, a recuperação das plantas é afetada positivamente, ou seja, o incremento da dose reduz a demanda da atividade da α -esterase. Ressalta-se que o Foltron[®], possui o biorregulador giberelina em sua composição. Segundo Yamaguchi (2008), a giberelina é caracterizada como o hormônio que promove o crescimento e a diferenciação dos tecidos, induzindo processos que levam a formação de órgãos finais.

Logo, pode-se observar que a ordem decrescente dos tratamentos que exercem influência positiva sobre a ação da α -esterase para a cana-de-açúcar já emergida, na tentativa de desintoxicação da planta, foi: Crop⁺® 1 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 2 L = Crop⁺® 2 L = Seven[®] 4 L > Foltron[®] 4 L.

Produção de colmos

Quanto à variável produtividade (Tabela 3.11), observa-se que os tratamentos adotados não influenciaram positiva ou negativamente sobre a produtividade da lavoura. O que também foi observado por Pizani (2018), ao estudar o uso de micro e macronutrientes, dentro da composição de fertilizantes foliares, o qual verificou que a aplicação foliar é complementar à cultura, o que não dispensa a adubação base na instalação e condução do canavial.

Tabela 3.11. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida sulfentrazone (750 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	88,67
Sulfentrazone	90,25
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 1 L	89,33
Sulfentrazone + Crop ⁺ ® 2 L	88,50
Sulfentrazone + Foltron [®] 2 L	88,17
Sulfentrazone + Foltron [®] 4 L	87,92
Sulfentrazone + Seven [®] 4 L	87,46
Sulfentrazone + Seven [®] 8 L	89,08
F_{trat}	2,18 ^{NS}
CV (%)	1,35
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

Ressalta-se que, na condição desse experimento, nem mesmo a aplicação isolada do herbicida sulfentrazone diminuiu a produtividade da cultura de cana-de-açúcar. Esse trabalho está em concordância com Tironi et al. (2012), que ao realizarem a pulverização de 750 g ha⁻¹ de sulfentrazone na cultura de cana-de-açúcar, na condição de pós-emergência inicial, observaram que o mesmo não provocou alterações na qualidade da matéria-prima (Brix, fibra, porcentagem de sacarose, teor de sacarose aparente e pureza do caldo) ou produtividade de colmos comparado à testemunha.

3.4 Considerações gerais

Na ausência ou presença dos fisioativadores as plantas se recuperaram da fitotoxicidade de forma similar, pois a partir dos 45 a 60 DAA todas estavam igualmente sadias. Quando submetidas à aplicação isolada do herbicida sulfentrazone, a recuperação da fitotoxicidade causada pelo herbicida sulfentrazone foi mais rápida quando aplicado em pré-emergência, aos 45 DAA, já quando aplicado em pós-emergência inicial, foi mais tardia, aos 120 DAA.

Em pré-emergência, houve oscilação do SPAD durante o ciclo, já na condição de pós-emergência inicial, aos 14 DAA, o índice de clorofila foi estável e semelhante para todos os tratamentos. Aos 120 DAA, o índice médio de SPAD para a cana-de-açúcar foi de 36,24, sem diferenciação entre os tratamentos. Enquanto a altura média da cana-de-açúcar foi de 137,46 cm, sem diferenciação entre os tratamentos.

Em pré-emergência somente o fisioativador Seven[®] na dose de 4 L ha⁻¹, proporcionou recuperação satisfatória das plantas. Enquanto em pós-emergência inicial, aos 45 DAA todos os fisioativadores foram capazes de desintoxicar as plantas, quando submetidas à aplicação de sulfentrazone (750 g ha⁻¹), com ênfase para o Foltron[®] na dose de 4 L ha⁻¹.

A recuperação do metabolismo contra o estresse abiótico provocado pelo herbicida sulfentrazone, analisada pela expressão da isoenzima α -esterase no experimento em pré-emergência foi proporcionada pelos fisioativadores na seguinte ordem: Seven[®] 4 L > Crop⁺[®] 1 L > Crop⁺[®] 2 L = Foltron[®] 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L. Já em pós-emergência inicial, foi o seguinte: Seven[®] 8 L = Crop⁺[®] 1 L > Foltron[®] 2 L = Crop⁺[®] 2 L = Seven[®] 4 L > Foltron[®] 4 L. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida sulfentrazone, na dose de 750 g ha⁻¹, tanto nas condições de aplicação em pré ou pós-emergência inicial.

Referências

- ABRÀMOFF, M.D.; MAGALHÃES, P.J.; RAM, S.J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics international**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.
- ALFENAS, A. C.; BRUNE, W.; OLIVEIRA, J. R.; ALONSO, S. K.; SCORTICHINI, S. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A.C. (Eds.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Editora UFV, Viçosa, 2006. p. 85-114.
- ALMEIDA, M.; CROCOMO, O. J. Organografia de dez cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 69, n.2, p. 161-82, 1994.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.

AZANIA, C. A. M.; ROLIM, J. C.; CASAGRANDE, A. A.; LAVORENTI, N. A.; AZANIA, A. A. P. M. Seletividade de herbicidas. III - Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época da estiagem. **Planta Daninha**, v.24, n.3, p.489-495, 2006.

BARELA, J. F. **Seletividade de herbicidas para a cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) afetada pela interação com nematicidas aplicados no plantio**. 2005. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BELUCI, L. R.; VITORINO, R.; AZANIA, C. A. M.; AZANIA, A. P. A. M.; TORTORELLI, H. F. Utilização do perfil isoenzimático como ferramenta na avaliação da seletividade de herbicidas em cana-de-açúcar. **Nucleus**, v.12, n.2, 2015.

BRUNE, W.; ALFENAS, A. C.; JUNGHANS, T. G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed. Universidade Federal de Viçosa, 2006, p.202-328.

CARBONARI, C. A.; GOMES, G. L. G. C.; TRINDADE, M. L. B.; SILVA, J. R. M.; VELINI, E. D. Dynamics of sulfentrazone applied to sugarcane crop residues. **Weed Science**, v.64, n.1, p.201- 206, 2016.

CARRETERO, D.M. **Efeitos da inibição da protoporfirinogênio IX oxidase sobre as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill)**. 2008. 57f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

CARVALHO, S. J. P.; DIAS, A. C. R.; MINAMIGUCHI, M. H.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Atividade residual de seis herbicidas aplicados ao solo em época seca. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.278-285, 2012.

CASTRO, P. R. C.; ARAÚJO, D. K; ANGELINI, B. G.; MENDES, A. C. C. M. **Biorreguladores na agricultura**. USP/ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2016, n.esp., 154p. (Série Produtor Rural).

CASTRO, P. R. C; CARVALHO, M. E. A. **Aminoácidos e suas aplicações na agricultura**. USP/ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2014, n.57, 58 p. (Série Produtor Rural).

FERREIRA, E. A.; SILVA, A. F.; SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; GALON, L. L.; FRANÇA, A. C.; SANTOS, J. B. Toxicidade de herbicidas a genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.6, n..1, p.84, 2012.

FERREIRA, R. R.; OLIVEIRA, F. T. R.; DELITE, F. S.; AZEVEDO, R. A. NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; FIGUEIRA, A. V. O. Tolerância diferencial de variedades de cana-de-açúcar a estresse por herbicidas. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.2, p. 395-404, 2010.

GIRALDELI, A. L. **Manejo de *Cyperus rotundus* L. em cana-de-açúcar no sistema de mudas pré-brotadas**. 2019. 94f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

INOUE, M. H.; SANTIN, A. J.; DALLACORT, R.; POSSAMAI, A. S.; SANTANA, D. C. Performance de associações de herbicidas em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.6, n.2, p.32-41, 2007.

LAEMMILI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680–685, 1970.

MACKINNON, S. L.; HILTZ, D.; UGARTE, R.; CRAFT, C. A. Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. **Journal of Applied Phycology**, v.22, n.4, p.489-494, 2010.

NEGRISOLI, E.; VELINI, E. D.; TOFOLI, G. R.; CAVENAGHI, A. L.; MARTINS, D.; MORELLI, J. L.; COSTA, A. G. F. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura de cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v.22, n.4, 2004.

NEGRISOLI, E.; VELINI, E.D.; ROSSI, C.V.S.; COSTA, A.G.F.; CORRÊA, T.M.; CAVENAGHI, A.L. Eficácia do sulfentrazone em diferentes doses associado à palha de cana-de-açúcar com ou sem chuva após a aplicação no controle de plantas daninhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 24., 2004, São Pedro. **Anais...** Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, São Pedro: 2004. CD-ROM.

ORSI JÚNIOR, F. Avaliação da eficiência do herbicida sulfentrazone no controle da tiririca, na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.15, n.1, 1997.

PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. **Practical isoenzyme genetics**. New York, Ellis Horwood, 1988, 215p.

PEREZ, L. L. **Seletividade de sulfentrazone e clomazone aplicados em pré-plantio de mudas pré brotadas de cana-de-açúcar CTC 11**. 2017. 50 p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

PIZANI, G. A. **Efeito da adubação foliar na produtividade de cana-de-açúcar**. 2018. 23f. Monografia (Agronomia) - Faculdades Integradas de Ourinhos, 2018.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 7^a ed. Londrina, 764p. 2018.

SCHIAVETTO, A. R.; PERECIN, D.; AZANIA, C. A. M.; ZERA, F. S.; AZANIA, A. A. P. M.; LORENZATO, C. M. Tolerância de cana-de-açúcar a herbicidas avaliada pela diferença dos tratamentos. **Planta Daninha**, v.30, n.1, 2012.

SHARMA, H. S. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 465–490, 2014.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.854-862, 2005.

SILVA, D. M.; AZANIA, C. A. M.; AZANIA, A. A. P. M.; BELUCI, L. R.; VITORINO, R., GARCIA, J. C. Seletividade de herbicidas influenciada pelo estado nutricional da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.1, p.56-67, 2013.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e Índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.1, p. 173-181, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. SBCPD, Londrina, 1995. 42 p.

TAIZ. L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 719p.

TIRONI, S. P.; GALON, L., FARIAS, A. T. F.; SILVA, A. A.; BARBOSA, M. H. P. Produtividade e qualidade da matéria prima de cultivares de cana-de-açúcar submetida à aplicação de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.11, n.1, p.32-41, 2012.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review Plant Biology**, v.59, n.1, p.225-251, 2008.

4 FISIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR IMAZAPIQUE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

O herbicida imazapique é comumente utilizado na cultura de cana-de-açúcar em períodos de seca, mas pode provocar injúrias sobre a cultura. São escassos os estudos para a reversão das injúrias causadas pela aplicação de herbicidas nas culturas. Existe no mercado produtos com ação antiestressante que atuam no metabolismo reforçando-o para eventos adversos causadores do estresse abiótico em função dos seus componentes, denominados fisioativadores. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®] possam reduzir a fitotoxicidade causada à cana-de-açúcar causada pelo herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura. Foram conduzidos dois experimentos semelhantes, porém independentes, sendo um na condição de aplicação em pré-emergência e o outro na condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar, em cada área foi aplicado o herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹ e posteriormente foram aplicados três fisioativadores isolados sobre cada área que recebeu o herbicida, em duas doses, sendo eles: Crop⁺ (1 e 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 e 4 L ha⁻¹) ou Seven[®] (4 e 8 L ha⁻¹). Injúrias foram observadas após a aplicação do herbicida imazapique, logo a recuperação iniciou a partir dos 45 DAA para a condição em pré-emergência e aos 60 DAA em pós-emergência inicial. Aos 120 DAA a cultura estava isenta dos sintomas provocados pelo imazapique, independente da época de aplicação do herbicida ou do tratamento aplicado. Para o índice de clorofilas (SPAD), observou-se na condição de pré-emergência, que este foi prejudicado pela aplicação do herbicida em pré-emergência até os 21 DAA, entretanto a recuperação foi indiferente na presença ou ausência dos fisioativadores. Enquanto em pós-emergência inicial, aos 7 DAA, o fisioativador Seven[®] na menor dose, 4 L ha⁻¹ favoreceu a recuperação das plantas. Entretanto, aos 14 DAA as plantas já haviam recuperado o índice de clorofilas, indiferente do tratamento. Para a variável altura, em pré-emergência a aplicação do herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) não exerceu nenhuma influência na altura das plantas, já em pós-emergência inicial, aos 14 DAA, as plantas tiveram a altura prejudicada pela aplicação do imazapique, com ênfase para os tratamentos imazapique isolado, Crop⁺ (1 L ha⁻¹) e Seven[®] (4 L ha⁻¹). Entretanto, se recuperaram a partir dos 21 DAA, sem diferença entre os tratamentos. Ao observar a resposta do estresse metabólico, através da isoenzima α -esterase, em pré-emergência, a melhor recuperação foi através do tratamento com o fisioativador Crop⁺ na menor dose, 1 L ha⁻¹. Ainda em pré-emergência observou-se que o incremento na dose dos fisioativadores dificulta a recuperação das plantas. A melhor recuperação do estresse causado pelo imazapique aplicado em pós-emergência inicial foi realizada pelos fisioativadores Crop⁺ na dose de 2 L ha⁻¹, e o incremento na dose dos fisioativadores Foltron[®] e Seven[®] prejudica a recuperação das plantas. Os tratamentos com fisioativadores influenciaram a recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pela aplicação de imazapique em pré-emergência na seguinte ordem: Crop⁺ 2 L > Crop⁺ 1 L > Foltron[®] 2 L = Seven[®] 4 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L. Já em pós-emergência inicial, ocorreu na seguinte ordem: Crop⁺ 1 L = Foltron[®] 2 L > Crop⁺ 2 L = Foltron[®] 4 L = Seven[®] 4 L = Seven[®] 8 L. Ao final do experimento (120 DAA), em pré-emergência a altura média das plantas foi de 128,01 cm, enquanto em pós-emergência inicial foi de 147,49 cm. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida imazapique, na dose de 133 g ha⁻¹, na condição de aplicação em pré ou pós-emergência inicial.

Palavras-chave: Herbicida; Fisiologia; Estresse; α -esterase

4 PHYSIOACTIVATORS AND THE PHYTOOTOXICITY CAUSED BY IMAZAPIC IN THE SUGARCANE CROP

Abstract

The imazapic herbicide is commonly used in the cultivation of sugarcane in periods of drought, but it can cause injuries to the crop. There are few studies for reversing injuries caused by the application of herbicides to crops. There are products on the market with antistress action that act on the metabolism reinforcing it for adverse events that cause abiotic stress due to its components, called physioactivators. In this sense, the objective of this work was to verify the hypothesis that Crop⁺, Foltron[®] and Seven[®] physioactivators can reduce the phytotoxicity caused to sugarcane by the herbicide imazapic in the dose of 750 g ha⁻¹, when applied in pre or post-initial emergence of the crop. Two similar but independent experiments were conducted, one in the pre-emergence condition and the other in post-initial emergence condition of the sugarcane crop, in each area the imazapic herbicide was applied a dose of 133 g ha⁻¹ and subsequently three isolated physioactivators were applied over each area that received the herbicide, in two doses, namely: Crop⁺ (1 and 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 and 4 L ha⁻¹) or Seven[®] (4 and 8 L ha⁻¹). Injuries were observed after the application of the herbicide imazapic, soon the recovery started from 45 days after application DAA to the condition in pre-emergence and to 60 DAA in post-initial emergence. At 120 DAA, the crop was free from the symptoms caused by imazapic, regardless of the time of application of the herbicide or the treatment. For the green index (SPAD), it was observed in the pre-emergence condition, that it was impaired by the application of the herbicide in pre-emergence until 21 DAA, however the recovery was indifferent in the presence or absence of the physioactivators. While in post-initial emergence, at 7 DAA, the physioactivator Seven[®] in the lowest dose, 4 L ha⁻¹ favoured the recovery of plants. However, at 14 DAA the plants had already recovered the green index, regardless of the treatment. For the height variable, in pre-emergence the application of the herbicide imazapic (133 g ha⁻¹) had no influence on the height of the plants, already in post-initial emergence, at 14 DAA, the plants had their height impaired by the application of imazapic, with emphasis on the isolated imazapic, Crop⁺ (1 L ha⁻¹) and Seven[®] (4 L ha⁻¹) treatments. However, they recovered after 21 DAA, with no difference between treatments. When observing the metabolic stress response, through the isoenzyme α -esterase, in pre-emergence, the best recovery was through treatment with the physioactivator Crop⁺ in the lowest dose, 1 L ha⁻¹. Even in pre-emergence, it was observed that the increase in the dose of physioactivators hinders the recovery of plants. The best recovery from stress caused by post-initial emergence imazapic was performed by Crop⁺ physioactivator at a dose of 2 L ha⁻¹, and the increase in the dose of Foltron[®] and Seven[®] physioactivators impairs plant recovery. The treatments with physioactivators influenced the recovery of sugarcane from the stress caused by the application of imazapic in pre-emergence in the following order: Crop⁺ 2 L > Crop⁺ 1 L > Foltron[®] 2 L = Seven[®] 4 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L. In post-initial emergence, it occurred in the following order: Crop⁺ 1 L = Foltron[®] 2 L > Crop⁺ 2 L = Foltron[®] 4 L = Seven[®] 4 L = Seven[®] 8 L. At the end of the experiment (120 DAA), in pre-emergence the average height of the plants was 128.01 cm, while in post-initial emergence it was 147.49 cm. The variety of sugarcane CV0618 is tolerant to the herbicide imazapic, in the dose of 133 g ha⁻¹, in the condition of application in pre or post-initial emergence.

Keywords: Herbicide; Physiology; Stress abiotic; α -esterase

4.1 Introdução

O herbicida imazapique é tradicionalmente utilizado na cultura de cana-de-açúcar em períodos de seca, em função das características químicas inerentes à molécula, para controle de plantas daninhas de elevado impacto sobre a cultura e de difícil controle, como a corda-de-viola e o capim colônia; o herbicida atua sobre a enzima acetolactato sintase (ALS), inibindo a síntese de três aminoácidos essenciais, valina, leucina e isoleucina (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Os herbicidas são excelentes ferramentas no controle das plantas daninhas, entretanto, as variedades de cana-de-açúcar podem responder de forma diferenciada à essas moléculas, podendo causar fitotoxicidade à cultura, resultando em impactos negativos no rendimento final do cultivo (ARALDI et al., 2011).

Quando aplicados sobre plantas mais sensíveis, podem provocar sintomas como avermelhamento ou arroxamento basal da planta e nas nervuras abaxiais, podendo evoluir para necrose das nervuras e pecíolos (DODGE, 1989).

Adicionalmente, sabe-se que em função da interação que pode ocorrer entre planta e ambiente, o estresse pode interferir em menor desempenho no campo, com isso as pesquisas tendem a estudar os mecanismos fisiológicos dos vegetais, para selecionar produtos mais aptos à essas condições (CARLIN, 2009).

Nesse contexto, o estudo de técnicas que possam ser empregadas para amenizar a fitotoxicidade de herbicidas à cultura da cana-de-açúcar, visto que seu uso é primordial, podem contribuir para o bom manejo da cultura, pois ressalta-se ainda que o setor canavieiro carece de pesquisas nesse sentido.

Moléculas com características químicas que possam eliminar ou reduzir o estresse causado pelas moléculas herbicidas, são potenciais para suavizar essa problemática. Há disponível no comércio, produtos posicionados no mercado como antiestressantes, os quais possuem potencial para estudo acerca do tema, como exemplo dessas moléculas, existe os fisioativadores, que combinam bases como aminoácidos, biorreguladores, nutrientes e extratos de algas em sua formulação.

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores (Crop⁺®, Foltron® e Seven®), em função dos seus componentes, possam reduzir a fitotoxicidade à cana-de-açúcar causada pelo herbicida imazapique, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura.

4.2 Material e métodos

O experimento foi realizado a campo, em área comercial de cana-de-açúcar no município de Santa Bárbara d'Oeste – SP (22° 48' 57,4" S 47° 28' 28,1" O; 602 m de altitude), entre junho de 2019 e maio de 2020. Foram conduzidos dois experimentos independentes, com aplicação do herbicida imazapique na condição de pré e outro em pós-emergência inicial da cana-de-açúcar, em soqueira de segundo corte da variedade CV0618.

A dose adotada do imazapique foi de 133 g ha⁻¹, para as respectivas épocas de aplicação. Enquanto para os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven® foram consideradas as doses recomendadas em bula, e duas vezes a mesma. A dose do herbicida foi fundamentada na prática agrícola, na granulometria do solo (Tabela 4.1), bem como na recomendação pelos fabricantes (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Enquanto as doses dos fisioativadores foram estabelecidas conforme instruções de bula.

Tabela 4.1.: Características químicas e físicas da área onde foi instalado o experimento

Latossolo vermelho amarelo												
P	M.O.	pH	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	Argila	Areia	Silte
mg/dm ³	g/dm ³	CaCl ₂							%		g Kg ⁻¹	
14	15	6,3	0,10	3,32	1,39	1,3	4,81	6,15	78,18	245	616	138

Fonte: Laboratório Agrícola da unidade.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC) com oito tratamentos, os quais estão descritos abaixo, na Tabela 4.2, cada parcela foi constituída por cinco linhas de cana (1,50 m entre linhas) e 4 m de comprimento, perfazendo uma área de 24 m² por parcela. Considerando-se quatro repetições, cada experimento contou com 32 unidades experimentais, totalizando nas duas condições de aplicação 64 parcelas.

No experimento conduzido na condição de pré-emergência, aplicou-se o imazapique antes da emergência da cana, e 15 dias após aplicação (DAA) do herbicida aplicaram-se os fisioativadores nas doses pré-estabelecidas. Enquanto em pós-emergência inicial, o imazapique foi aplicado após a emergência da cana, na fase de brotação, e 2 DAA do herbicida aplicaram-se os fisioativadores, nas respectivas doses.

Tabela 4.2. Tratamentos adotados nos experimentos em pré ou pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	Dose	
	Herbicida	Fisioativador
1. Testemunha absoluta	0 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
2. Imazapique	133 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
3. Imazapique e Crop ⁺ ® (DOSE)	133 g ha ⁻¹	1,0 L ha ⁻¹
4. Imazapique e Crop ⁺ ® (2x DOSE)	133 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
5. Imazapique e Foltron® (DOSE)	133 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
6. Imazapique e Foltron® (2x DOSE)	133 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
7. Imazapique e Seven® (DOSE)	133 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
8. Imazapique e Seven® (2x DOSE)	133 g ha ⁻¹	8,0 L ha ⁻¹

Aplicaram-se ambos tratamentos com pulverizador costal de precisão, pressurizado por CO₂, acoplado a barra de seis pontas do tipo TeeJet 110.02 com indução de ar (TTI), posicionadas a 0,50 m do alvo, com consumo relativo de calda de 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação em pré-emergência as condições meteorológicas foram as seguintes: Temperatura 22 °C, UR 65,2 %, Vento 0,94 m s⁻¹, céu limpo, em 18 de junho de 2019. Já para a aplicação em pós-emergência inicial as condições foram: Temperatura 26 °C, UR 56,8 %, Vento 1,4 m s⁻¹, céu limpo, em 25 de junho de 2019. Durante o período de condução do experimento a temperatura média foi de 30,32 °C, e ocorreu uma precipitação de 35 mm.

Após a implantação dos tratamentos realizaram-se análises de fitotoxicidade, índice de clorofilas, altura das plantas, o perfil enzimático da isoenzima α -esterase e a colheita. As análises da fitotoxicidade causada pelo herbicida imazapique, foram efetuadas conforme o método proposto pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995), o qual é baseado numa escala de 0 a 100%, sendo 0% atribuído à ausência de sintomas causados pelos herbicidas e 100% para a morte das plantas. Efetuaram-se avaliações aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA para o experimento em pré-emergência, e aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA, para o experimento em pós-emergência inicial.

Analizou-se índice de clorofilas (SPAD), utilizando o clorofilômetro de campo Modelo Spad 502 Minolta, no terço médio da folha +1 em três plantas escolhidas ao acaso na área útil da parcela (três linhas centrais). Além disso determinou-se a altura das plantas medindo-se a distância do solo até a aurícula da folha +1 de três plantas escolhidos ao acaso na área útil da parcela. Aos 310 DAE, realizou-se a colheita de todos os colmos em 3 m de sulco, em um ponto dentro área útil de cada parcela, pesou-se o feixe, e fez-se a extrapolação para a obtenção da produção de colmos (t ha⁻¹). Os dados foram submetidos a análise de variância por meio do

teste F, e quando significativo para os tratamentos, empregou-se o teste de Tukey, com 5% de probabilidade, para os dois experimentos.

Também realizou-se aos 45 DAA, para ambos experimentos, a análise da isoenzima α -esterase, através de eletroforese, a fim de construir o perfil isoenzimático da mesma sob condições de estresse causado pelo herbicida imazapique, bem como suas respectivas respostas quando tratadas com fisioativadores. As análises da isoenzima α -esterase foram efetuadas no Centro de Cana, pertencente ao Instituto Agrônomo - IAC, Ribeirão Preto – SP (21° 12' 28,29" S, 47° 52' 23,30" O; 621 m de altitude). Para tanto, em cada parcela escolheu-se um colmo aleatório na área útil e coletou-se o terço médio da folha +1. As repetições foram agrupadas formando uma amostra composta para cada tratamento, dentro de cassetes tipo histológicos e acondicionadas em caixa de isopor com gelo para transporte do campo até o laboratório, no qual as amostras ficaram preservadas em ultra freezer (-80 °C) para manter-se a integridade das enzimas, até o processamento das análises.

Para construção do perfil isoenzimático da α -esterase por meio de eletroforese, inicialmente foi macerado com auxílio de nitrogênio líquido, 0,2 g de tecido foliar de cada amostra composta, em cadinho de porcelana individual. Em seguida, cada macerado foi acondicionado em Eppendorf, e adicionado 0,04 g de PVP 10 (polivinilpolipirrolidona) para adsorver e inativar fenóis que pudessem oxidar a amostra. Pois, segundo Alfenas (2006), na maceração para análise com isoenzimas, pode haver interação dos compostos fenólicos com as proteínas, inativando as enzimas ou alterando a mobilidade destas no gel de corrida para a formação das bandas. Também foi adicionado 0,8 mL da solução tampão (fosfato de sódio bibásico 0,6 g; sacarose 7g; PVP-10 2,56 g; L-ácido ascórbico 100 mg; bissulfito de sódio 50 mg; borato de sódio 50 mg; β -mercaptoetanol 0,2 mL; polietilenoglicol 1 g; água deionizada 100 mL) os quais possuem função antioxidante e quelatizante para diminuir interferência de compostos secundários à amostra (adaptado de ALFENAS et al., 2006). Logo após o extrato adquirido, esse foi centrifugado por dois minutos a 1500 rpm, e o sobrenadante obtido, foi transferido para um Eppendorf e acondicionado no freezer a -20 °C, para manter intactas as propriedades da solução obtida.

É fundamental que todas as etapas para obtenção do perfil isoenzimático sejam realizadas à baixas temperaturas e as amostras estejam resfriadas por gelo constantemente. Segundo Almeida e Crócomo (1994), pode ocorrer proteólise das enzimas, caso as etapas sejam morosas, então se faz necessário ter agilidade para realização das etapas. Posteriormente, fez-se a precipitação das enzimas através da poliacrilamida-bis, que permite maior resolução das bandas em função da ampla variação controlada do diâmetro dos seus poros. Para separação da

isoenzimas foi utilizado uma cuba vertical de eletroforese imersa em solução tampão de corrida elétrica tris glicina (0,05 M, pH 8,0), contendo gel de separação poliacrilamida-bis não desnaturante, em duas concentrações, na posição inferior concentrado a 10 % e a 5 % na altura superior (LAEMMILI, 1970). Após a colocação do gel na cuba, na parte superior foi colocado um pente de corrida com 30 pocinhos, e após viragem da solução líquida em estado gelatinoso, o pente foi retirado com muito cuidado, e os pocinhos formados foram preenchidos com 30 μ L do extrato de tecido foliar, previamente preparado. Em seguida, a cuba de corrida foi colocada dentro de um ambiente resfriado (4 °C), para proteção das enzimas à desnaturação, a qual foi calibrada com voltagem de 200 volts, e lá permaneceu por volta de dez horas para separação e demarcação das bandas (ALFENAS et al., 2006).

Após a corrida do gel, a cor que demarca as bandas precisa ser intensificada para visualização a olho nu. Para isso, previamente fora preparada e quantificada uma alíquota de 100 mL da solução tampão 0,1 M (pH 6,2) composta por 81,5 mL de solução A: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 0,1M (4,14 g / 300 mL) + 18,5 mL de solução B: Na_2HPO_4 a 0,1 M (4,26 g / 300 mL) acrescida dos reagentes colorantes α -naftil acetato e fast blue RR. Esses foram dissolvidos na seguinte ordem, 0,02 g de α -naftil acetato em 500 μ L de acetona, agitado e colocado posteriormente sobre 80 mL de solução tampão fosfato, em seguida espera-se aproximadamente 15 minutos e então acrescenta-se 20 mL da solução tampão fosfato, acrescida de 0,018 g de fast blue RR (PASTEUR et al., 1988).. Posteriormente, o recipiente contendo a solução de coloração e o gel foram colocados no agitador tipo “Rocking Platform” Bio Rad, em ambiente escuro, a 20 rpm até o aparecimento de bandas (adaptado de BRUNE; ALFENAS; JUNGHANS, 2006).

Após a coloração, o gel foi lavado cuidadosamente com água deionizada, e colocado em solução secadora, a qual reduzirá parcialmente o tamanho da placa de gel, favorecendo a resolução das bandas, e posteriormente foi envolto por papel celofane umedecido em solução secadora, e levado ao aparelho de secagem forçada “Gel Dryer Model 583” da Bio Rad na configuração PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) por 40 minutos a 80 °C. Esse processo desidrata o gel e permite que o mesmo seja guardado por muito tempo.

Os géis obtidos foram escaneados e as imagens geradas foram analisadas pelo software ImageJ, obtendo-se a somatória da área ocupada pelas bandas de cada perfil isoenzimático em cada tratamento, bandas mais intensas é um indicativo de maior quantidade de enzimas ligadas ao seu substrato, e consequentemente maior atividade destas (ABRÀMOFF et al. 2004). Para obter-se uma comparação prática, adotou-se uma margem de 5% sobre o padrão da testemunha

absoluta, nos quais os padrões enzimáticos fora da margem foram considerados diferentes entre si.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Condição de aplicação em pré-emergência

Fitotoxicidade

Aos 7 DAA, todas as plantas estavam com sintomas provocados pelo herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹ (Tabela 4.3), sendo que foi possível observar sintomas como arroxamento internerval e na base das plantas. Para a aplicação do herbicida imazapique em pré-emergência, observou-se que aos 21 DAA, os tratamentos com fisioativadores estavam semelhantemente intoxicados comparados ao tratamento que recebeu aplicação apenas do herbicida. Logo, todos de forma similar diferiram da testemunha absoluta.

Tabela 4.3. Porcentagem de injúrias causadas à cultura de cana-de-açúcar após aplicação do herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, em condições de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	0,00 a	0,00 a	0,00	0,00	0,00
Imazapique	8,25 b	3,25 ab	1,25	0,75	0,00
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	7,25 b	5,00 b	1,00	0,25	0,00
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	11,00 b	6,50 b	2,50	2,00	0,00
Imazapique + Foltron® 2 L	7,75 b	3,50 ab	0,50	0,50	0,00
Imazapique + Foltron® 4 L	10,50 b	6,25 b	1,75	1,00	0,00
Imazapique + Seven® 4 L	11,00 b	4,75 b	1,50	1,25	0,00
Imazapique + Seven® 8 L	9,25 b	4,25 b	0,50	0,50	0,00
F_{trat}	8,81**	4,51**	0,82 ^{NS}	1,29 ^{NS}	0,00 ^{NS}
CV (%)	18,39	23,40	38,53	28,74	0,00
DMS	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x + 1)}$; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Aos 28 DAA, pode-se observar uma evolução de desintoxicação das plantas tratadas com Foltron® na dose de 2 L ha⁻¹. Entretanto, estatisticamente esse foi semelhante a testemunha, mas também se igualava aos demais tratamentos. A partir dos 45 DAA todos os tratamentos se igualaram à testemunha em relação à fitotoxicidade causada pelo herbicida imazapique (133 g

ha⁻¹). Aos 120 DAA, as plantas de todos os tratamentos estavam completamente sadias, sem injúrias. Azania, Casagrande e Rolim (2001), observaram resultados semelhantes, ao conduzirem experimento com imazapique nas doses de 73,5; 98,0 e 122,5 g ha⁻¹, causando lesões nas fases iniciais de desenvolvimento, com total recuperação aos 100 DAA.

Índice SPAD

No índice SPAD, mensurado na condição de aplicação de pré-emergência aos 21 DAA (Tabela 4.4), todos os tratamentos foram semelhantes a testemunha, como exceção das parcelas tratadas com Seven[®] na maior dose (8 L ha⁻¹), que foi superior a todos os tratamentos. A partir dos 28 DAA, todos os tratamentos se assemelharam à testemunha, logo houve um auge em todos os tratamentos até a última data de análise aos 120 DAA. Ao final das análises, aos 120 DAA o índice SPAD médio foi de 36,59. Dos 21 DAA aos 120 DAA, houve aumento de 58,33 % no índice SPAD, dados baseados na testemunha absoluta.

Sendo assim, pode-se afirmar que o herbicida imazapique não afetou o índice de clorofilas da cultura, isso é coerente, pois o mesmo não atua sobre a síntese de clorofila e sim na inibição de aminoácidos (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Tabela 4.4. Índice de clorofilas (SPAD) mensurado na cultura de cana-de-açúcar previamente tratadas com o herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	22,61 b	30,11	31,40	36,65	35,80
Imazapique	23,10 ab	27,40	32,11	34,41	36,49
Imazapique + Crop ⁺ 1 L	23,43 ab	27,40	31,54	34,77	34,18
Imazapique + Crop ⁺ 2 L	25,20 ab	28,51	34,75	35,10	37,46
Imazapique + Foltron [®] 2 L	25,12 ab	29,54	33,64	35,77	36,61
Imazapique + Foltron [®] 4 L	27,14 ab	30,64	34,81	35,00	37,39
Imazapique + Seven [®] 4 L	28,24 ab	30,84	32,92	32,97	37,14
Imazapique + Seven [®] 8 L	28,55 a	29,69	36,72	38,37	37,64
F _{trat}	3,85**	2,77 ^{NS}	1,78 ^{NS}	1,21 ^{NS}	1,12 ^{NS}
CV (%)	9,34	5,57	9,12	8,23	5,92
DMS	5,63	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Altura

Para as análises realizadas em pré-emergência com o herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹ (Tabela 4.5), observa-se que nenhum dos tratamentos, seja com herbicida isolado ou com a adição de fisioativadores influenciaram na altura da cana-de-açúcar do início ao fim do experimento (21 a 120 DAA). Ao final do experimento (120 DAA), a altura média das plantas foi de 128,01 cm.

Tabela 4.5. Altura (cm) da cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) em pré-emergência e fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, avaliada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	41,55	47,05	58,88	74,30	134,47
Imazapique	42,00	45,24	54,91	67,33	127,08
Imazapique + Crop ⁺ 1 L	41,58	41,83	53,66	67,66	133,91
Imazapique + Crop ⁺ 2 L	48,25	46,74	55,82	68,91	124,99
Imazapique + Foltron [®] 2 L	41,42	46,33	56,33	66,33	116,91
Imazapique + Foltron [®] 4 L	45,75	47,08	60,41	67,25	128,50
Imazapique + Seven [®] 4 L	51,58	45,74	60,24	65,00	129,33
Imazapique + Seven [®] 8 L	40,17	45,66	61,74	72,58	128,92
F_{trat}	1,09 ^{NS}	0,47 ^{NS}	1,04 ^{NS}	0,54 ^{NS}	0,53 ^{NS}
CV (%)	17,66	10,94	10,03	12,58	11,84
DMS	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos respectivos aos números apresentados nos histogramas da α -esterase estão demonstrados abaixo na Tabela 4.6. A somatória de áreas de bandas na testemunha nunca será zero, visto que a isoenzima α -esterase atua sobre estresses abióticos em geral, porém quando submetidas à herbicidas, sua atividade é acentuada. Então, o padrão (100%) dessa análise é a testemunha absoluta, e os demais tratamentos são comparados a esta, os quais são considerados diferentes quando a margem de diferença é de no mínimo 5% entre eles.

Tabela 4.6. Tratamentos e respectiva identificação numérica, analisados para construção do perfil isoenzimático da α -esterase, adotados nos experimentos em pré e pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste/ Ribeirão Preto, 2019.

NUMERAÇÃO	TRATAMENTOS
-----------	-------------

1	Testemunha absoluta
2	Testemunha herbicida (imazapique a 133 g ha ⁻¹)
3	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 1 L ha ⁻¹
4	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 2 L ha ⁻¹
5	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Foltron® 2 L ha ⁻¹
6	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Foltron® 4 L ha ⁻¹
7	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Seven® 4 L ha ⁻¹
8	Imazapique (133 g ha ⁻¹) e Seven® 8 L ha ⁻¹

Analisando-se os histogramas representativos do perfil enzimático da α -esterase obtido através de eletroforese, observa-se que a aplicação do herbicida imazapique na condição de pré-emergência, na dose de 133 g ha⁻¹, submeteu a cultura de cana-de-açúcar ao estresse, desencadeando processos metabólicos de defesa do vegetal, induzindo a planta à superexpressão da α -esterase para aliviar o estresse causado (Figura 4.1). Segundo Mittler (2002), a α -esterase atua sobre o alívio do estresse oxidativo, regulando os níveis de O₂ e H₂O₂, diminuindo a ação tóxica desses compostos às plantas.

Pode-se observar que a adição dos fisioativador Crop⁺® na menor dose, 1 L ha⁻¹, não diferiu do tratamento com o herbicida, o que mostra que na condição de pré-emergência como o fisioativador foi aplicado somente 15 DAA, observa-se que o mesmo foi afetado pela aplicação do herbicida imazapique e a dose de 1 L ha⁻¹ não foi suficiente para suavizar o estresse causado pelo imazapique. Os tratamentos com Foltron® demonstraram interação negativa com o imazapique, reduzindo a expressão do perfil isoenzimático α -esterase, o que reflete em maior dificuldade em recuperar-se do estresse causado pelo herbicida.

O tratamento com o fisioativador Crop⁺® na maior dose (2 L ha⁻¹) foi aquele que mais se assemelhou à testemunha absoluta, ou seja, metabolicamente este já havia degradado os metabólitos oriundos da aplicação do herbicida, alcançando o equilíbrio fisiológico. Pois, nessa data observa-se que em relação à testemunha absoluta, estas plantas produziram apenas 6,25% de enzimas a mais que a testemunha absoluta.

Para os fisioativadores Foltron® e Seven®, o incremento na dose do produto interferiu na síntese da isoenzima α -esterase, afetando negativamente a recuperação das plantas tratadas, com destaque para o fisioativador Foltron®, pois as plantas nessa condição produziram em torno de metade da α -esterase produzida até mesmo na testemunha absoluta, ou seja essas plantas ficaram vulneráveis ao estresse causado pelo herbicida, mas também ao estresse oriundo do meio como temperatura, ventos, estresse hídrico, e afins. Segundo Devine, Duke e Fedtke, (1993), diversos e complexos processos bioquímicos ocorrem nas plantas após a chegada do

herbicida no alvo primário, ativando processos do metabolismo secundário, o que dificulta correlacionar os resultados do metabolismo primário com o metabolismo secundário.

Figura 4.1. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pré-emergência com o herbicida imazapique (133 g ha^{-1}) e os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

Produção de colmos

Verificou-se nesse experimento que todos os tratamentos tiveram produção de colmos similares à testemunha, os quais não afetaram ou não propiciaram incremento de produtividade da cultura de cana-de-açúcar, quando submetidas à aplicação do herbicida imazapique (133 g ha^{-1}) na condição de pós-emergência inicial (Tabela 4.7). Obara et al. (2015), observaram resultados similares quando aplicaram o herbicida imazapique ($133,75 \text{ g ha}^{-1}$) + imazapyr ($43,75 \text{ g ha}^{-1}$) associado com os herbicidas ametrina (2400 g ha^{-1}), clomazone (1200 g ha^{-1}), hexazinone (225 g ha^{-1}), isoxaflutole (75 g ha^{-1}), metribuzin (1440 g ha^{-1}) ou tebuthiuron (750 g ha^{-1}) na cultura da cana, variedade CTC 14, na condição de pré-emergência.

Tabela 4.7. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida imazapique (133 g ha^{-1}) em pré-emergência e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	90,13
Imazapique	87,88
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	89,92
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	87,58
Imazapique + Foltron [®] 2 L	87,54
Imazapique + Foltron [®] 4 L	88,00
Imazapique + Seven [®] 4 L	88,08
Imazapique + Seven [®] 8 L	87,88
F_{trat}	3,04 ^{NS}
CV (%)	1,34
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

4.3.2 Condição de aplicação em pós-emergência inicial

Fitotoxicidade

Na condição de pós-emergência inicial, aos 7, 14 e 21 DAA (Tabela 4.8), notou-se sintomas de fitotoxicidade semelhantes entre os tratamentos com herbicida isolado e fisioativadores, diferindo da testemunha absoluta. Observou-se um aclave na fitotoxicidade dos 7 para os 14 DAA, tempo necessário para a absorção e o pico na manifestação total da fitotoxicidade. E um declínio na fitotoxicidade dos 14 para os 21 DAA, em todos tratamentos, por metabolização natural do herbicida pela cana-de-açúcar.

Aos 28 DAA, observa-se que as plantas tratadas com Crop⁺® na dose de 1 L ha⁻¹, já estavam recuperadas da fitotoxicidade, igualando-se à testemunha. Enquanto os demais tratamentos possuíam injúrias de forma similar, porém mais atenuadas quando comparadas aos 14 DAA. Aos 45 DAA as parcelas tratadas com Foltron[®] na dose de 4 e 8 L ha⁻¹ igualaram-se à testemunha absoluta, diferindo dos demais tratamentos. Nessa data, observa-se que os tratamentos que se assemelharam à testemunha foram os com o fisioativador Seven[®], em ambas as doses, 4 e 8 L ha⁻¹. Ainda aos 60 DAA eram visíveis sintomas causados pelo herbicida imazapique, principalmente nas parcelas que receberam as maiores doses dos fisioativadores Foltron[®] e Seven[®].

Tabela 4.8. Porcentagem de injúrias causadas à cultura de cana-de-açúcar após aplicação do herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron[®] e Seven[®], em duas

doses, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha absoluta	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00
Imazapique	12,50 b	14,25 b	9,00 b	3,50 b	4,25 bc	1,25 ab	0,00
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	7,75 b	12,25 b	8,25 b	2,75 ab	3,00 bc	1,25 ab	0,00
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	10,50 b	19,75 b	11,25 b	4,25 b	4,75 c	1,00 ab	0,00
Imazapique + Foltron [®] 2 L	9,75 b	20,00 b	9,50 b	4,00 b	5,00 c	1,25 ab	0,00
Imazapique + Foltron [®] 4 L	10,25 b	20,00 b	9,50 b	5,00 b	4,25 bc	1,75 b	0,00
Imazapique + Seven [®] 4 L	9,00 b	18,50 b	9,50 b	3,00 b	2,00 abc	0,75 ab	0,00
Imazapique + Seven [®] 8 L	10,00 b	14,00 b	8,75 b	3,25 b	1,50 ab	2,00 a	0,00
F_{trat}	13,20**	21,94**	16,85**	4,48**	8,01**	4,39**	0,0 ^{NS}
CV (%)	15,24	13,40	13,18	20,41	18,14	14,66	0,00
DMS	-	-	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x + 1)}$; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Já aos 120 DAA todas as parcelas estavam igualmente recuperadas da fitotoxicidade causada pela aplicação do herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹. Azania, Casagrande e Rolim (2001), verificaram que a fitotoxicidade causada por herbicidas é pronunciada nos estádios iniciais da cultura, sendo reduzida com o crescimento e desenvolvimento das plantas, com recuperação total das plantas aos 100 DAA, sem que houvesse danos no rendimento produtivo e qualidade da matéria-prima.

Índice de clorofilas (SPAD)

Em pós-emergência inicial, para o índice SPAD aos 7 DAA (Tabela 4.9) a maioria dos tratamentos diferiram da testemunha absoluta, para baixo; com exceção do tratamento Seven[®] na menor dose (4 L ha⁻¹), que se assemelhou à testemunha. Os resultados estão em concordância com Zera et al. (2011) que verificaram que as plantas tratadas com imazapique na dose de 147 g ha⁻¹, mostraram valores de índice SPAD inferiores à testemunha absoluta.

Aos 14 e 21 DAA o índice de clorofilas dos tratamentos oscilaram, enquanto alguns aumentaram o índice de clorofilas, outros diminuíram, mas todos se assemelharam à testemunha absoluta, sem diferenciação entre os tratamentos. Aos 28 DAA, todos os tratamentos se igualaram a testemunha, entretanto, houve a diferenciação entre os tratamentos com fisioativador, cujo índice SPAD das plantas tratadas com o Crop⁺® na menor dose (1 L ha⁻¹) foi superior ao Foltron[®] na menor dose (2 L ha⁻¹). Entretanto, a partir dos 45 DAA, o índice de

clorofilas permaneceu estável até a última análise (120 DAA), e todos tratamentos se assemelharam à testemunha.

Tabela 4.9. Índice de clorofilas (SPAD) mensurado na cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	31,08 a	22,60	27,73	28,70 ab	33,49	32,42	34,00
Imazapique	20,89 b	24,41	26,43	28,28 ab	33,66	30,18	33,77
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	31,68 b	25,86	30,22	32,13 a	33,10	30,72	36,24
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	23,28 b	23,77	25,60	27,56 ab	32,51	30,72	36,26
Imazapique + Foltron [®] 2 L	20,20 b	23,26	25,69	26,42 ab	33,47	32,49	35,69
Imazapique + Foltron [®] 4 L	20,56 b	24,88	24,24	24,29 b	31,90	29,55	36,12
Imazapique + Seven [®] 4 L	25,01ab	20,87	26,21	28,52 ab	32,57	31,61	33,69
Imazapique + Seven [®] 8 L	22,86 b	24,18	28,24	29,63 ab	32,08	31,12	35,09
F_{trat}	6,56**	1,06 ^{NS}	1,00 ^{NS}	2,55*	0,34 ^{NS}	0,45 ^{NS}	0,76 ^{NS}
CV (%)	12,01	12,48	13,89	10,17	7,09	9,93	7,40
DMS	6,60	-	-	6,80	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Altura

Em pós-emergência inicial, aos 7 DAA, nenhuma interferência foi exercida pelos tratamentos sobre a altura das plantas, todos os tratamentos igualaram à testemunha. Aos 14 DAA, nota-se que os tratamentos com aplicação isolada de imazapique (133 g ha⁻¹) e Seven[®] na menor dose (4 L ha⁻¹) (Tabela 4.10), exerceram influência negativa sobre a altura das plantas em relação a testemunha absoluta, porém não diferiram dos demais tratamentos.

Porém a partir dos 21 DAA até o final das análises, aos 120 DAA, estabilizou-se a altura das plantas, as igualando à testemunha, sem distinção dos tratamentos. Aos 120 DAA a altura média das plantas foi de 147,49 cm. Estudando a tolerância de diversas variedades de cana-de-açúcar a diversos herbicidas, Zera et al. (2011) ressaltam que é comum ocorrer a diminuição na altura das plantas nas primeiras avaliações e a posterior recuperação delas.

Tabela 4.10. Altura (cm) da cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, avaliada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	51,00	67,92 a	49,41	51,08	59,33	73,67	149,08
Imazapique	47,31	54,16 b	40,41	47,07	51,00	64,25	151,66
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	53,83	58,33 ab	46,99	46,24	53,58	69,00	158,41
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	53,33	57,00 b	39,74	47,66	52,16	59,08	140,00
Imazapique + Foltron® 2 L	52,16	58,16 ab	36,66	46,50	53,50	59,67	144,25
Imazapique + Foltron® 4 L	51,08	58,33 ab	40,66	46,66	56,58	61,33	145,75
Imazapique + Seven® 4 L	51,75	53,58 b	32,08	46,66	51,50	59,58	133,25
Imazapique + Seven® 8 L	54,66	60,66 ab	39,83	51,50	54,66	60,91	157,49
F_{trat}	0,79 ^{NS}	3,98**	2,46 ^{NS}	0,35 ^{NS}	1,21 ^{NS}	2,25 ^{NS}	2,29 ^{NS}
CV (%)	9,83	7,62	17,05	15,08	9,40	11,08	7,66
DMS	-	10,58	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos respectivos aos números demonstrados nos histogramas da α -esterase quando a cultura de cana-de-açúcar foi submetida à aplicação do herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) foram mostrados anteriormente na Tabela 4.6. Em pós-emergência inicial, observa-se que houve estresse causado pelo herbicida imazapique isolado, induzindo a expressão da isoenzima α -esterase para recuperação e equilíbrio do bom funcionamento fisiológico.

Ao aplicar os fisioativadores, todos contribuíram positivamente para a síntese de α -esterase, porém, quando se fez o incremento da dose dos mesmos, a síntese de α -esterase foi elevada, ou seja a planta estava demandando maior atividade da α -esterase para alívio do estresse, isso porque haviam muitos compostos para serem degradados, aqueles oriundos da aplicação do herbicida e também os originários da aplicação dos fisioativadores, o que permite dizer que o aumento da dose é desnecessário e prejudicial para a recuperação do estresse causado pelo herbicida sulfentrazone na dose de 133 g ha⁻¹.

Nesse sentido, os tratamentos que mais influenciaram a recuperação das plantas foram aqueles com Crop⁺®, Foltron, nas menores doses, 1 e 2 L ha⁻¹, respectivamente. Pois, na presença destes, não foi necessária a superexpressão da α -esterase para detoxificação da cana-de-açúcar.

Figura 4.2. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pós-emergência inicial com o herbicida imazapique (133 g ha^{-1}) e os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

Produção de colmos

De acordo com resultados obtidos na colheita dos colmos (Tabela 4.11), nota-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Nesse sentido, ressalta-se que a produção de colmos analisada no experimento que recebeu a aplicação de herbicida em pós-emergência inicial, não teve sua produção final prejudicada. E a aplicação dos fisioativadores não influenciou sobre a produção dos colmos. Resultados semelhantes foram encontrados por Azania, Rolim e Casagrande (2001), que ao aplicarem $122,5 \text{ g ha}^{-1}$ do herbicida imazapique na condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar variedade RB835089, os quais observaram injúrias na fase inicial da cultura, entretanto aos 100 DAA a cultura já havia se recuperado, o que não causou danos à produtividade ou qualidade da matéria-prima.

Esses dados asseguram o posicionamento da molécula para a possibilidade de uso na aplicação em pós-emergência inicial da cana-de-açúcar, pois esta é metabolizada ao longo do ciclo pela cultura.

Tabela 4.11. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida imazapique (133 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	88,04
Imazapique	89,67
Imazapique + Crop ⁺ ® 1 L	90,13
Imazapique + Crop ⁺ ® 2 L	87,96
Imazapique + Foltron® 2 L	88,13
Imazapique + Foltron® 4 L	88,33
Imazapique + Seven® 4 L	87,75
Imazapique + Seven® 8 L	89,58
F_{trat}	1,62 ^{NS}
CV (%)	1,65
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

4.4 Considerações gerais

Quando aplicado em pré-emergência, observa-se que no início do ciclo da cana-de-açúcar, injúrias provocadas pelo herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹, entretanto, com recuperação a partir dos 45 DAA, e em pós-emergência inicial, aos 60 DAA. Aos 120 DAA a cultura estava isenta dos sintomas provocados pelo imazapique, independente da época de aplicação do herbicida.

O fisioativador Foltron® na menor dose, 2 L ha⁻¹, colaborou para a recuperação da fitotoxicidade visual do imazapique aplicado em pré-emergência aos 28 DAA, porém sem diferença em relação aos demais tratamentos, nas avaliações posteriores.

O índice de clorofilas, mensurado pelo SPAD, foi prejudicado pela aplicação do herbicida imazapique em pré-emergência até os 21 DAA, entretanto a recuperação foi indiferente na presença ou ausência dos fisioativadores. Em pós-emergência inicial, aos 7 DAA, o fisioativador Seven® na menor dose, 4 L ha⁻¹ favoreceu a recuperação das plantas. Entretanto, 14 DAA as plantas já haviam recuperado o índice de clorofilas, sem influência dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron® ou Seven®.

Em pré-emergência, a aplicação do herbicida imazapique na dose de 133 g ha⁻¹ não exerceu nenhuma influência na altura das plantas. Em pós-emergência inicial, aos 14 DAA, as plantas tiveram a altura prejudicada pela aplicação do imazapique, com ênfase para tratamentos

imazapique isolado, Crop⁺® e Seven® na menor dose, 1 e 4 L ha⁻¹, respectivamente. Entretanto, se recuperaram a partir dos 21 DAA, sem interferência dos tratamentos.

A melhor recuperação do estresse causado pelo imazapique aplicado em pré-emergência foi realizada pelo fisioativador Crop⁺® na maior dose, 2 L ha⁻¹. Em pré-emergência o incremento na dose de fisioativador Foltron® e Seven® prejudicou a recuperação das plantas. A melhor recuperação do estresse causado pelo imazapique aplicado em pós-emergência inicial foi realizada pelo fisioativador Crop⁺® e Foltron® ambos nas menores doses, ou seja, em pós-emergência inicial o incremento na dose de fisioativador prejudica a recuperação das plantas.

Os fisioativadores influenciaram a síntese da isoenzima α -esterase para a recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pela aplicação de imazapique em pré-emergência na seguinte ordem: Crop⁺® 2 L > Crop⁺® 1 L > Foltron® 2 L = Seven® 4 L = Seven® 8 L > Foltron® 4 L. Já em pós-emergência inicial, os fisioativadores influenciaram a síntese da isoenzima α -esterase para a recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pela aplicação de imazapique na seguinte ordem: Crop⁺® 1 L = Foltron® 2 L > Crop⁺® 2 L = Foltron® 4 L = Seven® 4 L = Seven® 8 L. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida imazapique, na dose de 133 g ha⁻¹, na condição de aplicação em pré ou pós-emergência inicial.

Referências

- ABRÀMOFF, M.D.; MAGALHÃES, P.J.; RAM, S.J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics international**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.
- ALFENAS, A. C.; BRUNE, W.; OLIVEIRA, J. R.; ALONSO, S. K.; SCORTICHINI, S. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A.C. (Eds.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Editora UFV, Viçosa, 2006. p. 85-114.
- ALMEIDA, M.; CROCOMO, O. J. Organografia de dez cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). II. Folha. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 69, n.2, p. 161-82, 1994.
- ARALDI, R.; VELINI, E. D.; GIROTTO, M., CARBONARI, C. A., SAMPAIO, T. F.; TRINDADE, M. L. B. Relação entre o consumo de água e a absorção de herbicidas em plantas daninhas de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.29, n.esp., p.1045-1051, 2011.
- AZANIA, C. A. M.; CASAGRANDE, A. A.; ROLIM, J. C. Seletividade de imazapic às soqueiras de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Planta Daninha**, v.19, p.345-350, 2001.
- BELUCI, L. R.; VITORINO, R.; AZANIA, C. A. M.; AZANIA, A. P. A. M.; TORTORELLI, H. F. Utilização do perfil isoenzimático como ferramenta na avaliação da seletividade de herbicidas em cana-de-açúcar. **Nucleus**, v.12, n.2, 2015.

BRUNE, W.; ALFENAS, A. C.; JUNGHANS, T. G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. p.202-328.

CARLIN, S. D. **Mecanismos fisiológicos da cana-de-açúcar sob efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo**. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

DEVINE, M.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. **Physiology of herbicide action**. PTR Prentice Hall, New Jersey, 1993, 441p.

DODGE, A. D. **Herbicides and plant metabolism**. School of Biological Sciences, University of Bath, UK, p. 113-133, 1989.

LAEMMILI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680–685, 1970.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.

OBARA, F. E. B.; BRUNHARO, C. A. C. G.; MELO, M. S. C.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Seletividade da associação dos herbicidas imazapic e imazapyr aplicada em diferentes estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar. **Nucleus**, v.12, n.1, 2015.

PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. **Practical isoenzyme genetics**. New York, Ellis Horwood, 1988, 215p.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 7^a ed. Londrina, 764p, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. SBCPD, Londrina, 1995, 42 p.

ZERA, F. S., AZANIA, C. A. M., SCHIAVETTO, A. R., LORENZATO, C. M.; AZANIA, A. A. P. M. Tolerância de diferentes cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) a herbicidas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 3, p. 591-599, 2011.

5 FISISIOATIVADORES E A FITOTOXICIDADE CAUSADA POR CLOMAZONE NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

A cultura de cana-de-açúcar, apesar de rústica pode sofrer injúrias pelos herbicidas aplicados nas plantas em época de seca, como o clomazone, podendo interferir negativamente sobre o desempenho da cultura. Logo, ainda são desconhecidas medidas que possam reverter ou minimizar os danos causados por esta molécula tão importante no cultivo. Contudo, vem surgindo no mercado produtos com efeito antiestressantes às plantas sob estresses abióticos, os fisioativadores, em função da sua composição, porém sua ação sobre as injúrias causadas pelos herbicidas ainda é desconhecida. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] e Seven[®], em função dos seus componentes, possam reduzir a fitotoxicidade causada à cana-de-açúcar pelo herbicida clomazone, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura. Foram conduzidos dois experimentos semelhantes, porém independentes, sendo um na condição de aplicação em pré-emergência e o outro na condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar, em cada uma das áreas foi aplicado o herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ e posteriormente foram aplicados três fisioativadores isolados sobre cada área que recebeu o herbicida, em duas doses, sendo eles: Crop⁺ (1 e 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 e 4 L ha⁻¹) ou Seven[®] (4 e 8 L ha⁻¹). A fitotoxicidade causada pelo herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, é acentuada na fase inicial de desenvolvimento da cultura, aos 21 DAA para a condição de pré-emergência e aos 45 DAA para pós-emergência inicial. Nenhum dos fisioativadores, Crop⁺, Foltron[®] ou Seven[®], em ambas as doses, reduziram a fitotoxicidade visual causada pelo herbicida clomazone. A aplicação do herbicida clomazone afetou os pigmentos fotossintéticos quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial. O índice SPAD foi recuperado mesmo nas plantas tratadas apenas com o herbicida clomazone, entretanto, a recuperação se deu aos 14 DAA em pós-emergência inicial, e aos 28 DAA quando aplicado em pré-emergência. Os fisioativadores Crop⁺, Foltron[®] ou Seven[®] não superaram os valores do índice SPAD da testemunha absoluta, em nenhuma das avaliações. Para a variável altura, quando aplicado em pré-emergência, o herbicida clomazone na dose 960 g ha⁻¹ não afetou a altura das plantas. O uso de fisioativadores não incrementou a altura da cana-de-açúcar submetida ao herbicida clomazone. Quando aplicado em pós-emergência inicial o herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, interferiu negativamente sobre a altura das plantas, no início do ciclo, porém logo a partir dos 21 DAA se normalizou. Quando analisado o estresse metabólico, aos 45 DAA, através da expressão da isoenzima α -esterase, verificou-se que as plantas que receberam o tratamento com o fisioativador Crop⁺ e Seven[®], nas menores doses 1 e 4 L ha⁻¹, destacaram-se na recuperação do estresse causado pelo herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) aplicado em pré-emergência da cultura. Enquanto em pós-emergência inicial, o tratamento com o fisioativador Foltron na menor dose, 2 L ha⁻¹, promoveu a melhor recuperação do estresse causado pelo herbicida clomazone. Em nível de recuperação metabólica do estresse abiótico causado pelo herbicida na condição de pré-emergência, os tratamentos ocuparam a seguinte ordem: Seven[®] 4 L = Crop⁺ 1 L > Seven[®] 8 L > Crop⁺ 2 L > 2 L = Foltron[®] 4 L. Enquanto em pós-emergência inicial, a ordem de recuperação foi: Foltron[®] 2 L > Crop⁺ 1 L = Crop⁺ 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L = Seven[®] 4 L. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida clomazone, na dose de 960 g ha⁻¹, na condição de aplicação em pré e pós-emergência inicial.

Palavras-chave: Controle químico; Fisiologia; Antiestressantes; α -esterase

6 PHYSIOACTIVATORS AND THE PHYTOXICITY CAUSED BY CLOMAZONE IN SUGARCANE CROP

Abstract

A sugarcane crop, despite being rustic, can suffer injuries by herbicides, which can affect the crop in times of drought, such as the climate, can negatively affect the performance of the crop. Therefore, measures that can reverse or reduce the damage caused by this molecule so important in cultivation are still unknown. However, products with antistress effect for plants under abiotic stresses, physioactivators, are appearing on the market due to their composition, but their action on injuries caused by herbicides is still unknown. Therefore, the objective of this work was to verify the hypothesis of Crop⁺[®], Foltron[®] and Seven[®] physioactivators, in the functions of their components, to reduce the phytotoxicity of sugarcane by the herbicide clomazone, when used in pre-emergence or post-initial emergence of the crop. Two similar but independent experiments were carried out, one in condition of pre-emergence application and the other at post-initial emergence condition of sugarcane crop, in each of the areas was used clomazone herbicide at a dose of 960 g ha⁻¹ and subsequently, three physioactivators it was used in each area that received herbicide, two doses, namely: Crop⁺[®] (1 and 2 L ha⁻¹), Foltron[®] (2 and 4 L ha⁻¹) or Seven[®] (4 and 8 L ha⁻¹). Phytotoxicity caused by the herbicide clomazone at a dose of 960 g ha⁻¹, is accentuated in the initial stage of crop development, at 21 days of application (DAA) for pre-emergence conditions and at 45 DAA for post-initial emergence. None of the physioactivators, Crop⁺[®], Foltron[®] or Seven[®], applied, reduce the visual phytotoxicity caused by the herbicide clomazone. The application of the herbicide clomazone affected the photosynthetic pigments when applied in pre or post-initial emergence. The SPAD index was recovered even in plants treated only with the herbicide clomazone, however, the recovery occurred at 14 DAA in post-initial emergence, and at 28 DAA when applied in pre-emergence. Crop⁺[®], Foltron[®] or Seven[®] physioactivators did not exceed the SPAD index values of the absolute control, in any of the evaluations. For the height variable, when applied at pre-emergence, the herbicide clomazone at a dose of 960 g ha⁻¹ did not affect plant height. The use of physioactivators did not increase the height of the sugarcane submitted to the herbicide clomazone. When applied in post-initial emergence the herbicide clomazone at a dose of 960 g ha⁻¹, interfered negatively on the plant height, at the beginning of the cycle, but soon after 21 DAA it normalized. When the metabolic stress was analyzed, at 45 DAA, through the expression of the isoenzyme α -esterase, it was found that the plants that received the treatment with the physioactivator Crop⁺[®] and Seven[®], in the lowest doses 1 and 4 L ha⁻¹, highlighted to recover from the stress caused by the herbicide clomazone (960 g ha⁻¹) applied in pre-emergence of the crop. While in post-initial emergence, treatment with Foltron physioactivators in the lowest dose, 2 L ha⁻¹, promoted the best recovery from stress caused by the herbicide clomazone. In terms of metabolic recovery from the abiotic stress caused by the herbicide in the pre-emergence condition, the treatments took the following order: Seven[®] 4 L = Crop⁺[®] 1 L > Seven[®] 8 L > Crop⁺[®] 2 L > 2 L = Foltron[®] 4 L. While in post-initial emergence, the recovery order was: Foltron[®] 2 L > Crop⁺[®] 1 L = Crop⁺[®] 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L = Seven[®] 4 L. The variety of sugarcane CV0618 is tolerant to the herbicide clomazone, at a dose of 960 g ha⁻¹, in the condition of application in pre or post-initial emergence.

Keywords: Chemical control; Physiology; Anti-stress agents; α -esterase

5.1 Introdução

As plantas daninhas são indesejadas nos cultivos, com destaque para a cultura de cana-de-açúcar, pois se não controladas no momento correto, atuam negativamente sobre o rendimento da lavoura, bem como na longevidade do canavial (KUVA et al., 2003).

De acordo com Miller et al. (1995), a eficiência de controle de plantas daninhas em culturas com longo PCPI (Período Crítico de Prevenção à Interferência) como a cana-de-açúcar, que é aproximadamente de até 130 dias após a emergência da cana soca, é dependente de vários fatores, dentre eles o efeito residual da molécula (MEIRELES; ALVES; NEPOMUCENO, 2009).

Dentre os herbicidas mais usados na cultura de cana-de-açúcar, de forma isolada ou em mistura para controle de plantas daninhas em época seca, pode-se citar o herbicida clomazone, que é inibidor da biossíntese de carotenoides, conhecidos como pigmentos fotoprotetores, que na sua ausência o excesso de energia absorvida não é dissipado, causando a foto oxidação das membranas, provocando morte das plantas (AABENDROTH; MARIN; ROETH, 2006; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Os sintomas provocados pelo clomazone levam a perda da coloração verde, que por consequência faz com que os tecidos mais novos fiquem brancos, às vezes com tons rosados ou violáceos (SILVA et al., 2007; DIAS, 2015). É o que acontece com a cana-de-açúcar, que apesar de rústica pode sofrer danos quando submetida a aplicações do herbicida clomazone, podendo interferir negativamente sobre o desempenho da cultura. Logo, ainda são desconhecidas medidas que possam reverter ou minimizar os danos causados por esta molécula.

Contudo, vem surgindo no mercado produtos que prometem efeito antiestressante às plantas sob estresses abióticos, os fisioativadores, que são sintetizados a partir de matérias primas como biorreguladores, aminoácidos, nutrientes, extratos de algas, entre outros compostos, os quais participam em processos metabólicos de defesa ativados por distúrbios fisiológicos (SHARMA; DUBEY, 2005; ASHRAF; FOOLAD, 2007; MACKINNON et al., 2010; SHARMA et al., 2014; CASTRO; CARVALHO, 2014; CASTRO et al., 2016).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi verificar a hipótese de que os fisioativadores (Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®]) em função dos seus componentes, possam reduzir a fitotoxicidade causada à cana-de-açúcar pelo herbicida clomazone, quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial da cultura.

5.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido a campo, em área comercial de cana-de-açúcar no município de Santa Bárbara D'Oeste – SP (22° 48' 57,4" S 47° 28' 28,1" O; 602 m de altitude), entre junho de 2019 e maio de 2020. Foram conduzidos dois experimentos independentes, com aplicação do herbicida clomazone na condição de pré e outro em pós-emergência inicial da cana-de-açúcar, em soqueira de segundo corte da variedade CV0618.

A dose adotada do clomazone foi de 960 g ha⁻¹, para as respectivas épocas de aplicação. Enquanto para os fisioativadores (Crop⁺®, Foltron® e Seven®) foram consideradas as doses recomendadas em bula, e duas vezes a dose. As doses dos herbicidas foram fundamentadas na prática agrícola, na granulometria do solo (Tabela 5.1), bem como na recomendação pelos fabricantes (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Enquanto as doses dos fisioativadores foram estabelecidas conforme instruções de bula.

Tabela 5.1.: Características químicas e físicas da área onde foi instalado o experimento.

Latossolo vermelho amarelo												
P	M.O.	pH	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	Argila	Areia	Silte
mg/dm ³	g/dm ³	CaCl ₂							%		g Kg ⁻¹	
14	15	6,3	0,10	3,32	1,39	1,3	4,81	6,15	78,18	245	616	138

Fonte: Laboratório Agrícola da unidade.

Foi adotado o delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC) com oito tratamentos, os quais estão descritos abaixo, na Tabela 5.2, cada parcela foi constituída por cinco linhas de cana (1,50 m entre linhas) e 4 m de comprimento, perfazendo uma área de 24 m² por parcela. Considerando-se quatro repetições, cada experimento contou com 32 unidades experimentais, totalizando nas duas condições de aplicação 64 parcelas.

No experimento conduzido na condição de pré-emergência, o clomazone foi aplicado antes da emergência da cana, e 15 dias após aplicação (DAA) do herbicida aplicaram-se os fisioativadores nas doses pré-estabelecidas. Enquanto em pós-emergência inicial, o clomazone foi aplicado após a emergência da cana, na fase de brotação, e 2 DAA do herbicida aplicaram-se os fisioativadores, nas respectivas doses.

Tabela 5.2. Tratamentos adotados nos experimentos em pré e pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	Dose	
	Herbicida	Fisioativador
1. Testemunha absoluta	0 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
2. Clomazone	960 g ha ⁻¹	0,0 L ha ⁻¹
3. Clomazone e Crop ⁺ ® (DOSE)	960 g ha ⁻¹	1,0 L ha ⁻¹
4. Clomazone e Crop ⁺ ® (2x DOSE)	960 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
5. Clomazone e Foltron [®] (DOSE)	960 g ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
6. Clomazone e Foltron [®] (2x DOSE)	960 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
7. Clomazone e Seven [®] (DOSE)	960 g ha ⁻¹	4,0 L ha ⁻¹
8. Clomazone e Seven [®] (2x DOSE)	960 g ha ⁻¹	8,0 L ha ⁻¹

Ambos tratamentos foram pulverizados com pulverizador costal de precisão, pressurizado por CO₂, acoplado a barra de seis pontas do tipo TeeJet 110.02 com indução de ar (TTI), posicionadas a 0,50 m do alvo, com consumo relativo de calda de 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação em pré-emergência as condições meteorológicas foram as seguintes: Temperatura 22 °C, UR 65,2 %, Vento 0,94 m s⁻¹, céu limpo, em 18 de junho de 2019. Já para a aplicação em pós-emergência inicial as condições foram: Temperatura 26 °C, UR 56,8 %, Vento 1,4 m s⁻¹, céu limpo, em 25 de junho de 2019. Durante o período de condução do experimento a temperatura média foi de 30,32 °C, e ocorreu uma precipitação de 35 mm.

Após a implantação dos tratamentos, foram realizadas análises de fitotoxicidade, índice de clorofilas, altura das plantas, o perfil enzimático da isoenzima α -esterase e a colheita. As análises da fitotoxicidade causada pelo herbicida clomazone, foram realizadas conforme o método proposto pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995), o qual é baseado numa escala de 0 a 100%, sendo 0% atribuído à ausência de sintomas causados pelos herbicidas e 100% para a morte das plantas. As avaliações foram efetuadas aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA para o experimento em pré-emergência, e aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA, para o experimento em pós-emergência inicial.

O índice de clorofilas (SPAD), foi analisado utilizando o clorofilômetro de campo Modelo Spad 502 Minolta, no terço médio da folha +1 em três plantas escolhidas ao acaso na área útil da parcela (três linhas centrais). Além disso foi mensurada a altura das plantas medindo-se a distância do solo até a aurícula da folha +1 de três plantas escolhidas ao acaso na área útil da parcela. Aos 310 dias após a emergência (DAE), realizou-se a colheita de todos os colmos em 3 m de sulco, em um ponto dentro área útil de cada parcela, pesou-se o feixe, e fez-se a extrapolação para a obtenção da produção de colmos (t ha⁻¹). Os dados foram submetidos a análise de variância por meio do teste F, e quando significativo para os tratamentos, empregou-se o teste de Tukey, com 5% de significância, para os dois experimentos.

Realizaram-se aos 45 DAA, para ambos experimentos, a análise da isoenzima α -esterase, através de eletroforese, a fim de construir o perfil isoenzimático da mesma sob condições de estresse causado pelo herbicida clomazone, bem como suas respectivas respostas quando tratadas com fisioativadores. As análises da isoenzima α -esterase foram efetuadas no Centro de Cana, pertencente ao Instituto Agrônomo - IAC, Ribeirão Preto – SP (21° 12' 28,29" S, 47° 52' 23,30" O; 621 m de altitude). Para tanto, em cada parcela escolheu-se um colmo aleatório na área útil e coletou-se o terço médio da folha +1. As repetições foram agrupadas formando uma amostra composta para cada tratamento, as quais foram acondicionadas em cassetes tipo histológico e acondicionadas em caixa de isopor com gelo para transporte do campo até o laboratório, no qual as amostras ficaram preservadas em ultra freezer (-80 °C) para manter a integridade das enzimas, até o processamento das análises.

Para construção do perfil isoenzimático da α -esterase por meio de eletroforese, inicialmente macerou-se com auxílio de nitrogênio líquido, 0,2 g de tecido foliar de cada amostra composta, em cadinho de porcelana individual. Em seguida, cada macerado foi acondicionado em Eppendorf, e adicionado 0,04 g de PVP 10 (polivinilpolipirrolidona) para adsorver e inativar fenóis que pudessem oxidar a amostra. Pois segundo Alfenas (2006) na maceração para análise com isoenzimas, pode haver interação dos compostos fenólicos com as proteínas, inativando as enzimas ou alterando a mobilidade destas no gel de corrida para a formação das bandas. Também foi adicionado 0,8 mL da solução tampão (fosfato de sódio bibásico 0,6 g; sacarose 7g; PVP-10 2,56 g; L-ácido ascórbico 100 mg; bissulfito de sódio 50 mg; borato de sódio 50 mg; β -mercaptoetanol 0,2 mL; polietilenoglicol 1 g; água deionizada 100 mL) os quais possuem função antioxidante e quelatizante para diminuir interferência de compostos secundários à amostra (adaptado de Alfenas, 2006). Logo após o extrato adquirido, esse foi centrifugado por dois minutos a 1500 rpm, e o sobrenadante obtido, o qual foi analisado, e transferido para um Eppendorf e acondicionado no freezer a -20 °C, para manter intactas as propriedades da solução obtida.

É fundamental que todas as etapas para obtenção do perfil isoenzimático sejam realizadas à baixas temperaturas e as amostras estejam resfriadas por gelo constantemente. Segundo Almeida e Crócomo (1994), pode ocorrer proteólise das enzimas, caso as etapas sejam morosas, então se faz necessário ter agilidade para realização das etapas. Posteriormente, fez-se a precipitação das enzimas através da poliacrilamida-bis, a qual permite maior resolução das bandas em função da ampla variação controlada do diâmetro dos seus poros. Para separação das isoenzimas foi utilizada uma cuba vertical de eletroforese imersa em solução tampão de corrida elétrica tris glicina (0,05 M, pH 8,0), contendo gel de separação poliacrilamida-bis não

desnaturante, em duas concentrações, na posição inferior concentrado a 10 % e a 5 % na altura superior (LAEMMILI, 1970). Após a colocação do gel na cuba, na parte superior foi colocado um pente de corrida com 30 pocinhos, e após viragem da solução líquida em estado gelatinoso, o pente foi retirado com muito cuidado, e os pocinhos formados foram preenchidos com 30 μ L do extrato de tecido foliar, previamente preparado. Em seguida, a cuba de corrida foi colocada dentro de um ambiente resfriado (4 °C), para proteção das enzimas à desnaturação, a qual foi calibrada com voltagem de 200 volts, e lá permaneceu por volta de dez horas para separação e demarcação das bandas (ALFENAS et al., 2006).

Após a corrida do gel, a cor que demarca as bandas precisa ser intensificada para visualização a olho nu. Para isso, previamente fora preparada e quantificada uma alíquota de 100 mL da solução tampão 0,1 M (pH 6,2) composta por 81,5 mL de solução A: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a 0,1M (4,14 g / 300 mL) + 18,5 mL de solução B: Na_2HPO_4 a 0,1 M (4,26 g / 300 mL) acrescida dos reagentes colorantes α -naftil acetato e fast blue RR. Esses foram dissolvidos na seguinte ordem, 0,02 g de α -naftil acetato em 500 μ L de acetona, agitado e colocado posteriormente sobre 80 mL de solução tampão fosfato, em seguida espera-se aproximadamente 15 minutos e então se acrescenta 20 mL da solução tampão fosfato, acrescida de 0,018 g de fast blue RR (PASTEUR et al., 1988). Posteriormente, o recipiente contendo a solução de coloração e o gel foram colocados no agitador tipo “Rocking Platform” Bio Rad, em ambiente escuro, a 20 rpm até o aparecimento de bandas (adaptado de BRUNE; ALFENAS; JUNGHANS, 2006).

Após a coloração, o gel foi lavado cuidadosamente com água deionizada, e colocado em solução secadora, a qual reduzirá parcialmente o tamanho da placa de gel, favorecendo a resolução das bandas, sendo posteriormente envolto por papel celofane umedecido em solução secadora, e levado ao aparelho de secagem forçada “Gel Dryer Model 583” da Bio Rad na configuração PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) por 40 minutos a 80 °C. Esse processo desidrata o gel e permite que o mesmo seja guardado por muito tempo. Os géis obtidos foram escaneados e as imagens geradas foram analisadas pelo software ImageJ, obtendo-se a somatória da área ocupada pelas bandas de cada perfil isoenzimático em cada tratamento, bandas mais intensas é um indicativo de maior quantidade de enzimas ligadas ao seu substrato, e conseqüentemente maior atividade destas (ABRÀMOFF et al. 2004). Para obter-se uma comparação prática, adotou-se uma margem de 5% sobre o padrão da testemunha absoluta, nos quais os padrões enzimáticos fora da margem foram considerados diferentes entre si.

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Condição de aplicação em pré-emergência

Fitotoxicidade

Assim como nos demais experimentos abordados anteriormente, as análises em pré-emergência se iniciaram aos 21 DAA, enquanto em pós-emergência inicial as análises iniciaram-se aos 7 DAA. Nas análises realizadas após a aplicação em pré-emergência, nota-se que aos 21 DAA (Tabela 5.3), as plantas possuíam sintomas resultantes da aplicação de clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, as quais perdiam o pigmento fotossintético verde e seu tecido foliar tornava-se branco, principalmente nas folhas mais jovens. O branqueamento das plantas é um sintoma característico da aplicação de herbicidas inibidores da DOXP-Sintase, como o clomazone (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Tabela 5.3. Porcentagem de injúrias causadas à cultura de cana-de-açúcar após aplicação do herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, em condições de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	0,00 a	0,00	0,00	0,00	0,00
Clomazone	7,75 b	3,50	0,50	0,50	0,00
Clomazone + Crop ⁺ ® 1 L	9,00 b	4,75	0,50	0,50	0,00
Clomazone + Crop ⁺ ® 2 L	12,75 b	4,50	0,50	0,50	0,00
Clomazone + Foltron® 2 L	10,75 b	3,50	0,00	0,00	0,00
Clomazone + Foltron® 4 L	15,00 b	4,00	0,00	0,00	0,00
Clomazone + Seven® 4 L	8,75 b	5,25	1,00	1,00	0,00
Clomazone + Seven® 8 L	8,25 b	4,25	0,50	0,50	0,00
F_{trat}	6,69**	2,12 ^{NS}	0,78 ^{NS}	0,78 ^{NS}	0,00 ^{NS}
CV (%)	22,50	29,37	25,80	25,80	0,00
DMS	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x + 1)}$; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Analisando os dados obtidos do experimento em condição de pré-emergência com o herbicida clomazone, pode-se observar que apenas aos 21 DAA, não houve diferença de fitotoxicidade entre os tratamentos com fisioativadores, todos foram semelhantes entre si, diferindo apenas da testemunha absoluta. A partir dos 28 DAA a fitotoxicidade foi sendo reduzida em todos os tratamentos de forma igualitária, o que permaneceu sem variações até a

última análise, aos 120 DAA. Aos 120 DAA a cultura já estava totalmente recuperada, sem fitotoxicidade visual. A fitotoxicidade inicial com posterior recuperação é comumente observada nos herbicidas pré-emergentes, sendo que Sandaniel, Fernandes e Barroso (2008), confirmaram isso quando aplicaram o herbicida clomazone na dose de 1250 g ha⁻¹ sobre a variedades SP80-1816 de cana-de-açúcar, e observaram injúrias na fase inicial da cultura com desaparecimento dos sintomas aos 35 DAA.

Índice de clorofilas (SPAD)

Em condição de aplicação em pré-emergência da cultura de cana-de-açúcar, nota-se na primeira avaliação, aos 21 DAA (Tabela 5.4) que todos os tratamentos, inclusive a testemunha absoluta, estavam com o mesmo índice de pigmentos fotossintéticos. Entretanto, entre os demais tratamentos houve diferenciação, as plantas tratadas apenas com o herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ estava com menor índice de clorofilas comparadas às plantas que receberam a aplicação de 8 L ha⁻¹ do fisioativador Seven[®]. Porém, quando esses tratamentos são comparados com os demais fisioativadores e doses, nenhuma diferença foi identificada, sendo todos semelhantes entre si, inclusive a testemunha absoluta.

Todavia, a diferenciação no índice SPAD não se manteve nas demais épocas de avaliação, aos 28, 45, 60 e 120 DAA, ou seja, todos os tratamentos recuperaram o índice de clorofilas com o avançar do ciclo da cultura e não diferiram dos valores da testemunha. Aos 120 DAA, a média do índice SPAD foi de 36,62. Com base na testemunha absoluta, houve um acréscimo de 49,36% no índice SPAD, dos 21 aos 120 DAA.

Tabela 5.4. Índice de clorofilas (SPAD) mensurado na cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pré-emergência da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	23,97ab	29,42	32,19	35,72	35,85
Clomazone	21,94 b	24,90	32,17	36,61	35,74
Clomazone + Crop ⁺ 1 L	24,32 ab	28,09	32,99	34,44	35,66
Clomazone + Crop ⁺ 2 L	27,09 ab	26,25	34,91	35,28	36,70

Clomazone + Foltron® 2 L	26,28 ab	28,87	35,06	35,51	37,24
Clomazone + Foltron® 4 L	26,60 ab	27,83	34,40	36,13	37,32
Clomazone + Seven® 4 L	27,77 ab	29,93	34,04	34,07	36,61
Clomazone + Seven® 8 L	27,42 a	27,39	34,86	36,02	37,82
F_{trat}	2,81*	1,35 ^{NS}	0,51 ^{NS}	0,54 ^{NS}	0,79 ^{NS}
CV (%)	8,85	10,30	10,06	6,61	5,00
DMS	5,31	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

A aplicação do herbicida clomazone resulta na destruição das clorofilas, ou seja não atuam sobre a síntese desta, sendo assim, caso a planta consiga metabolizar o herbicida, os novos tecidos formados possuirão a coloração verde que remete à presença de clorofilas, e realizarão fotossíntese normalmente (TIMOSSI; ALVES, 2001).

Altura

Para a variável altura (Tabela 5.5), considerando a pré-emergência como época de aplicação do herbicida clomazone (960 g i. a. ha⁻¹) em todas as épocas de avaliação, aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA, nenhum dos tratamentos influenciou a altura das plantas, cujos valores foram similares à testemunha absoluta.

Tabela 5.5. Altura (cm) da cana de açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) em pré-emergência e fisioativadores Crop⁺, Foltron® e Seven®, em duas doses, avaliada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)				
	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	41,00	48,08	56,41	76,75	134,75
Clomazone	44,66	49,00	61,07	73,16	137,33
Clomazone + Crop ⁺ 1 L	47,00	50,24	60,66	74,25	144,58
Clomazone + Crop ⁺ 2 L	46,58	47,41	59,08	74,00	122,25
Clomazone + Foltron® 2 L	40,83	37,91	51,99	66,00	125,25

Clomazone + Foltron® 4 L	48,33	42,58	55,99	68,08	124,00
Clomazone + Seven® 4 L	42,66	41,24	55,49	70,16	128,33
Clomazone + Seven® 8 L	42,58	38,24	58,58	66,08	121,06
F_{trat}	1,08 ^{NS}	2,59 ^{NS}	0,77 ^{NS}	1,07 ^{NS}	1,42 ^{NS}
CV (%)	12,44	13,85	12,02	11,07	10,81
DMS	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos respectivos aos números demonstrados nos histogramas da α -esterase estão abaixo na Tabela 5.6. A somatória das áreas de bandas na testemunha nunca será zero, visto que a isoenzima α -esterase atua sobre estresses abióticos em geral, porém quando submetidas à herbicidas, sua atividade é acentuada. Então o padrão (100%) dessa análise é a testemunha absoluta, e os demais tratamentos são comparados a esta, considerados diferentes quando a margem de diferença é de no mínimo 5% entre eles.

Tabela 5.6. Tratamentos e respectiva identificação numérica, analisados para construção do perfil isoenzimático da α -esterase, adotados nos experimentos em pré e pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar. Santa Bárbara d'Oeste/ Ribeirão Preto, 2019.

NUMERAÇÃO	TRATAMENTOS
1	Testemunha absoluta
2	Testemunha herbicida (clomazone a 960 g ha ⁻¹)
3	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 1 L ha ⁻¹
4	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Crop ⁺ ® 2 L ha ⁻¹
5	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Foltron® 2 L ha ⁻¹
6	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Foltron® 4 L ha ⁻¹
7	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Seven® 4 L ha ⁻¹
8	Clomazone (960 g ha ⁻¹) e Seven® 8 L ha ⁻¹

Observa-se que as plantas que receberam apenas aplicação herbicida da molécula clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ sofreram injúrias principalmente no início do ciclo de desenvolvimento, de acordo com os dados de fitotoxicidade, levando a planta à alta produção de α -esterase, a fim de recuperar-se do estresse sofrido e então reequilibrar o metabolismo vegetal (Figura 5.1).

Figura 5.1. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pré-emergência com o herbicida clomazone (960 g ha^{-1}) e os fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

O fisioativador Crop⁺® na menor dose, 1 L ha^{-1} , influenciou positivamente a quantidade de α -esterase produzida, sendo suficiente para desintoxicar a cana-de-açúcar submetida à aplicação do herbicida clomazone, de forma a igualá-la a testemunha absoluta. O incremento na dose de Crop⁺® prejudicou a síntese da α -esterase, diminuindo sua produção em 14,55 %, afetando negativamente a recuperação da cultura de cana-de-açúcar, provavelmente em função da dupla função demandada, como assimilar a dose elevada do fisioativador ao mesmo tempo que era requerida a produção de α -esterase para alívio do estresse causado pelo herbicida. Após o herbicida atingir seu alvo primário nas plantas, diversos processos metabólicos e fisiológicos são desencadeados, esses eventos são interligados por vias metabólicas complexas, o que dificulta o domínio na elucidação dos resultados do metabolismo secundário ao metabolismo primário do vegetal (DEVINE; DUKE; FEDTKE, 1993).

Observa-se que as plantas tratadas com o fisioativador Foltron® em ambas as doses, foram as mais afetadas na produção da isoenzima α -esterase, e consequentemente tendo maior dificuldade em recuperar-se do estresse causado pelo herbicida. Ao utilizar o fisioativador Seven® percebe-se que foi possível, a partir da menor dose, recuperar o estresse das plantas, as quais se igualaram à testemunha absoluta, considerando a margem de 5% que difere os

tratamentos. Entretanto, ao usar a maior dose do fisioativador Seven® (8 L ha⁻¹), essa interferiu negativamente sobre as plantas, pois influenciou na alta produção de α -esterase, ou seja isso mostra que haviam mais compostos para serem metabolizados nessa época.

Observa-se que o tratamento que proporcionou a melhor recuperação do estresse causado pela aplicação do herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ em pré-emergência da cultura de cana-de-açúcar, foi o tratamento com os fisioativadores Crop⁺® e Seven® nas menores doses, 1 e 4 L ha⁻¹, respectivamente.

Produção de colmos

Ao observar a aplicação do herbicida clomazone na cultura de cana-de-açúcar, nota-se que o mesmo não interferiu negativamente sobre o rendimento da cultura (Tabela 5.7), ou seja, até a colheita o mesmo já havia sido metabolizado pelas plantas. Adicionalmente, a aplicação dos fisioativadores não interferiram negativa ou positivamente no rendimento final de colmos. Os fisioativadores atuam como antiestressantes ou complemento na nutrição das culturas, ou seja, para a cana-de-açúcar que é uma cultura rústica, não interferem sobre o rendimento produtivo. Em síntese, os resultados obtidos na colheita dos colmos mostraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Assim também foi observado por Perez (2017), ao aplicar o herbicida clomazone na dose de 1080 g ha⁻¹, na condição de pré-plantio inicial, que notou injúrias provocadas pelo herbicida, porém a aplicação da molécula não causou redução na produtividade ou nas características tecnológicas dos colmos da variedade de cana-de-açúcar CTC11 no sistema MPB.

Tabela 5.7. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	88,25
Clomazone	88,83
Clomazone + Crop ⁺ ® 1 L	89,17
Clomazone + Crop ⁺ ® 2 L	87,92
Clomazone + Foltron® 2 L	87,88
Clomazone + Foltron® 4 L	87,83

Clomazone + Seven [®] 4 L	87,63
Clomazone + Seven [®] 8 L	87,79
F_{trat}	1,40 ^{NS}
CV (%)	1,06
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

5.3.2 Condição de aplicação em pós-emergência inicial

Fitotoxicidade

Quando avaliada a aplicação em pós-emergência inicial, nota-se uma persistência prolongada da fitotoxicidade, dos 7 aos 28 DAA (Tabela 5.8). Entretanto aos 7 DAA, observa-se que as plantas tratadas com Crop⁺[®] na menor dose, se igualaram à testemunha absoluta, diferindo das demais, as quais foram similares entre si. Porém, isso não se manteve, aos 14 e 21 DAA todos os tratamentos possuíam injúrias similares, sejam eles tratados com herbicida ou fisioativador, sem distinção de tratamento ou dose, diferindo da testemunha absoluta, a qual estava sem injúrias, como esperado.

Aos 28 DAA, as plantas tratadas com Crop⁺[®] na maior dose (2 L ha⁻¹) e com Foltron[®] em ambas doses (2 ou 4 L ha⁻¹), se destacaram na recuperação da fitotoxicidade, assemelhando à testemunha absoluta. Entretanto, também era similar aos demais tratamentos. A partir dos 45 DAA todas as plantas, tratadas ou não com fisioativadores, se recuperaram das injúrias causadas pelo herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, o que permaneceu estável até a última avaliação, aos 120 DAA. Zera et al. (2011), verificaram que a variedade IAC86-2480 foi tolerante ao herbicida clomazone na dose de 1100 g ha⁻¹, observando apenas injúrias como estrias cloróticas causadas pelo herbicida no decorrer do experimento.

Tabela 5.8. Porcentagem de injúrias causadas à cultura de cana-de-açúcar após aplicação do herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) e dos fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	FITOTOXICIDADE (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00	0,00	0,00
Clomazone	17,00 b	18,00 b	10,00 b	4,50 b	1,00	0,25	0,00
Clomazone + Crop ⁺ [®] 1 L	15,50 a	16,25 b	8,25 b	5,50 b	2,00	1,00	0,00
Clomazone + Crop ⁺ [®] 2 L	18,75 b	20,00 b	11,25 b	3,50 ab	3,50	0,50	0,00
Clomazone + Foltron [®] 2 L	21,25 b	25,50 b	10,00 b	3,75 ab	2,75	0,25	0,00
Clomazone + Foltron [®] 4 L	22,50 b	28,00 b	10,50 b	3,50 ab	3,00	0,50	0,00

Clomazone + Seven® 4 L	18,75 b	22,25 b	10,25 b	5,00 b	4,25	0,25	0,00
Clomazone + Seven® 8 L	20,25 b	20,25 b	10,75 b	4,75 b	2,00	0,75	0,00
F_{trat}	12,79**	20,43**	22,15**	4,08**	2,35 ^{NS}	0,88 ^{NS}	0,00 ^{NS}
CV (%)	17,33	14,32	11,65	22,38	31,31	21,27	0,00
DMS	-	-	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; Dados reais apresentados, porém previamente transformados por $\sqrt{(x + 1)}$; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Índice de clorofilas (SPAD)

Em pós-emergência inicial, de acordo os dados obtidos pelo SPAD, nota-se aos 7 DAA, que as plantas tratadas com o fisioativador Seven® na menor dose, 4 L ha⁻¹, se assemelharam à testemunha, mas também aos demais tratamentos (Tabela 5.9). Contudo, na avaliação seguinte, aos 14 DAA, nenhuma diferença foi observada no índice SPAD, em relação aos tratamentos, inclusive a testemunha absoluta.

Observa-se que dos 14 DAA até a última coleta de dados, aos 120 DAA, os dados se estabilizaram, nenhuma diferença no índice SPAD ocorreu entre os tratamentos com herbicida isolado ou associado com fisioativadores comparados à testemunha absoluta. Ou seja, aos 28 DAA, as plantas tratadas ou não com fisioativadores recuperam seus pigmentos fotossintéticos. Aos 120 DAA, a média do índice SPAD foi de 34,55.

Como já citado anteriormente, a aplicação do herbicida clomazone atua nos pigmentos responsáveis pela dissipação da energia produzida pela excitação da clorofila, ou seja não atuam sobre a síntese desta, com isso o herbicida não atuará sobre os pigmentos formados antes da sua aplicação, e se metabolizado pelas plantas, deixa de exercer sua função branqueadora nas plantas, permitindo o reestabelecimento do aparato fotossintético (TIMOSSI; ALVES, 2001).

Tabela 5.9. Índice de clorofilas (SPAD) mensurado na cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) e fisioativadores, em condições de pós-emergência inicial da cultura, analisada aos 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	SPAD (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	31,08 a	22,60	27,73	28,70	33,49	32,42	34,00
Clomazone	19,95 b	19,43	24,30	27,01	33,59	30,42	33,58
Clomazone + Crop ⁺ ® 1 L	17,67 b	24,62	25,50	27,25	33,75	30,90	33,53
Clomazone + Crop ⁺ ® 2 L	20,42 b	22,70	25,87	24,58	33,35	32,42	35,19
Clomazone + Foltron® 2 L	20,48 b	23,69	27,08	26,08	33,30	30,29	33,11
Clomazone + Foltron® 4 L	15,84 b	23,20	28,23	25,83	34,41	30,95	36,46

Clomazone + Seven® 4 L	22,16 ab	22,54	27,84	25,81	35,35	31,19	35,30
Clomazone + Seven® 8 L	17,85 b	23,88	27,84	25,30	33,55	32,16	35,22
F_{trat}	5,61 **	0,71 ^{NS}	1,73 ^{NS}	0,60 ^{NS}	0,31 ^{NS}	0,40 ^{NS}	1,24 ^{NS}
CV (%)	18,99	16,20	8,01	12,66	7,43	8,81	6,03
DMS	9,32	-	-	-	-	-	-

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Altura

Para a condição de aplicação em pós-emergência inicial, aos 7 DAA (Tabela 5.10), nenhum tratamento interferiu de forma positiva ou negativa sobre a altura das plantas. Entretanto, aos 14 DAA verificou-se que todas as plantas tratadas com clomazone, estavam com porte reduzido comparado à testemunha absoluta, ou seja, nenhum tratamento com fisioativador minimizou a interferência do herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ na redução do porte das plantas.

Todavia, nota-se que a partir dos 21 DAA até os 60 DAA, todas as plantas recuperaram o porte, igualando-se à testemunha absoluta, independente do tratamento adotado. Resultados semelhantes foram encontrados por Negrisoni et al. (2004), bem como por Barela e Christoffoleti (2006) ao estudarem o herbicida clomazone na condição de pré-emergência em solo arenoso, na dose de 1000 g ha⁻¹, não observaram influência negativa sobre o crescimento, produtividade e atributos tecnológicos das variedades de cana-de-açúcar RB855113 e RB867515, caracterizando seletividade dessas variedades ao herbicida estudado.

Aos 120 DAA, todos os tratamentos permaneceram semelhantes à testemunha, mas, entre os tratamentos com fisioativadores houve diferenciação, sendo que as plantas tratadas com a menor dose de Foltron®, 2 L ha⁻¹, estavam menores do que as plantas tratadas com Crop⁺® na menor dose, 1 L ha⁻¹. Ressalta-se que posteriormente todos os tratamentos se recuperaram ao nível da testemunha absoluta.

Tabela 5.10. Altura (cm) da cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺®, Foltron® e Seven®, em duas doses, avaliada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 DAA. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	ALTURA (DAA)						
	07	14	21	28	45	60	120
Testemunha Absoluta	51,00	67,92 a	49,41	51,08	53,33	73,67	149,08 ab
Clomazone	52,74	52,74 b	42,58	51,00	56,66	66,66	140,91 ab
Clomazone + Crop ⁺ ® 1 L	54,00	54,00 b	50,08	51,49	61,33	72,58	159,41 a

Clomazone + Crop ⁺ ® 2 L	55,66	55,66 b	43,83	45,91	56,16	59,00	148,00 ab
Clomazone + Foltron® 2 L	52,58	52,58 b	36,99	48,25	58,08	65,08	133,41 b
Clomazone + Foltron® 4 L	48,66	48,66 b	39,91	49,00	57,75	63,66	149,74 ab
Clomazone + Seven® 4 L	52,08	52,08 b	32,95	50,16	52,06	58,66	146,83 ab
Clomazone + Seven® 8 L	51,89	51,89 b	35,75	54,16	59,61	65,41	143,08 ab
F_{trat}	1,06 ^{NS}	6,58**	2,64 ^{NS}	0,39 ^{NS}	0,92 ^{NS}	2,84 ^{NS}	3,30*
CV (%)	7,63	8,29	18,50	15,82	10,15	9,92	5,68
DMS	-	10,71	-	-	-	-	19,73

¹Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de probabilidade; *Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Teste F significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} Teste F não significativo.

Perfil enzimático da α -esterase

Os tratamentos respectivos aos números demonstrados nos histogramas da α -esterase foram apresentados anteriormente na Tabela 5.6. A somatória de áreas de bandas na testemunha nunca será zero, visto que a isoenzima α -esterase atua sobre estresses abióticos em geral, porém quando submetida à herbicidas, sua atividade é acentuada. Então o padrão (100%) dessa análise é a testemunha absoluta, e os demais tratamentos são comparados a esta, considerados diferentes quando a margem de diferença é de no mínimo 5% entre eles.

Ao analisar o perfil isoenzimático do experimento realizado com aplicação de herbicida clomazone em condição de pós-emergência inicial da cultura de cana-de-açúcar (Figura 5.2) observa-se que os tratamentos com os fisioativadores Foltron® na maior dose e Seven® na menor dose, 4 e 4 L ha⁻¹, foram aqueles que se destacaram negativamente dos demais, ou seja não limitaram a síntese de α -esterase, entretanto sua taxa de recuperação foi regular, de 86 a 90%. Em estudo realizado por Moldes (2006), o mesmo ressaltou que pouco é conhecido sobre a ação dos aminoácidos na eliminação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), entretanto, quando estudadas plantas em situação de estresse abiótico causado por herbicida, observou-se que elas aumentaram a biossíntese de aminoácidos, e quando isso ocorreu, não houve peroxidação lipídica das células.

Os tratamentos com Crop⁺® em ambas doses (1 e 2 L ha⁻¹) e Seven® na maior dose, 8 L ha⁻¹, superaram os níveis enzimáticos da testemunha absoluta, entretanto não superaram a atividade das plantas que receberam apenas aplicação de herbicida, ou seja, a aplicação destes foi melhor do que quando a planta recebeu apenas aplicação do herbicida. Pode-se observar nesse tratamento que os níveis de α -esterase estavam 25% superiores a testemunha absoluta, ou seja, havia metabólitos demandando a ação da α -esterase para aliviar o estresse causado pela aplicação de clomazone, na dose de 960 g ha⁻¹.

A adoção dos tratamentos com Crop⁺® e Seven[®] nas maiores doses, 2 e 8 L ha⁻¹ e o Foltron na menor dose 4 L ha⁻¹, foram os tratamentos que mais se assemelharam à testemunha absoluta na síntese de α -esterase para alívio do estresse abiótico.

Figura 5.2. Histograma representativo do perfil enzimático da α -esterase aos 45 DAA na condição de pós-emergência inicial com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) e os fisioativadores Crop⁺®, Foltron[®] e Seven[®], em duas doses. Santa Bárbara d'Oeste/Ribeirão Preto, 2019/2020.

Produção de colmos

A aplicação do herbicida clomazone, na dose de 960 g ha⁻¹ não interferiu sobre a produtividade da cana-de-açúcar, variedade CV0618 (Tabela 5.11). Assim como a aplicação de fisioativadores não favoreceu nem prejudicou a produção de colmos na cultura de cana-de-açúcar, visto que essa é uma cultura rústica, que demanda fatores mais incisivos no metabolismo para alteração do seu rendimento final. Zera et al., (2011), também verificaram seletividade do herbicida clomazone na dose de 1100 g ha⁻¹ às variedades de cana-de-açúcar IACSP94-2094, IACSP93-3046, IACSP94-4004, IAC86-2480 e RB72454, sem prejuízos na produtividade e das características tecnológicas da cultura.

Tabela 5.11. Produção de colmos da cultura de cana-de-açúcar previamente tratada com o herbicida clomazone (960 g ha⁻¹) em pós-emergência inicial e fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®], em duas doses, mensurada aos 310 DAE. Santa Bárbara d'Oeste, 2019.

Tratamentos	PRODUÇÃO DE COLMOS (t ha ⁻¹)
	310 DAE
Testemunha Absoluta	88,63
Clomazone	88,29
Clomazone + Crop ⁺ [®] 1 L	89,13
Clomazone + Crop ⁺ [®] 2 L	88,54
Clomazone + Foltron [®] 2 L	87,79
Clomazone + Foltron [®] 4 L	88,46
Clomazone + Seven [®] 4 L	88,58
Clomazone + Seven [®] 8 L	88,50
F_{trat}	0,56 ^{NS}
CV (%)	1,12
DMS	-

^{NS} Teste F não significativo.

5.4 Considerações gerais

A fitotoxicidade causada pelo herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, é acentuada na fase inicial de desenvolvimento da cultura, aos 21 DAA para a condição de pré-emergência e aos 45 DAA para pós-emergência inicial. Os fisioativadores, Crop⁺[®], Foltron[®] ou Seven[®], em ambas as doses, não atenuaram a fitotoxicidade causada pelo herbicida clomazone.

A aplicação do herbicida clomazone afetou os pigmentos fotossintéticos quando aplicado em pré ou pós-emergência inicial. As plantas que receberam aplicação do clomazone em pós-emergência inicial recuperaram o índice de clorofilas, mensurado pelo SPAD antes das plantas tratadas com o herbicida em pré-emergência, 14 e 28 DAA, respectivamente. Os fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] ou Seven[®] não superaram os valores do índice SPAD da testemunha absoluta, em nenhuma das avaliações.

Quando aplicado em pré-emergência, o herbicida clomazone na dose 960 g ha⁻¹ não afetou a altura das plantas. O uso de fisioativadores não incrementou a altura da cana-de-açúcar submetida ao herbicida clomazone. Quando aplicado em pós-emergência inicial, o herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹, interferiu negativamente sobre a altura das plantas, no início do ciclo, porém logo a partir dos 21 DAA se normalizou.

Pela expressão da α -esterase, verificou-se que aos 45 DAA, a aplicação dos tratamentos com o fisioativador Crop⁺[®] e Seven[®], nas menores doses 1 e 4 L ha⁻¹, se destacaram para a

recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pelo herbicida clomazone na dose de 960 g ha⁻¹ aplicado em pré-emergência da cultura.

Os fisioativadores influenciaram a síntese da isoenzima α -esterase para a recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pela aplicação de clomazone em pré-emergência na seguinte ordem: Seven[®] 4 L = Crop⁺ 1 L > Seven 8[®] L > Crop⁺ 2 L > 2 L = Foltron[®] 4 L.

Em pós-emergência inicial, o tratamento com os fisioativadores Foltron[®] na menor dose, 2 L ha⁻¹, foi o tratamento que mais se assemelhou à testemunha absoluta no alívio do estresse causado pelo herbicida clomazone. O tratamento com o fisioativador Seven[®] na menor dose, 4 L ha⁻¹, foi o tratamento que promoveu menor recuperação das plantas, mas o percentual de recuperação foi regular em cerca de 86% em relação à testemunha absoluta.

Em pós-emergência inicial, os fisioativadores influenciaram a síntese da isoenzima α -esterase para a recuperação da cana-de-açúcar do estresse causado pela aplicação de clomazone na seguinte ordem: Foltron[®] 2 L > Crop⁺ 1 L = Crop⁺ 2 L = Seven[®] 8 L > Foltron[®] 4 L = Seven[®] 4 L. A variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante ao herbicida clomazone, na dose de 960 g ha⁻¹, tanto nas condições de aplicação em pré ou pré-emergência inicial.

Referências

- AABENDROTH, J. A.; MARIN, A. R.; ROETH, F. W. Plant response to combinations of mesotrione and photosystem II inhibitors. **Weed Technology**, v. 20, n. 1, p. 267-274, 2006.
- ABRÀMOFF, M.D.; MAGALHÃES, P.J.; RAM, S.J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics international**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.
- ALFENAS, A. C.; BRUNE, W.; OLIVEIRA, J. R.; ALONSO, S. K.; SCORTICHINI, S. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A.C. (Eds.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Editora UFV, Viçosa, 2006, p. 85-114.
- ALMEIDA, M.; CROCOMO, O. J. Organografia de dez cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Ii. Folha. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 69, n.2, p. 161-82, 1994.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.
- BARELA, J.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcar (RB 867515) tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 371-378, 2006.
- BELUCI, L. R.; VITORINO, R.; AZANIA, C. A. M.; AZANIA, A. P. A. M.; TORTORELLI, H. F. Utilização do perfil isoenzimático como ferramenta na avaliação da seletividade de herbicidas em cana-de-açúcar. **Nucleus**, v.12, n.2, 2015.

BRUNE, W.; ALFENAS, A. C.; JUNGHANS, T. G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed, Universidade Federal de Viçosa, 2006, p.202-328.

CASTRO, P. R. C; ARAÚJO, D. K; ANGELINI, B. G.; MENDES, A. C. C. M. **Biorreguladores na agricultura**. ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2016. 154 p. (Série Produtor Rural, nº especial).

CASTRO, P. R. C; CARVALHO, M. E. A. **Aminoácidos e suas aplicações na agricultura**. ESALQ, DIBD, Piracicaba, 2014, 58 p. (Série Produtor Rural, 57).

DEVINE, M.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. **Physiology of herbicide action**. PTR Prentice Hall, 1993, New Jersey, 441p.

DIAS, G. L. S. **Sintomas de intoxicação de culturas por herbicidas**. 2015. 67f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

KUVA, M. A.; GRAVENA, R.; PITELLI, R. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; ALVES, P. L. C. A. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. III – capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colonião (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 21, n. 1, p. 37-44, 2003.

LAEMMILI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.

MACKINNON, S. L.; HILTZ, D.; UGARTE, R.; CRAFT, C. A. Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 4, p. 489-494, 2010.

MEIRELLES, G. L. S.; ALVES, P. L. C. A.; NEPOMUCENO, M. P. Determinação dos períodos de convivência da cana-soca com plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p.67-73, 2009.

MILLER, L. C.; RESENDE, L. C. L.; MEDEIROS, A. M. L. Manejo de herbicidas na lavoura de cana-de-açúcar. **STAB - Açúcar, Alcool e Subprodutos**. v. 13, p. 9-13, 1995.

MOLDES, C. A. **Resposta de enzimas antioxidantes à aplicação do herbicida glifosato em variedades de soja transgênica e não transgênica**. 2006. 93f. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

NEGRISOLI, E.; VELINI, E.D.; TOFOLI, G.R.; CAVENAGHI, A.L.; MARTINS, D.; MORELLI, J.L.; COSTA, A.G.F. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura de cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v. 22, n. 4, p. 567-575, 2004.

PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. **Practical isoenzyme genetics**. New York, Ellis Horwood, 1988, 215p.

PEREZ, L. L. **Seletividade de sulfentrazone e clomazone aplicados em pré-plantio de mudas pré brotadas de cana-de-açúcar CTC 11**. 2017. 50 p. Dissertação (Mestrado em

Ciências), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 7 ed. Londrina, 764p. 2018.

SANDANIEL, C. R.; FERNANDES, L. B.; BARROSO, A. L. L. Controle de plantas daninhas em cana soca com herbicidas aplicados em pré-emergência. **Nucleus**, Edição Especial, 2008.

SHARMA, H. S. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 465–490, 2014.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.854-862, 2005.

SILVA, A. A. et al. Herbicidas: classificação e mecanismo de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Ed. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. UFV, Viçosa, p. 58-117, 2007a.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. SBCPD, Londrina, 1995, 42 p.

TIMOSSI, P. C.; ALVES, P. L. C. A. Efeitos da simulação de deriva de clomazone em plantas de laranjeira ‘Hamlin’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.310-314, 2001.

ZERA, F. S., AZANIA, C. A. M., SCHIAVETTO, A. R., LORENZATO, C. M.; AZANIA, A. A. P. M. Tolerância de diferentes cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) a herbicidas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 3, p. 591-599, 2011.

6 CONCLUSÕES

As variáveis que revelam o fenótipo da planta, como fitotoxicidade, índice de clorofilas (SPAD) e altura, em sua maioria não foram influenciadas pela aplicação dos fisioativadores Crop⁺[®], Foltron[®] e Seven[®], ou seja, nas condições do experimento os fisioativadores não atenuam a fitotoxicidade causada pelos herbicidas. Herbicidas e fisioativadores modificaram a ação da α -esterase.

Os herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone causam fitotoxicidade oculta na cana-de-açúcar, demonstrada pelo perfil enzimático da α -esterase. O fisioativador Crop⁺[®] se destaca na recuperação do estresse causado pelos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone, sem efeito na produtividade. Em determinadas situações, ocorrem respostas negativas quando aplicados herbicidas e fisioativadores.

Aos 120 DAA todas as plantas estavam visualmente saudáveis em relação à aplicação dos herbicidas sulfentrazone, imazapique e clomazone, nas doses de 750, 133 e 960 g ha⁻¹, respectivamente. Indicando que variedade de cana-de-açúcar CV0618 é tolerante aos herbicidas estudados e suas respectivas doses, comumente empregadas à campo, tanto nas condições de aplicação em pré ou pós-emergência inicial.