



ELETROFORESE EM GEL DE ACRILAMIDA COMO FERRAMENTA NA AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE DE HERBICIDAS EM CANA-DE-AÇÚCAR

Lucas Ribeiro **beluci**¹; Renan **Vitorino**²; Julio Cesar **Garcia**³; Marcel Barioni **Mendes**⁴; Carlos Alberto Mathias **Azania**⁵

Nº 14127

Resumo. *Objetivou-se estudar a aplicabilidade do perfil isoenzimático da α -esterase e peroxidase, comparativamente as características fitotécnicas, como ferramenta para avaliar a seletividade na cultura da cana-de-açúcar, utilizando diversos herbicidas registrados em pré-plantio. A pesquisa procedeu em duas etapas, em vasos em um ambiente aberto e em laboratório. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 tratamentos [testemunha; imazapic (245 g ha⁻¹); diclosulan(88,2 g ha⁻¹) +s-metalachlor(1920g ha⁻¹); imazapyr (500 g ha⁻¹); diclosulan (88,2 g ha⁻¹) +oxyfluorfen (1200 g ha⁻¹); amicarbazone (2100 g ha⁻¹); trifluralin (4240 g ha⁻¹) + pendimethalin (1750 g ha⁻¹); sulfentrazone (800 g ha⁻¹)] em 4 repetições e em 3 épocas de plantio definidas pelo plantio dias após a aplicação (20DAA, 40DAA e 60DAA). As unidades experimentais foram constituídas por vasos de plástico (3L) preenchidos com terra de barranco. O herbicida foi aplicado com pulverizador costal pressurizado, regulado proporcionando volume de calda de 200 L ha⁻¹. Após 20, 40 e 60 DAA simultaneamente foram plantados 1 MPB (muda pré-brotada) de cana de açúcar por parcela. As variáveis fitotécnicas avaliadas foram, teor de clorofila (unidades relativas SPAD), altura de planta e massa seca aos 60 dias após plantio (DAP). Aos 60 DAP caracterizou-se o perfil isoenzimático da α -esterase em laboratório, por eletroforese em gel de acrilamida e foram confeccionados os zimogramas em software Excel 2010. A hipótese inicial foi confirmada devido ao padrão das isoformas α -esterase e peroxidase não diferiam em número de bandas, corroborando com as características fitotécnicas que também não diferiram da testemunha.*

Palavras-chaves: α -esterase. Peroxidase.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Agronomia FCAV-Unesp Jaboticabal - SP; lucasbeluci@hotmail.com

2 Colaborador, Bolsista Treinamento Técnico FUNDAG: Graduação em Agronomia, FAFRAM, Ituverava-SP.

3 Pesquisador do IAC Centro de Cana, Ribeirão Preto-SP;.

4 Graduação em Agronomia FCAV-Unesp Jaboticabal - SP

5 Orientador: Pesquisador do IAC Centro de Cana, Ribeirão Preto-SP;.; azania@iac.sp.gov.br



ABSTRACT- *The objective was to study the applicability of the isoenzyme profiles of α -esterase and peroxidase, comparing the characteristics phytotechnical as a tool to assess the selectivity in the culture of sugarcane using various herbicides registered for pre-plant. The research carried out in two steps, in pots, in an open environment and in the laboratory. The experimental design was completely randomized with 8 treatments [control; imazapic (245 g ha^{-1}); diclosulan($88,2 \text{ g ha}^{-1}$) +s-metalachlor(1920 g ha^{-1}); imazapyr (500 g ha^{-1}); diclosulan ($88,2 \text{ g ha}^{-1}$) +oxyfluorfen (1200 g ha^{-1}); amicarbazone (2100 g ha^{-1}); trifluralin (4240 g ha^{-1}) + pendimethalin (1750 g ha^{-1}); sulfentrazone (800 g ha^{-1})]in 4 replications and 3 planting dates defined planting days after application (20DAA, 40DAA e 60DAA). The experimental units consist of plastic pots (3L) filled with soil. The herbicide was applied with a pressurized sprayer, providing adjustable spray volume of 200 L ha^{-1} . After both 20, 40 e 60 DAA were planted 1 MPB (one eye set) of sugarcane per plot. The variables phytotechnical evaluated were, chlorophyll content (relative units SPAD), plant height and dry matter of 60 days after planting (DAP). To 60 DAP characterized isoenzyme profile of α -esterase and peroxidase in the laboratory by electrophoresis on acrylamide gels and zymograms were made in the Excel Software 2010. The initial hypothesis was confirmed because the pattern of isoforms α -esterase and peroxidase did not differ in number of bands, corroborating the phytotechnical characteristics that did not differ from the control.*

Key-words: α -esterase. Peroxidase.

1 INTRODUÇÃO

A seletividade é a capacidade dos herbicidas em eliminar as plantas daninhas sem reduzir a produtividade e a qualidade do produto final obtido no cultivo (ABU-QARE & DUNCAN, 2002; NEGRISOLI, et al. 2004). Também é relacionada à capacidade da cultura em absorver e metabolizar os herbicidas, sendo essa uma característica intrínseca a cada cultura e suas cultivares. O herbicida deixa de ser seletivo quando não ocorre a desativação metabólica de sua molécula no metabolismo da planta, que passa ser susceptível e morre (BREAUX, 1987).

Uma vez que os herbicidas atingem as células vegetais a capacidade de defesa das plantas é ativada. Entre os complexos mecanismos de defesa a planta dispõe das enzimas de desintoxicação, que catalisam a conjugação da enzima glutatona com os mais diferentes substratos citotóxicos como xenobióticos (BILANG et al., 1993). Nas células a presença da



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

molécula de herbicida causa estresse oxidativo que gera radicais livres, peróxidos e superóxidos e o alívio desse estresse é realizado por enzimas, como a α -esterase e peroxidase.

A atividade enzimática da α -esterase e peroxidase é fundamental para manter ou diminuir os níveis de radicais O_2 e H_2O_2 , ao sequestrar íons metálicos e assim minimizar a formação do radical OH, que é tóxico para as células pois degradam lipídeos de membrana (MITTLER, 2002).

Assim surge como hipótese que dado herbicida seja seletivo quando o perfil isoenzimático das enzimas α -esterase e peroxidase nas plantas tratadas for similar ao das plantas testemunhas. Para comprovar a hipótese se objetiva estudar a aplicabilidade do perfil isoenzimático da α -esterase e peroxidase, comparativamente as características fitotécnicas, como ferramenta para avaliar a seletividade dos diferentes herbicidas aplicados em pré-plantio na cultura da cana-de-açúcar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado a 21° 12' 28.29" de latitude Sul, 47° 52' 23.30" de longitude Oeste e a 621 m de altitude de clima Cwa, segundo a classificação de Köppen. O experimento foi realizado em duas etapas.

Etapa de vasos

O experimento foi conduzido no período de setembro de 2013 a janeiro de 2014 e em vasos de plástico alocados em ambiente aberto. As unidades experimentais foram constituídas por vasos de plásticos (3 L) e preenchidos com terra de barranco de textura argilosa.

A terra empregada para o preenchimento dos vasos (3L) foi proveniente de barranco, de textura argilosa (58,1% de argila, 16,8% de areia e 25,1% de silte). Como composição química a terra apresentava 6,6 para $pH(CaCl_2)$; 8 g dm^{-3} para matéria orgânica; 71,96% para V%; 3 mg dm^{-3} para $P_{(resina)}$ e 0,74; 30,4; 4,78; 14 mmol $_c$ dm^{-3} , respectivamente, para K, Ca, Mg e H+Al. A terra foi peneirada, para eliminar material vegetal e torrões.

Os herbicidas (Tabela 1) foram aplicados com pulverizador costal pressurizado com CO_2 , regulado a 30 psi de pressão e equipado com pontas TT110/02 proporcionando volume de calda de 200 L ha^{-1} . Na sequência, os vasos foram distribuídos no local em delineamento inteiramente casualizados com os 8 tratamentos em 4 repetições, para cada época de plantio após os tratamentos. A aplicação aconteceu em 18/10/2013 teve início às 15:45 h, ocasião em que constatou-se 24,6°C de temperatura do ar, 67% de umidade relativa do ar, 6,5km h^{-1} para



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

velocidade do vento e nebulosidade de 40%. O término deu-se às 16:10 h à temperatura de 28,4°C, umidade relativa do ar 60%, velocidade do vento de 9 km h⁻¹, 50 % de nebulosidade.

Transcorridos 20, 40 e 60 DAA(dias após a aplicação) respectivamente, foi plantada uma MPB (muda pré-brotada) de cana-de-açúcar da cultivar IACSP95-5000 em cada vaso respeitando cada época de plantio, de modo que haviam 3 épocas de plantio, para cada tratamento e testemunha.

Tabela 1. Tratamentos utilizados nos experimentos com MPB (cultivar IACSP95-5000). Instituto Agrônômico, 2014.

Tratamentos	Nome comercial	Ingrediente ativo
T1	testemunha	Testemunha
T2	Plateau (350 g ha ⁻¹)	imazapic (245 g ha ⁻¹)
T3	Coact (105 g ha ⁻¹) + dual (2 L ha ⁻¹)	diclosulan(88,2 g ha ⁻¹) +s-metachlor(1920g ha ⁻¹)
T4	Contain (2000 mL ha ⁻¹)	imazapyr (500 g ha ⁻¹)
T5	Coact (105 g ha ⁻¹) + Goal (5 L ha ⁻¹)	diclosulan (88,2 g ha ⁻¹) +oxyfluorfen (1200 g ha ⁻¹)
T6	Dinamic (3000 g ha ⁻¹)	amicarbazone (2100 g ha ⁻¹)
T7	Trifluralina Nortox Gold (5000 mL ha ⁻¹) + Herbadox	trifluralin (4240 g ha ⁻¹) + pendimethalin (1750 g ha ⁻¹)
T8	Boral (1600 mL ha ⁻¹)	sulfentrazone (800 g ha ⁻¹)

O teor de clorofila, obtendo-se três leituras no terço médio da folha +1, utilizando-se do medidor de clorofila, modelo SPAD 502 do fabricante Minolta. A altura das plantas (cm) também foi avaliada, medindo a distância do solo até a inserção da última folha completamente desenvolvida.

Aos 60 DAP, foi obtida a massa seca das plantas. Primeiramente, as plantas de cada parcela serão cortadas rente ao solo, colocadas em saquinhos de papel e mantidos em estufa de circulação forçada a ar (70°C) até peso constante.

Os dados obtidos no campo foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Etapa de laboratório

Aos 60 DAP foram coletadas folhas para avaliar o perfil isoenzimático das enzimas peroxidase e α -esterase.

Na ocasião da coleta, em cada tratamento (Tabela 1), foi retirada uma folha de cada repetição, da qual considerará 5 cm do limbo foliar do terço médio para constituir a amostra composta que, por sua vez, foi acondicionada em cassetes de plástico do tipo histológico.

No momento da extração, para cada amostra, foram pesadas 0,2 g de tecido foliar, maceradas em cadinho de porcelana com auxílio de nitrogênio líquido. Para minimizar os efeitos destes compostos, foi adicionado 0,04 g de PVP 10 (Polivinilpirrolidona) a cada amostra macerada,



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

este composto tem a capacidade de adsorver e compostos secundários. Todo o procedimento de extração, e posteriormente a eletroforese, foi realizado em baixas temperaturas e as amostras mantidas sob gelo em tempo constante. Para a separação das isoenzimas optou-se pelo uso de poliacrilamida-Bis. As isoformas tanto da peroxidase como da α -esterase foram separadas em um sistema vertical de eletroforese em gel de Acrilamida-bis (30:0,8%) não desnaturante contendo tampão de corrida Tris Glicina (0,05 M, pH 8,0). Para a montagem do gel de poliacrilamida foram utilizados gel separador a 7 % e concentrador a 5 %. Para a separação foram utilizados uma alíquota de 30 μ L do extrato de tecido foliar. A eletroforese será conduzida em geladeira a 4°C para evitar a desnaturação das enzimas, a 200 volts por aproximadamente dez horas (ALFENAS & BRUNE, 2006a).

Após a corrida, os géis foram incubados em solução de coloração. Para coloração do sistema enzimático α -esterase, inicialmente os géis foram mantidos recipiente de vidro contendo 100 mL de solução tampão fosfato 0,1 M pH 6,2 [81,5 mL de solução A: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ 0,1M (4,14 g / 300 mL) + 18,5 mL de solução B: Na_2HPO_4 0,1 M (4,26 g / 300 mL)] em agitador tipo “Rocking Platform” Bio Rad a 20 rpm. Em seguida foram adicionados os reagentes α -naftil acetato e Fast Blue RR. Primeiro foram dissolvidos 0,02 g de α -naftil acetato em 500 μ L de acetona, em seguida esta solução dissolvida em 80 mL de solução tampão fosfato. Após um período de 15 minutos foram adicionados 20 mL da mesma solução tampão fosfato contendo 0,018 g de Fast Blue RR em condição de escuro, até o aparecimento de bandas (adaptado de ALFENAS & BRUNE et al., 2006a).

Para o sistema enzimático peroxidase, inicialmente, o gel será mantido em recipiente de vidro por 1 hora contendo o fixador acetato de sódio 0,10M pH 5,0 em agitador tipo “Rocking Platform” Bio Rad a 20 rpm. Após esse período, a solução fixadora será retirada e adicionadas as soluções 1 (100 mg de 3-amino-9-ethyl dissolvidos em 2,5 mL de N,N-dimetil-formamida) e 2 (60 mL de tampão peroxidase – acetato de sódio 0,05M pH 5,0; 3 mL de CaCl_2 0,10M e 200 μ L de H_2O_2) mantidas durante aproximadamente 20 minutos a 1 hora, no escuro, para revelação das bandas. Decorrido esse tempo, a solução será descartada, o gel lavado com água e adicionada à solução descorante por 10 minutos. Em seguida, foi adicionado a solução secadora.

A leitura das isoenzimas foi realizada com auxílio de um transiluminador, onde os perfis isoenzimáticos dos tratamentos serão comparados aos perfis das respectivas testemunhas em cada época de avaliação. Utilizando-se do software Excel, se reproduzirá as bandas e suas intensidades, confeccionando o zimograma.



3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para o teor de clorofila, não ocorreram diferenças significativas em relação a testemunha nas 3 épocas aos 60DAP, em media apresentaram 28,75 unidades relativas SPAD(Tabela 2). Corroborando com os dados, resultados similares foram verificados por Vitorino (2013), trabalhando com MPBs de cana e utilizando doses de amicarbazone (de 1440 até 4200 g ha⁻¹) e imazapir (de 500 até 1500 g ha⁻¹) em pré emergência obteve 43,08 unidades relativas aos 60DAP (165 DAA) na testemunha e não ocorreram diferenças significativas em relação ao teor de clorofila para as doses destes herbicidas.

Observando-se o zimograma aos 60 DAP (Tabela 3), o perfil isoenzimático de α -esterase e peroxidase não diferiram em número de bandas nas 3 épocas. Já Silva et al (2013), estudando interações entre diferentes níveis de adubação e herbicidas de diferentes mecanismos de ação, em pós emergência da cana, obtiveram diferenças em número de bandas para peroxidase, porém não verificaram essas diferenças para a α -esterase. Logo Beluci et al 2014, relataram que o perfil da α -esterase foi alterado em número quando utilizou-se de doses de glyphosate (de 1440 a 4320 g ha⁻¹) 1 e 12 dias respectivamente antes do plantio de *Glycine max* e *Zea mays*, mas não encontraram estas diferenças para *Arachis hypogea*. Cabral et al 2013 Constataram que o perfil de α -esterase apresentou comportamentos diferentes estudando 3 cultivares de cana de açúcar submetidos a doses de glyphosate (de 1440 a 4320 g ha⁻¹) em pós emergência, assim, a cultivar IACSP94-4004 diferiu mas RB724554 e IACSP93-3046 não diferiram em número de bandas em relação a testemunha

Em relação a intensidade das bandas, na época 1, os tratamentos T2, T4, T6 e T7 apresentaram maior intensidade para peroxidase e T2, T4, T6, T7 e T8 para α -esterase. Para a época 2 os tratamentos T6, T7 e T8 apresentaram maior intensidade para peroxidase e T2, T6, T7 e T8 para α -esterase, indicando que mesmo esperando 40 dias para o plantio após a aplicação desses tratamentos, as MPBs ainda estariam em processo de metabolização destes herbicidas. Na época 3 não ocorreram alterações no perfil da peroxidase em relação a testemunha, porém, os tratamentos T6 e T7 no perfil de α -esterase ainda apresentavam maior intensidade nas bandas, dessa forma, T6 e T7 apresentaram maior intensidade nas bandas para três épocas. Silva et al (2013) Averiguaram que a intensidade das isoformas de α -esterase e peroxidase diferiu para tratamentos herbicida, o que pode ser um indício de maior atividade enzimática, principalmente pela α -esterase, que mesmo sem aparentar sintomas de intoxicação aos 58DAA apresentou menor intensidade nas bandas e ainda estava em processo de metabolização dos herbicidas.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

A altura das plantas apresentava em média nas testemunhas 12,9cm respectivamente, nas épocas aos 60 DAP, porém, não diferiram dos tratamentos herbicidas indicando que mesmo as plantas estarem gastando energia metabolizando herbicidas em alguns tratamentos não foi um gasto suficiente para manifestar quedas no crescimento das plantas. A massa seca apresentou comportamento semelhante ao teor de clorofila e a altura das plantas, as testemunhas aos 60 DAA apresentaram valores de 6,41 g planta⁻¹ em média, e não foi suficiente para diferir dos tratamentos herbicidas, e isto evidencia ainda mais a possibilidade de que a cultivar utilizada (IACSP95-5000) na forma de MPB, mesmo apresentando variações nos sintomas de intoxicação e nas isoformas de α -esterase e peroxidase foi tolerante aos herbicidas utilizados no estudo, pois não prejudicou o teor de clorofila, altura e principalmente a massa seca.

Tabela 2. Avaliações fitotécnicas de seletividade em três épocas de plantio após aplicação de herbicidas aos 60 dias após o plantio [DAA = Dias após aplicação ; DAP = dias após plantio; orig = dados originais; transf = Dados transformados em Raiz de X + alfa (=1)]

plantio	Tratamentos	Teor de clorofila (Spad)		Altura de planta (cm)		massa seca (g/planta)	
		orig	transf	orig	transf	orig	transf
		20DAA (época 1)					
T1- Testemunha	29,00	5,47a	10,50	3,39a	6,00	2,64a	
T2- imazapic (245 g ha)	33,00	5,82a	14,00	3,87a	7,31	2,87a	
T3- diclosulan (88,2 g ha)+s-metolachlor (1920 g ha)	32,75	5,79a	12,75	3,70a	8,24	3,03a	
T4- imazapyr (500 g ha)	30,25	5,59a	13,25	3,78a	5,79	2,60a	
T5- diclosulan (88,2 g ha)+oxyfluorfen (1200 g ha)	26,25	5,21a	13,75	3,84a	6,32	2,69a	
T6- amicarbazone (2100 g ha)	35,00	5,99a	12,50	3,64a	4,86	2,40a	
T7-trifluralin (2250 g ha) + pendimethalin (1750 g ha)	34,25	5,92a	13,50	3,81a	6,81	2,79a	
T8- sulfentrazone (800 g ha)	32,00	5,74a	12,25	3,59a	7,14	2,82a	
CV (%)	-	7,67	-	9,55	-	10,78	
dms	-	1,02	-	0,83	-	0,69	
40DAA (época 2)							
T1- Testemunha	25,00	5,09a	12,75	3,70a	4,55	2,34a	
T2- imazapic (245 g ha)	30,25	5,57a	13,50	3,81a	4,03	2,23a	
T3- diclosulan (88,2 g ha)+s-metolachlor (1920 g ha)	22,50	4,85a	10,75	3,42a	3,17	2,04a	
T4- imazapyr (500 g ha)	26,25	5,21a	10,75	3,43a	3,26	2,06a	
T5- diclosulan (88,2 g ha)+oxyfluorfen (1200 g ha)	27,75	5,36a	11,75	3,57a	3,98	2,22a	
T6- amicarbazone (2100 g ha)	28,75	5,45a	12,50	3,66a	3,66	2,16a	
T7-trifluralin (2250 g ha) + pendimethalin (1750 g ha)	26,50	5,24a	13,00	3,74a	4,40	2,31a	
T8- sulfentrazone (800 g ha)	28,00	5,38a	12,00	3,60a	4,29	2,30a	
CV (%)	-	6,24	-	7,09	-	9,01	
dms	-	0,77	-	0,6	-	0,47	
60DAA (época 3)							
T1- Testemunha	32,25	5,73a	15,25	4,03a	8,68	3,07a	
T2- imazapic (245 g ha)	32,00	5,72a	16,50	4,19a	8,27	3,00a	
T3- diclosulan (88,2 g ha)+s-metolachlor (1920 g ha)	31,00	5,64a	13,75	3,82a	9,44	3,16a	
T4- imazapyr (500 g ha)	31,75	5,70a	14,25	3,90a	7,36	2,88a	
T5- diclosulan (88,2 g ha)+oxyfluorfen (1200 g ha)	33,25	5,83a	12,50	3,67a	6,04	2,62a	
T6- amicarbazone (2100 g ha)	30,50	5,59a	13,50	3,81a	7,89	2,96a	
T7-trifluralin (2250 g ha) + pendimethalin (1750 g ha)	32,75	5,78a	14,75	3,96a	9,13	3,14a	
T8- sulfentrazone (800 g ha)	30,75	5,60a	12,25	3,64a	6,16	2,64a	
CV (%)	-	11,08	-	6,95	-	18,89	
dms	-	1,48	-	0,63	-	1,30	

Tabela 3. Zimograma (perfil izoenzimático) de peroxidase e α -esterase nas MPBs de cana de açúcar aos 60 DAP de cada época.

	20 DAA (época 1)								40 DAA (época 2)								60 DAA (época)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
peroxidase	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
α -esterase	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

4 CONCLUSÃO

A hipótese inicial foi confirmada devido ao padrão das isoformas α -esterase e peroxidase não diferiam em número de bandas, corroborando com as características fitotécnicas, teor de clorofila, altura e massa seca que também não diferiram e dessa forma verificou-se seletividade dos MPBs de Cana da cultivar IACSP95-5000.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida. Ao IAC Centro de Cana pela oportunidade de estágio.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-QARE, A. W.; DUNCAN, H. J. Herbicide safeners: uses, limitations, metabolism, and mechanisms of action. **Chemosphere**, v.48, p. 965–974, 2002.

ALFENAS, A.C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de poliacrilamida. In: ALFENAS, A.C. (Ed). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. P.151 – 182a.

BELUCI, L. R.; AZANIA, C.A.M.; VITORINO, R.; AZANA, A.A.P.M.; GARCIA, J.C.; SILVA, D.M. Emergência e estabelecimento de plantas cultivadas após aplicação de glyphosate. **Nucleus**, v.11, n.1, 2014.

BILANG, J.; MACDONALD, H.; KING, P. J.; STURM, A. A soluble auxin-binding protein from *hyoscyamus muticus* is a glutathione s-transferase. **Plant Physiology**. v.102, p. 29-34,1993.

BREAUX, E. J.; PATANELLA, J.E.; SANDERS, E. F. Chloroacetanilide Herbicide Selectivity: Analysis of Glutathione and Homoglutathione in Tolerant, Susceptible, and Safened Seedling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, p.474-478,1987.

CABRAL, R.A.; AZANIA, C.A.M.; PINTO, L.R.; AZANIA, A.A.P.M. Phenotypic and biochemical responses of sugarcane cultivars to glyphosate application. **Sugar Tech** v.15, n.2 p127–135, 2013.

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

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**, Viçosa, v.22, n. 4, p. 567-575, 2004.

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.

VITORINO, R. **Controle químico de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) com amicarbazone e imazapyr e a seletividade sobre a cana-de-açúcar**. Fundação educacional de Ituverava faculdade dr. Francisco maeda, 2013.