

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

MARIA EDUARDA JARDIM SILVA

**DISCRIMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES E
SUSCETÍVEIS À *Diatraea Saccharalis* BASEADA EM CARACTERES
ANATÔMICOS**

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

MARIA EDUARDA JARDIM SILVA

**DISCRIMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES E
SUSCETÍVEIS À *Diatraea Saccharalis* BASEADA EM CARACTERES
ANATÔMICOS**

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

Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa
Coorientadores: Edgard Augusto de T. Picoli
Reinaldo Francisco Teófilo

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586d
2021

Silva, Maria Eduarda Jardim, 1995-
Discriminação de genótipos de cana-de-açúcar resistentes e
suscetíveis à *Diatraea saccharalis* baseada em caracteres
anatômicos / Maria Eduarda Jardim Silva. – Viçosa, MG, 2021.
1 dissertação eletrônica (93 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 61-68.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.043>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Cana-de-açúcar - Anatomia. 2. Cana-de-açúcar -
Melhoramento genético. 3. Cana-de-açúcar - Resistência a
doenças e pragas - Aspectos genéticos. 4. Broca-da-cana.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.612

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

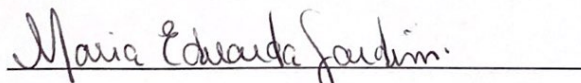
MARIA EDUARDA JARDIM SILVA

DISCRIMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES
E SUSCETÍVEIS À *DIATRAEA SACCHARALIS* BASEADA EM
CARACTERES ANATÔMICOS

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

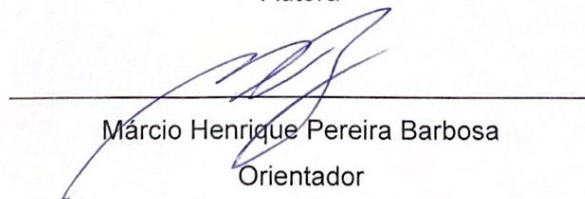
APROVADA: 2 de julho de 2021.

Assentimento:



Maria Eduarda Jardim Silva

Autora



Márcio Henrique Pereira Barbosa

Orientador

À minha avó, Leila, luz da
minha vida. Sei que sempre
estará comigo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda proteção, força e fé que me concede todos os dias de minha vida.

À minha mãe, Karla, por todo carinho, sacrifício, doação e por ser meu maior amor.

Ao meu pai, Vitor, pelo amor incondicional, e ao meu pai, Mário, pelo suporte e incentivo.

Ao meu avô Paulo, meu grande exemplo, e à minha avó, Leila (*in memoriam*), que vibrou em vida minha aprovação no mestrado e hoje me concede forças ao lado do Pai.

Ao meu noivo, Heytor, por todo o amor, companheirismo e amizade ao longo de todos esses anos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela estrutura e oportunidade de realização do curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Márcio Henrique Pereira Barbosa, pela confiança, auxílio e suporte ao longo do desenvolvimento do trabalho.

Aos meus coorientadores, Prof. Edgard Augusto de Toledo Picoli e Reinaldo Francisco Teófilo, por todos os ensinamentos, ajuda e confiança na execução do experimento.

À Maria Luiza Said Marangon, pela amizade e ajuda em todas as etapas do trabalho.

Aos funcionários e estudantes do Laboratório de Anatomia Vegetal e MCDaLab pelo auxílio.

Ao Gener, Noé, Flaviane e Ana Bárbara pelas sugestões, auxílio e apoio.

Ao Danival, Tiago e à todos os funcionários do Vale da Agronomia e da Estação Experimental do Aeroporto pela ajuda na condução do experimento.

À todos os amigos que me ajudaram ao longo destes anos, me dando força, incentivo e alegrias.

À todos que contribuíram de alguma forma para meu crescimento profissional,
agradeço.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Maria Eduarda Jardim Silva, filha de Karla Patrícia de Oliveira Jardim Madjarof e Mário Sérgio da Cruz Silva, nasceu em Belo Horizonte – MG, em 20 de março de 1995.

Em março de 2014 ingressou na Universidade Federal de Viçosa onde se graduou em Agronomia, obtendo o título em janeiro de 2019.

Em março de 2019 iniciou o curso de Mestrado em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa em julho de 2021.

RESUMO

SILVA, Maria Eduarda Jardim, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Discriminação de genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis* baseada em caracteres anatômicos.** Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli e Reinaldo Francisco Teófilo.

O uso de variedades resistentes é um dos métodos mais sustentáveis para o controle da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi descrever a anatomia foliar de genótipos de cana-de-açúcar, previamente caracterizados como resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*. Para isso, foram utilizados 23 genótipos de cana-de-açúcar, sendo 13 resistentes e dez suscetíveis à broca. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Estação Experimental Diogo Alves de Mello, Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa. Foi utilizado o delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Seis meses após o plantio foram coletados, de cada genótipo, a região do limbo da folha +1, primeira folha completamente desenvolvida, e a região da bainha da folha 0, folha imediatamente superior a +1, para a montagem de lâminas permanentes. O material foi observado e fotografado utilizando o microscópio Olympus AX70. Em conjunto, foi realizada a quantificação de silício presente nas folhas de cana-de-açúcar (%Si). Foram avaliadas características estruturais e anatômicas na região da bainha e do limbo foliar. Os dados foram coletados por meio do *software* Image Pro Plus® e submetidos a análise de variância. Quando significativo pelo teste F, foi realizada a comparação entre as médias dos genótipos por meio do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Houve diferença significativa para a maior parte dos caracteres da região do limbo e da bainha. A %Si não permitiu a separação dos genótipos contrastantes. A espessura de epiderme na face adaxial (EAD-L) e abaxial (EAB-L) do limbo e da bainha (EAD) foram significativos ($P < 0,05$) e apresentaram médias maiores nos genótipos resistentes. Conclui-se que a diferença da anatomia foliar entre os genótipos contrastantes dá suporte a hipótese de uma barreira física, atribuída à estrutura das folhas de cana-de-açúcar, e consista em uma das estratégias de resistência à *Diatraea saccharalis*.

Palavras-chave: Anatomia vegetal. Melhoramento genético. Resistência de plantas. *Diatraea saccharalis*.

ABSTRACT

SILVA, Maria Eduarda Jardim, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Discrimination of sugarcane genotypes resistant and susceptible to *Diatraea saccharalis* based on anatomical characteristics.** Advisor: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Co-advisors: Edgard Augusto de Toledo Picoli and Reinaldo Francisco Teófilo.

The use of resistant cultivars is one of the most sustainable methods for controlling the sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*). Thus, the objective of this study was to characterize the leaf anatomy of sugarcane genotypes, previously characterized as resistant and susceptible to *Diatraea saccharalis*. For this, 23 sugarcane genotypes were used, being 13 resistant and ten susceptible to the borer. The experiment was conducted in a greenhouse, at the Diogo Alves de Mello Experimental Station, Department of Plant Science, Federal University of Viçosa. A randomized block design with four replications was used. Six months after planting, the leaf blade region +1, the first fully developed leaf and the leaf sheath region 0, leaf immediately above +1, were collected from each genotype for the assembly of the permanent blades. The material was observed and photographed on an Olympus AX70 microscope. Together, the quantification of silicon present in sugarcane leaves (%Si) was performed. Structural and anatomical characteristics in the region of the sheath and leaf blade were evaluated. Data were collected using Image Pro Plus® software and submitted to analysis of variance. When significant by the F test, the comparison between the means of the genotypes was performed using the Tukey test at a 5% probability level. There was a significant difference for most characters from the leaf blade and sheath regions. %Si did not allow the separation of contrasting genotypes. The thickness of the epidermis on the adaxial (EAD-L) and abaxial (EAB-L) sides of the leaf blade and sheath (EAD) were significant ($P < 0.05$) and presented higher means in the resistant genotypes. It is concluded that the difference in leaf anatomy between the contrasting genotypes supports the hypothesis of a physical barrier, attributed to the structure of sugarcane leaves, and consists of one of the resistance strategies to *Diatraea saccharalis*.

Keywords: Plant anatomy. Breeding. Plant resistance. *Diatraea saccharalis*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Importância da cana-de-açúcar no Brasil.....	12
2.2 Aspectos culturais e estruturais da Cana-de-açúcar	13
2.3 A broca da cana-de-açúcar (<i>Diatraea saccharalis</i>)	15
2.4 Resistência de plantas aos artrópodes	17
2.5 O silício na cana-de-açúcar	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo geral.....	20
3.2. Objetivo específicos	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Material Genético	21
4.2 Execução experimental.....	23
4.2.1. Condução do experimento	23
4.2.2. Procedimentos para análises de Anatomia	24
4.2.3 Caracteres avaliados na análise anatômica	28
4.2.4. Procedimentos para a quantificação de silício do limbo foliar da cana-de-açúcar.....	30
4.3 Análises Estatísticas	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 Amplitude e média dos valores genotípicos.....	36
5.2 Estimativa de contrastes entre as médias do grupo resistente e do grupo suscetível à <i>Diatraea saccharalis</i>	40
5.3 Análise de variância individual	42
5.4 Teste comparativo entre médias	47
5.4.1 Teste comparativo entre médias dentro dos grupos	48
5.4.2 Teste comparativo entre médias considerando todos os genótipos	49
5.5 Diversidade Genética.....	56
6. CONCLUSÃO.....	60
7. REFERÊNCIAS.....	61
8. APÊNDICES.....	69

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Seu uso é extremamente versátil, sendo uma cultura utilizada desde o consumo *in natura* até a fabricação de açúcar, etanol e energia. A principal importância econômica da cana-de-açúcar é a sua capacidade de produzir e armazenar grande quantidade de sacarose, que está vinculada a três importantes agroindústrias: açúcar, álcool e aguardente (OMETTO, 2000).

Segundo dados da CONAB, na safra 2020/21 foram mais de 642,1 milhões de toneladas, em uma área de 8,4 milhões de hectares. A cana-de-açúcar foi responsável por 9,9 bilhões de reais provenientes de exportação na safra 2020/21, apresentando significativa importância econômica e diversa gama de utilização. A região sudeste se mantém como a maior produtora, responsável por 64% da produção nacional, com mais de 415 milhões de toneladas colhidas.

Apesar do destaque, parte significativa da produção é perdida em decorrência do ataque de pragas. Cerca de 80 espécies de pragas podem atacar a cultura no Brasil, gerando uma perda estimada em 20% da produção anual (ROSSETTO; SANTIAGO, 2007).

A broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) destaca-se entre as pragas que afetam a cultura. Devido a sua ampla distribuição e intenso dano econômico, este herbívoro é considerado a principal praga da cana-de-açúcar. As lagartas de *D. saccharalis* podem gerar danos diretos na cultura, por meio da abertura de galerias no colmo, ocasionando perda de peso e potencial morte da planta. De maneira indireta, a abertura de galerias permite a entrada de fungos patogênicos, como é o caso dos fungos *Fusarium moliniforme* e *Colletotricum falcatum*.

Organismos-praga reduzem a produção das culturas ao atacá-las, diminuem a qualidade dos produtos e geram perdas econômicas. Dessa forma, é necessário adotar medidas sistemáticas visando o controle desses insetos (PICANÇO, 2010). Cerca de 616 quilos de cana, 28 litros de açúcar e 80 toneladas por hectare são perdidos para cada 1% de intensidade de infestação da broca. (ROSSETTO; SANTIAGO, 2007).

Dentre os métodos de controle de pragas, o desenvolvimento de cultivares resistentes tem se destacado, devido à redução dos custos de produção e melhoria

na qualidade da lavoura (DEMETRIO et al., 2008). A resistência de plantas pode ser utilizada no Manejo Integrado de Pragas (MIP), auxiliar na redução das perdas e serve como base para estudos de melhoramento genético da cultura (POSEY et al., 2006).

As plantas possuem diversos mecanismos relacionados à resistência ao ataque de insetos. Tais mecanismos podem ser divididos em três categorias: antibiose, antixenose ou tolerância. A antibiose ocorre quando as plantas exercem um efeito negativo no desenvolvimento do inseto, alterando sua biologia (LARA, 1991). Já na antixenose, ou não preferência, o genótipo é menos preferido que outro em iguais condições (BASTOS et al., 2015). A tolerância está relacionada com a capacidade da planta em suportar a herbivoria, sem que esta cause prejuízos em seu desenvolvimento. Esta característica é dependente apenas da capacidade das plantas em superar o dano, sem estar diretamente relacionada com o inseto. (GULLAN & CRANSTON, 2007).

As defesas podem ser divididas de duas formas: constitutivas ou induzidas. As defesas constitutivas são as que existem na planta antes de haver algum tipo de ataque, enquanto as induzidas são produzidas após ocorrer a herbivoria (KARBAN, 2008). Diferenças na anatomia da planta, paredes celulares lignificadas, presença de cristais de sílica ou espinhos constituem formas naturais de defesa, com o intuito de dificultar ou impedir o dano provocado pela praga. Plantas acumuladoras de silício podem apresentar uma menor incidência do ataque de insetos, em decorrência da formação de barreiras mecânicas por meio de uma maior deposição de sílica na epiderme (MARSCHNER, 1995). São consideradas plantas acumuladoras de silício aquelas com teor foliar acima de 1%, como a cana-de-açúcar (MA et al., 2001). Tais fatores, dentre outros, representam uma barreira física, dificultando a predação ou a capacidade de locomoção dos artrópodes (CARRAPIÇO, 1998).

A obtenção de genótipos resistentes a pragas é uma das principais linhas de pesquisa dos programas de melhoramento genético. Entender o funcionamento dos mecanismos de resistência é de fundamental importância para o desenvolvimento de novos genótipos e fontes de resistência e, conseqüentemente, reduzir os danos que estes organismos geram nas culturas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é uma planta pertencente à família Poaceae do gênero *Saccharum*. É originária do sudeste asiático, sendo as ilhas do arquipélago da Polinésia e a Nova Guiné os locais de surgimento mais aceitos pelos pesquisadores.

No Brasil, a introdução da cultura foi feita no início do século XVI por Martin Afonso de Souza. Em 1532 foi construído o primeiro engenho na Capitania de São Vicente. No final do mesmo século, outros estados brasileiros já detinham um grande número de engenhos, possibilitando que o Brasil detivesse o monopólio mundial da produção.

Dentre os subprodutos que estão diretamente ligados com a cultura da cana-de-açúcar destacam-se o etanol e o açúcar. Considerado uma das grandes alternativas no setor de biocombustíveis, o etanol proveniente da cana-de-açúcar apresentou uma produção de 27,9 bilhões de litros (CONAB, 2021). Em conjunto, a produção de açúcar na safra 2020/21 foi de 39,3 milhões de toneladas, com crescimento de 32% em relação ao produzido na última safra (CONAB, 2021). Outros subprodutos de importância econômica também são gerados, contribuindo para a sustentabilidade do setor: o bagaço, que pode ser utilizado para a geração de energia, produção de celulose e na alimentação de gado confinado; e a vinhaça, utilizada na alimentação de animais, produção de proteínas e fertilização de solos.

No Brasil, a cana-de-açúcar é uma cultura com grande importância econômica, cultural e social e ocupa lugar de destaque na agricultura brasileira. A produção brasileira, na safra 2020/21, foi de 642,1 milhões de toneladas, mantendo o Brasil como o maior produtor mundial da cultura. A maior parte da produção se concentra na região sudeste, responsável por aproximadamente 64% da produção nacional, sendo São Paulo o maior estado produtor.

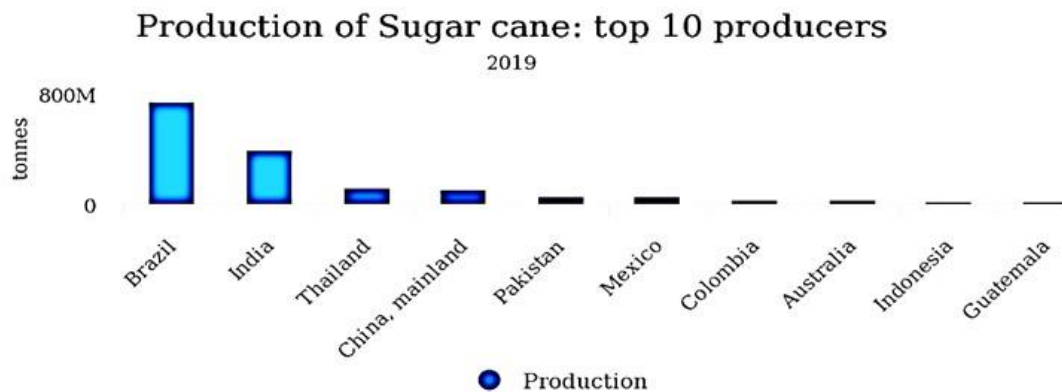


Figura 1. Os 10 maiores produtores mundiais de cana-de-açúcar (FAOSTAT, 2021).

2.2 Aspectos culturais e morfológicos da Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta semi-perene que possibilita a realização de mais de um corte sem a necessidade de replantio (SCORTECCI et al., 2012). A propagação da cana-de-açúcar é de forma assexuada, por meio de partes do colmo que dispõem de uma gema lateral, conhecidos como toletes. As gemas são formadas por tecidos em estado de latência e grande diferenciação celular (AUDE, 1993). Um único plantio de cana-de-açúcar viabiliza a realização de 3 a 6 cortes antes de ser necessária a renovação do canavial.

Dentre os fatores que possibilitaram o excelente desenvolvimento da cana-de-açúcar no Brasil podemos destacar as condições edafoclimáticas do país. Própria de climas subtropicais e tropicais, a cana-de-açúcar possui metabolismo C4, sendo considerada altamente eficiente na conversão de energia luminosa em energia química. A temperatura ideal para o seu desenvolvimento é de 22°C a 30°C, com temperatura mínima de 20°C. Temperaturas inferiores a este valor influenciam negativamente no acúmulo de sacarose e na taxa de alongamento do colmo.

A cultura, entretanto, consegue tolerar temperaturas elevadas, desde que exista irrigação ou umidade do solo (MAGALHÃES, 1987). Para o brotamento dos toletes a temperatura do solo deve variar de 32°C a 38°C (BARBIERI; VILLA NOVA, 1977). A umidade do solo é um fator essencial para o desenvolvimento, sendo a necessidade hídrica da cana-de-açúcar em torno de 1.500 milímetros de água por ciclo.

A planta é constituída por partes subterrâneas, como raízes e rizomas, e partes aéreas como colmo, folhas e flores (MOZAMBANI et al., 2006). O caule, também conhecido como colmo, é um órgão de reserva, envolto pelas folhas alternadas. Os colmos principais, desenvolvidos a partir das gemas do tolete, desenvolvem rizomas (caules subterrâneos, espessados, ricos em reservas, providos de nós e entrenós e de crescimento horizontal) (OHASHI, 2014).

A folha da cana-de-açúcar é dividida em duas partes: bainha e limbo foliar (Figura 2). O local onde ocorre a junção do limbo é chamado de "barbelas". As folhas são numeradas pelo sistema de Kuijper, sendo a primeira folha de cima para baixo do talo, com barbelas vistas claramente, designada +1 (CASAGRANDE, 1991).

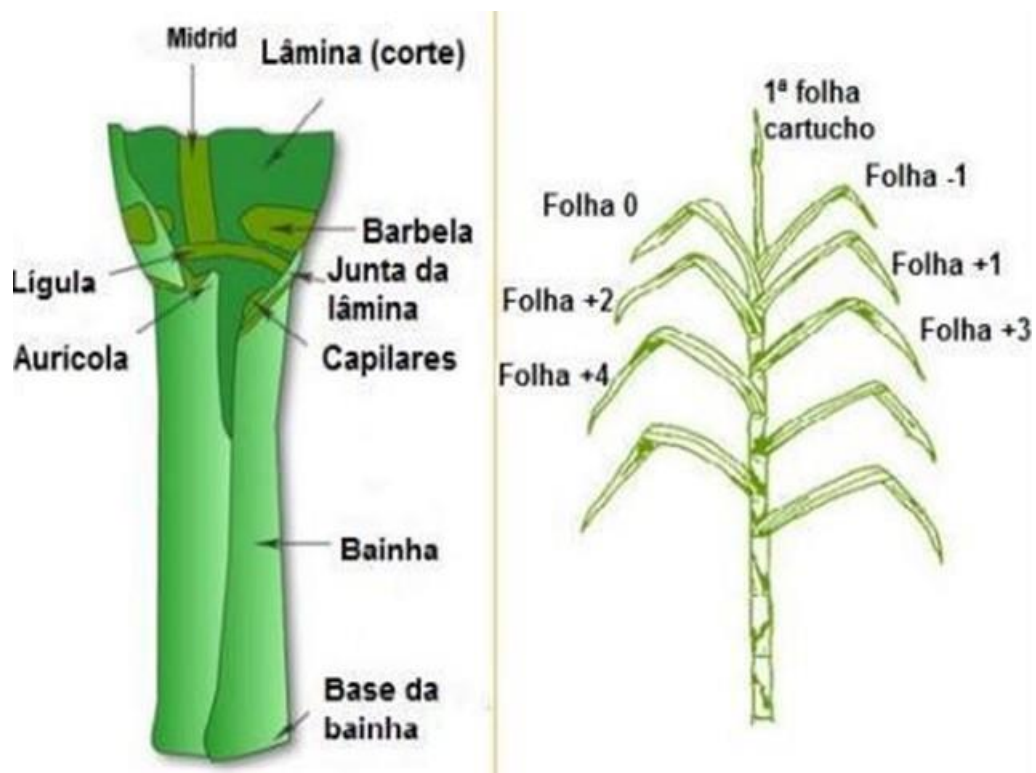


Figura 2. Sistema de numeração de folhas no sistema estabelecido por Kuijper (CASAGRANDE, 1991).

O melhoramento genético da cana-de-açúcar contribui para o aumento da produtividade, qualidade do material e rentabilidade da esfera sucroalcooleira. Estudos visando a obtenção de genótipos mais resistentes à pragas, ao estresse hídrico e à doenças são fundamentais para o desenvolvimento do setor.

2.3 A broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*)

Os insetos-praga são um dos principais fatores limitantes que influenciam a produção de cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA, 2008). Existem mais de 1500 insetos-praga que afetam a cultura da cana-de-açúcar no mundo (ERLER, 2010).

A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Crambidae), é a principal praga da cultura. Este herbívoro destaca-se das outras por sua ampla distribuição, intensidade de ataque e dano econômico. Por se tratar de uma praga polígafa, ataca outras culturas como arroz, aveia, milho, sorgo e trigo. Esse inseto vem sendo controlado por meio de controle químico e biológico, uma vez que não há genótipos comerciais de cana-de-açúcar resistentes à essa praga no Brasil (TOMAZ et al., 2017).

Esse inseto praga é encontrado em todas as regiões produtoras do Brasil e pode ser observado durante todo o ano. A ocorrência de altas temperaturas e umidade elevada favorecem a proliferação da broca, fazendo com que a região Centro-Sul seja mais afetada, principalmente durante as estações primavera e verão. De acordo com Pinto (2006), durante todo o desenvolvimento da cana-de-açúcar pode ocorrer o ataque da broca.

As fêmeas ovipositam tanto a face adaxial quanto a face abaxial do limbo foliar, assim como a bainha da folha, sendo estimado cerca de cinco a 50 ovos em cada postura (PIMENTEL, 2016). Após a eclosão dos ovos, as lagartas realizam a raspagem da folha, permanecendo nesse local até a primeira ecdise, onde se dirigem para o colmo, penetrando neste local pela região próxima à bainha da planta. De coloração inicialmente branca, as lagartas adquirem uma coloração creme e apresentam manchas escuras com o passar do tempo. O ciclo de vida da broca varia de 53 a 60 dias, dependendo das condições climáticas (GALLO, 2002).

As lagartas de *Diatraea saccharalis* causam prejuízos diretos e indiretos na cultura. Diretamente, a abertura das galerias leva à perda de massa da planta, falhas na germinação, enraizamento aéreo, brotação lateral, quebra do colmo, diminuição da produtividade e morte de algumas plantas atacadas. De forma indireta, a abertura dos orifícios provoca o secamento dos ponteiros, sintoma conhecido como coração morto, o qual facilita tombamentos pelo vento e permite a entrada de fungos pelos orifícios abertos pelas lagartas. Os fungos *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium*

mononiliforme ocasionam, respectivamente, as doenças podridão e podridão-vermelha. Por consequência, ocorre a diminuição no teor de sacarose, devido à inversão em açúcares redutores (frutose e glicose), contaminação do caldo, diminuição na eficiência de moagem e aumento do teor de fibra (DINARDO-MIRANDA, 2008; DINARDO-MIRANDA et al., 2012)

A porcentagem de entrenós atacados pela broca pode ser medida por meio da intensidade de infestação. Com a utilização desse índice é possível determinar quando e qual a melhor forma de controle (MACEDO; LAVORENTI, 2004). Estudos mostram que para cada 1% de intensidade de infestação da praga, ocorrem prejuízos de 0,25% de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de peso (GALLO et al., 2002).

As principais formas atuais de controle de *Diatraea saccharalis* são o controle biológico e controle químico. Para o controle biológico, é utilizado principalmente os parasitóides *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) e *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). No controle químico, o momento da aplicação de inseticidas é crucial, uma vez que após perfurarem e penetrarem no colmo, o efeito do produto apresenta grande perda na eficácia.

O uso de variedades resistentes é o meio mais econômico e apropriado para o manejo de pragas e doenças (MILLIGAN et al., 2003). Segundo Lara (1991), a utilização de variedades resistentes é considerada um método de controle ideal, visto que as populações da broca podem ser mantidas abaixo do nível de dano econômico concomitantemente à redução da contaminação dos agroecossistemas pela redução do uso de agroquímicos.

A utilização de plantas geneticamente modificadas (GM), como o caso da Cana BT, a qual recebeu um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis*, permite o controle mais eficiente e o cultivo de cana-de-açúcar em regiões com elevadas infestações de praga.

Dessa maneira, a utilização de variedades de cana-de-açúcar resistentes a essa praga é de extremo interesse, uma vez que possibilitaria a redução dos custos de produção, diminuindo a aplicação de defensivos e os custos com o controle biológico, além de garantir uma elevada produtividade associada a uma colheita de qualidade.

2.4 Resistência de plantas aos artrópodes

A melhoria da eficiência na seleção de materiais genéticos resistentes a pragas é uma demanda importante dos Programas de Melhoramento de Plantas. A utilização de variedades resistentes tem sido considerada um dos principais métodos de controle de pragas por apresentar baixo custo e permitir o manejo integrado com o controle biológico (BOTELHO; MACEDO, 1988).

Podemos considerar uma planta como resistente quando, devido à sua constituição genética, ela é menos danificada que outra, em igualdade de condições (SMITH, 2005). Dessa forma, é possível observar diferentes respostas em genótipos diferentes, quando submetidos à mesma situação, dependendo de suas características fenotípicas, morfológicas ou químicas.

Tomaz et al. (2017) relatou que a resistência da cana-de-açúcar à artrópodes é baseada em complexas contribuições e interações entre diversos componentes. A resistência de plantas pode ser influenciada pela própria planta, ambiente ou inseto. A resistência, quando relacionada com as plantas, sofre influência de fatores como idade, parte afetada, infestações anteriores e densidade foliar. Quando relacionada ao ambiente, as condições edafoclimáticas e disponibilidade de nutrientes são fatores de importância. A resistência relacionada ao inseto será dependente do tamanho da população, idade e espécie (LARA, 1991). Uma planta, quando considerada resistente a uma praga, não será obrigatoriamente resistente a outra.

Segundo Painter (1951), as formas de resistência podem ser classificadas em três categorias: antibiose, tolerância e antixenose ou não-preferência. A antibiose se caracteriza pela influência dos caracteres químicos, físicos e morfológicos presentes nos genótipos resistentes, os quais alteram a biologia do inseto. Tais caracteres podem causar redução de tamanho, peso, diminuição da fertilidade e mortalidade dos insetos (PANDA & KHUSH, 1995). Já a tolerância é a capacidade do genótipo se recuperar e manter sua produção, sem perdas significativas, apesar de atacada por uma população de artrópodes-praga aproximadamente igual à que prejudica a produção de plantas suscetíveis (SMITH, 2005). A antixenose ou não-preferência, pode ser observada quando um genótipo é não preferido pelo inseto quando comparado com outros genótipos em iguais condições (RECTOR et al., 2000).

A antixenose pode ocorrer em decorrência de características químicas ou físicas da planta. As características químicas estão relacionadas a substâncias que afetam a digestibilidade dos insetos ou são repelentes, tornando a planta não atrativa aos mesmos. Os fatores físicos incluem a radiação, uma vez que os insetos podem ser mais sensíveis a determinadas faixas de frequência de ondas e cores refletidas (OLIVEIRA et al., 2017) e a aspectos morfológicos da planta.

O fator morfológico está ligado às características estruturais, superficiais ou anatômicas da planta, que auxiliam a preservação de danos (LARA, 1991). A presença de espinhos e tricomas podem dificultar a mobilidade dos insetos, funcionando como obstáculo (MATOS et al., 2009). Paredes celulares lignificadas ou com a presença de cristais de sílica, por sua vez, oferecem uma barreira à penetração e danos ao aparelho bucal dos insetos (CARRAPIÇO, 1998). Tais fatores podem alterar a ovoposição, alimentação ou abrigo (BASTOS et al., 2015).

As defesas de plantas à artrópodes podem ser divididas em constitutivas ou induzidas e diretas ou indiretas. As defesas constitutivas são as que existem na planta antes de haver algum tipo de ataque. São características intrínsecas e inatas ao indivíduo. Defesa induzida é aquela em que algo é produzido, alterado, translocado ou tem sua produção aumentada no momento em que ocorre o ataque pelo inseto-praga (KARBAN, 2008).

As defesas mecânicas, tais como barreira física pelo fortalecimento da parede celular, presença de lignina, aumento na concentração de silício e outros fenóis são formas diretas de resistir ao ataque das pragas. Essas características dificultam a predação pelo inseto e impedem a obtenção de alimento pelo mesmo. Indiretamente, a defesa pode ocorrer por meio da liberação de compostos voláteis que atraem inimigos naturais (WEI et al., 2007).

A compreensão dos fatores que levam à resistência de plantas à pragas é uma ferramenta importante para a formulação de estratégias de pesquisa, uma vez que permite direcionar os estudos de acordo com a causa raiz. Com isso, é possível verificar quais são os mecanismos de resistência utilizados pelos genótipos e direcionar os programas de melhoramento na obtenção de novos materiais.

2.5 O silício na cana-de-açúcar

O silício (Si) é um elemento de grande abundância na crosta terrestre e compõe até 10% da massa seca de plantas acumuladoras do elemento, como as da família *Poaceae* (SAVANT et al., 1997). Os valores de Si variam entre os órgãos da planta, sendo encontradas maiores quantidades nas folhas (KEEPING; MEYER, 2006). A cana-de-açúcar é uma das culturas que possui melhor aproveitamento da adubação silicatada. As plantas que possuem teor foliar acima de 1% são consideradas plantas acumuladoras de silício, enquanto as com teores de Si inferiores a 0,5% (Ma et al., 2001), são não acumuladoras. A aplicação de silício pode ser realizada tanto via foliar como aplicado via solo, tendo como fontes metassilicatos, ácido silícico e silicatos (REZENDE, 1992).

Apesar deste elemento não ser considerado essencial para as plantas, é constatado que o crescimento e a produtividade das gramíneas são beneficiados com a disponibilidade de Si. Dentre os benefícios deste elemento para a cultura da cana-de-açúcar podemos citar a indução de resistência às pragas, melhoria da capacidade fotossintética, maior tolerância a geadas, melhoria na arquitetura das plantas, maior tolerância ao estresse hídrico, controle de pragas, melhoria na qualidade da matéria-prima e aumento na produtividade (KORNDÖRFER et al., 2004).

O Si na planta pode exercer papel de indutor de resistência e, para isso, levanta-se duas hipóteses: o Si atuando de maneira física, pelo acúmulo de sílica na parede celular da epiderme, dificultando o ataque de pragas e doenças ou ainda de forma fisiológica, estimulando mecanismos naturais de defesa, como a produção de compostos fenólicos, lignina, peroxidase e outras enzimas responsáveis pela resposta ao estresse (MENZIES et al., 1991; REZENDE, 1992; BOWEN et al., 1992; CHÉRIF et al., 1994; FAWE et al., 1998; EPSTEIN, 1999; dos SANTOS et al., 2002; GOUSSAIN et al., 2002, 2005; DIAS et al., 2014).

De acordo com Ma et al. (2001), genótipos de uma mesma espécie podem apresentar concentrações de Si diferentes, devido à capacidade genética de cada cultivar.

Segundo Keeping et al. (2009), as variedades de cana-de-açúcar resistentes à *Eladana saccharina* obtiveram uma maior absorção de Si com e sem a aplicação deste

elemento via adubação. Dessa maneira, a absorção de Si pelas folhas poderia estar correlacionada com resistência ao ataque de pragas.

O acúmulo de sílica nos órgãos de transpiração leva à formação de uma dupla camada de sílica, logo abaixo da epiderme, agindo como barreira mecânica contra a invasão de fungos e insetos (KORNDÖRFER et al., 2004). Em células silificadas pode haver uma dificuldade na ovoposição dos insetos, diminuindo a herbivoria nas fases imaturas dos mesmos (SILVA et al., 2005). O efeito da proteção mecânica do silício nas plantas é atribuído ao seu depósito na forma de sílica amorfa ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) na parede celular (VILELA, 2013). Estudos que visam observar e quantificar o teor de silício presente em plantas possibilitam o melhor entendimento da forma como esse nutriente atua nas variedades, assim como a relação entre o maior acúmulo de Si e a resistência à pragas.

A tecnologia baseada no uso do silício é limpa e sustentável, promovendo maior retorno econômico para o agricultor ao diminuir o uso de agroquímicos e aumentar a produtividade. Uma nutrição mais equilibrada e fisiologicamente mais eficiente significa plantas mais produtivas, com menos doenças, menos ataques de pragas e

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar a anatomia foliar e quantificar a porcentagem de silício foliar em genótipos de cana-de-açúcar, previamente descritos como resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*.

3.2. Objetivo específicos

Verificar a existência de diferenças anatômicas no limbo foliar da folha +1 dos genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*;

Verificar a existência de diferenças anatômicas presentes na bainha da folha 0 dos genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*;

Avaliar características estruturais e verificar se tais características podem ser relacionadas à resistência à broca da cana-de-açúcar;

Adequar um protocolo para quantificação do teor de silício presente nas folhas dos genótipos de cana de açúcar;

Comparar o teor de silício dos genótipos resistentes e dos genótipos suscetíveis à *Diatraea saccharalis*;

Contribuir para a compreensão das estratégias de resistência à broca existentes nas variedades comerciais de cana.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Genético

Para a realização deste trabalho, foram utilizados vinte e três genótipos de cana-de-açúcar, sendo dez genótipos categorizados previamente como mais suscetíveis à broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) e 13 genótipos classificados como mais resistentes a aquela praga. Os genótipos foram selecionados com base em resultados obtidos em experimentos realizados a nível de campo pelo Programa de Melhoramento de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa – UFV e do trabalho realizado por Tomaz et al. (2017). Os clones foram avaliados em campo sob condições de infestação natural. Foram determinados o número de internódios totais e o número de internódios atacados por planta para a obtenção da intensidade de infestação (II%) por meio da seguinte fórmula:

$$II\% = 100 \times \frac{IA}{IT}$$

em que IA corresponde ao número de internódios atacados e IT o número de internódios totais da planta.

Com os dados obtidos, foi realizada a separação dos genótipos em duas categorias: resistentes, os quais apresentaram uma menor intensidade de infestação, e suscetíveis, os quais obtiveram uma intensidade de infestação mais elevada.

Na tabela 1 estão relacionados três grupos de genótipos quais sejam: Grupo 1: Constituído pelos genótipos mais suscetíveis e mais resistente selecionados por

Tomaz et al. (2017). Os experimentos foram realizados durante três anos, com 35 clones, em quatro localidades, a fim de determinar o nível de intensidade de infestação por *D. saccharalis* nos genótipos em campo.

O grupo 2 foi constituído por 68 clones avaliados em experimento com repetição na Central de Pesquisa, Experimentação e Extensão do Triângulo Mineiro-CEPET, no município de Capinópolis– MG. A metodologia para cálculo de intensidade de infestação foi a mesma utilizada no grupo 1.

Os genótipos IM76-228 e RB127384 (grupo 3) foram selecionados a partir de observações visuais realizadas nas estações experimentais do Programa de Melhoramento de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa – UFV sendo o IM76-228 identificado previamente como menos preferido para ovoposição pela broca (PIMENTEL, 2016). O genótipo IM76-228 é classificado como *Saccharum robustum*. Ambos os genótipos apresentaram elevada dureza, pilosidade, e baixa intensidade de infestação natural pela praga e alta densidade de pilosidade nas bainhas, característica que pode estar relacionada ao bom desempenho contra o inseto-praga.

Tabela 1. Classificação dos 23 genótipos selecionados por grupo e em resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*.

Genótipo	Grupo	Classificação
IM 76-228	Grupo 3	Resistente
RB047055	Grupo 1	Resistente
RB047201	Grupo 1	Resistente
RB047212	Grupo 1	Resistente
RB047226	Grupo 1	Resistente
RB127384	Grupo 3	Resistente
RB147588	Grupo 2	Resistente
RB147589	Grupo 2	Resistente
RB147590	Grupo 2	Resistente
RB147591	Grupo 2	Resistente
RB147592	Grupo 2	Resistente
RB147587	Grupo 2	Resistente
RB867515	Grupo 1	Resistente
RB047016	Grupo 1	Suscetível
RB057231	Grupo 1	Suscetível
RB047248	Grupo 1	Suscetível
RB057249	Grupo 1	Suscetível
RB147529	Grupo 2	Suscetível
RB147530	Grupo 2	Suscetível
RB147531	Grupo 2	Suscetível
RB147532	Grupo 2	Suscetível
RB147533	Grupo 2	Suscetível
RB147534	Grupo 2	Suscetível

4.2 Execução experimental

4.2.1. Condução do experimento

Os 23 genótipos foram plantados no dia 04 de junho de 2019 em estufa climatizada localizada na Estação Experimental Diogo Alves Mello (20° 45' S, 42° 52' W; h = 650 m), pertencente ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, situada em Viçosa – MG. O experimento foi realizado em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os genótipos testados foram obtidos do Programa de Melhoramento de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa

em parceria com a RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético).

Foram plantadas seções do colmo com cerca de 4 cm de comprimento, com uma gema em cada nó, em bandejas preenchidas com substrato agrícola (Tropstrato®) (Figura 3A e 3B). No dia 02 de agosto de 2019, aproximadamente 60 dias após o plantio, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 7,5 L, preenchidos com mistura 1:1 de solo e areia, 1g de MAP (mono-amônio-fosfato, que contém 50% de P_2O_5 e 10% de N) e 7g de calcário e mantidos em casa de vegetação (temperatura de $26 \pm 10^\circ C$; $75 \pm 20\%$ de umidade relativa) para evitar a infestação por patógenos (Figura 3C e 3D). O espaçamento entre as fileiras foi de um metro. As plantas foram irrigadas com gotejadores de 0,5 a 2,0 L/vaso/dia.

No dia 26 de agosto de 2019 realizou-se a primeira adubação de cobertura, com 1g por vaso de N-P-K 20-05-20. Posteriormente, foram feitas mais 2 adubações de cobertura com 30 dias de diferença cada.

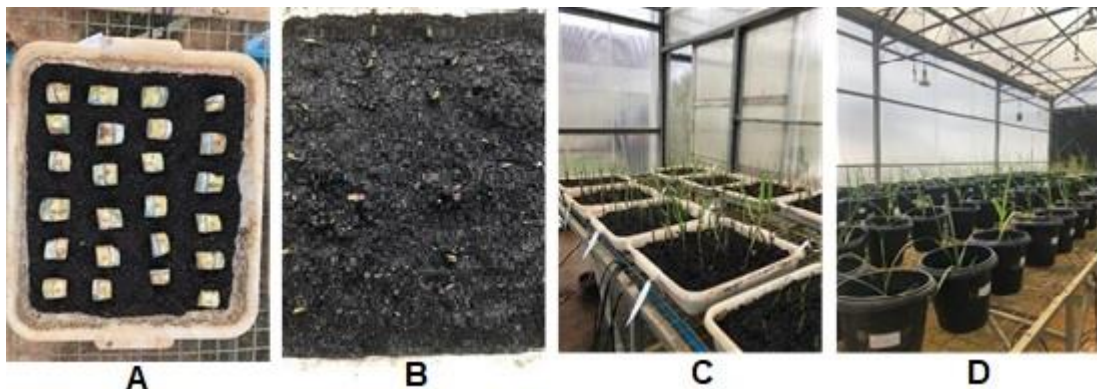


Figura 3: Toletes de cana-de-açúcar plantados em bandejas (A); Início da germinação (B); Mudas com 60 dias (C); Transplante das mudas para vasos plásticos de 7,5 L (D).

4.2.2. Procedimentos para análises de Anatomia

Quando as plantas atingiram cerca de seis meses de idade foi realizada uma coleta. Seguindo o sistema Kujiper, foram coletadas a bainha da folha 0 e o limbo foliar da folha +1. O material foi levado para o Laboratório de Anatomia Vegetal e Morfogênese da Universidade Federal de Viçosa, onde as análises anatômicas foram realizadas (Figura 4A).

As folhas +1 de cada genótipo foram escaneadas integralmente, utilizando scanner acoplado a um computador. As imagens foram processadas pelo *software* Image Pro Plus® e foi obtida a área foliar total em cm² (Figura 4B). Posteriormente, utilizando um cano de cobre de área 1.5814 cm², foram feitos 10 discos de regiões aleatórias do limbo foliar, excluindo a nervura central, da mesma folha (Figura 4C). Os 10 discos foram pesados em balança de precisão no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal e, em seguida, as amostras foram levadas à estufa a 65°C por três dias. Após esse período, os discos foram novamente pesados em balança de precisão e foi obtida massa seca total.

Utilizando os mesmos 10 discos de cada genótipo, foram obtidas as espessuras do limbo, utilizando o Medidor de Espessura Mainard (Figura 4D). Tal aparelho possui uma mola que impede que o material sofra esmagamento, sendo possível obter, dessa maneira, uma medida precisa da espessura foliar. Os dados de massa seca e espessura foram utilizados para o cálculo de área foliar específica e densidade da folha.

A AFE foi obtida por meio da seguinte equação:

$$AFE = \frac{AD}{MS}$$

em que AD corresponde à área total dos dez discos (cm²) e MS à massa seca total dos dez discos (g).

Em conjunto, foi calculada a densidade foliar por meio da seguinte equação:

$$Den = \frac{MS}{ESP \times AD}$$

em que MS equivale à massa seca dos dez discos (g); ESP à soma das espessuras dos dez discos (cm) e AD à área total dos dez discos (cm²).

Em sequência, a bainha da folha 0 e a folha +1 de cada genótipo foram subamostradas em cortes transversais (Figura 4E). O material foi armazenado em vidro de acrílico, imerso em fixador FAA 50% (formaldeído, ácido acético glacial e etanol 50%, 1:1:18 v/v) e submetido à bomba de vácuo a 15 polHg ou 400 mmHg por 48 horas (Figura 4F). Após essa etapa, o material foi armazenado em solução etanólica 70% para aguardar o processamento.

As etapas para fabricação de lâminas permanente incluíram a desidratação do material utilizando etanol 85%, 95% e 98% por um período de 2 h em cada etapa; Pré-infiltração em resina + álcool (Historesin Leica, preparada conforme instrução do

fabricante) durante uma semana e, em seguida, infiltração em resina pura por mais 5 semanas. Logo após esse período, foi realizada a inclusão do material em resina ativada, adicionando-se polimerizador.

O material foi transferido para histomoldes, onde ficaram por sete dias, até estarem totalmente secos (Figura 4G). Em sequência, o material foi fixado em cubos de madeira utilizando a cola acrílica Super Bonder® (Figura 4H) e seccionados em micrótomo rotativo manual Spencer Ao 820 América optical, utilizando navalha de aço e obtendo cortes com 5 micrômetros de espessura (Figura 4I).

Os cortes foram dispostos em lâminas, tendo sido realizada a montagem de duas lâminas, com dez cortes em cada, para cada genótipo. Os cortes foram dispostos na superfície da lâmina e corados com o corante Azul de Toluidina (0,05% e pH 6,5), responsável por destacar regiões onde se tem a presença de pectinas, ligninas e componentes fenólicos. As lâminas foram coradas durante um período de 5 minutos, sendo realizadas lavagens em sequência para retirar o excesso de corante. Posteriormente, o material foi fixado utilizando PermOUNT incluído no Kit Leica Biosystems (Figura 4J). Após os procedimentos, o melhor corte de cada material foi selecionado e fotografado por meio do fotomicroscópio Olympus AX70 (Figuras 4K e 4L).

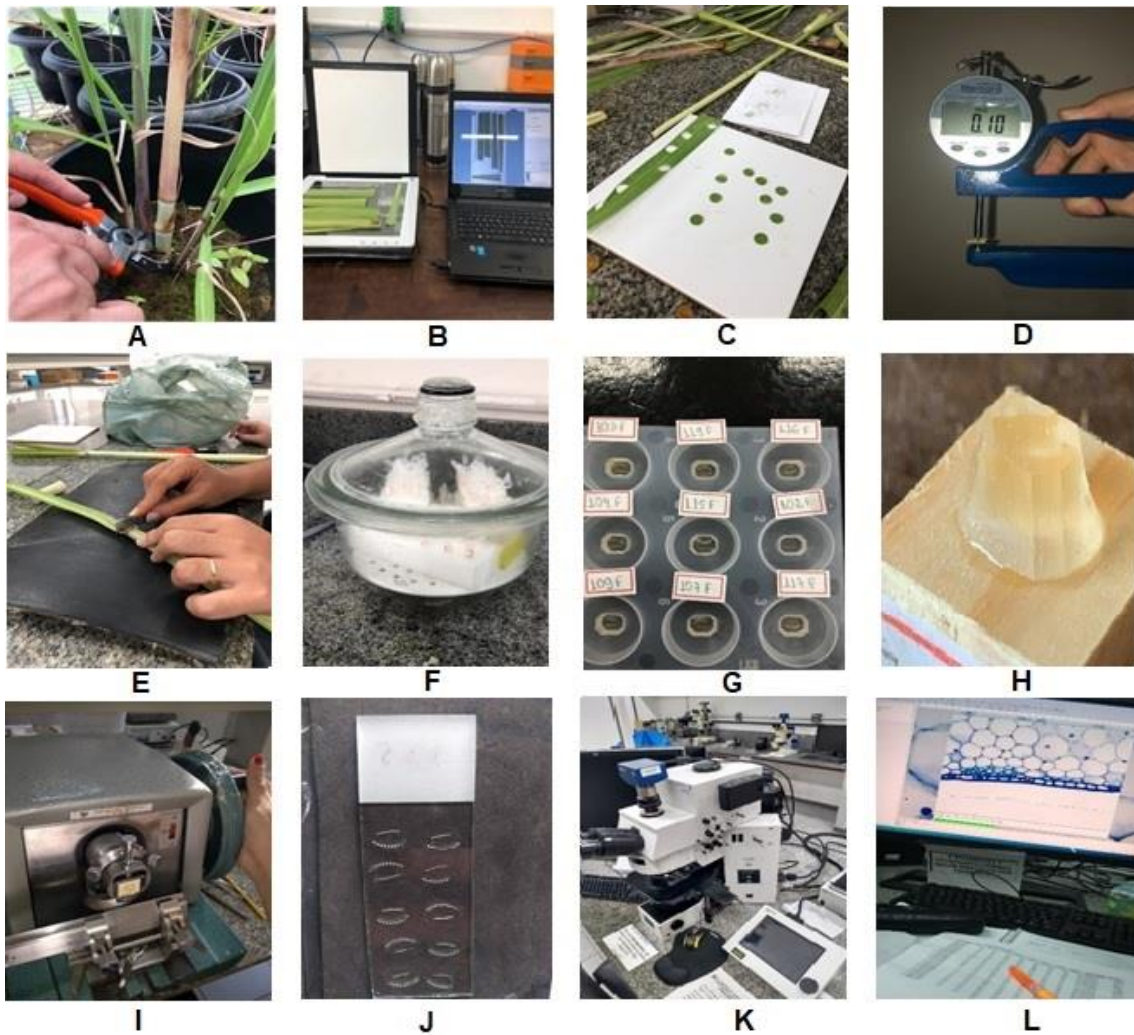


Figura 4: Coleta do material na estufa **(A)**; Folhas +1 sendo scaneadas para obtenção da área foliar **(B)**; 10 discos de área conhecida, retirados do limbo foliar, a fim de obter a área foliar específica **(C)**; Medidor de espessura Mainard **(D)**; Subamostragem do material no laboratório **(E)**; Amostras armazenadas em frascos de acrílico recebendo vácuo na campânula de vidro **(F)**; Amostras incluídas em resina, com endurecedor, em histomold **(G)**; Amostra Emblocada **(H)**; Seccionamento das amostras em micróto manual, com navalha de aço **(I)**; Lâmina com os cortes após o seccionamento **(J)**; Fotomicroscópio Olympus AX70 **(K)**; Imagem obtida de um dos cortes **(L)**.

4.2.3 Caracteres avaliados na análise anatômica

As imagens foram obtidas por meio do fotomicroscópio Olympus AX70. Após a seleção das melhores imagens, os dados foram coletados e avaliados utilizando o *software* Image Pro Plus®. Foram avaliados os seguintes caracteres:

Na região do limbo, foram medidos: a) Espessura total (ET) (Figura 5A); b) Espessura do mesofilo (EM) (Figura 5B); c) Espessura da epiderme na face adaxial (EAD-L); d) Espessura da epiderme na face abaxial (EAB-L) (Figura 5C); e) Espessura da parede externa na face adaxial (PEAD); f) Espessura da parede externa na face abaxial (PEAB) (Figura 5D).

Na região da bainha, foram medidos: a) Espessura total da lâmina (EL); b) Número de células no decorrer da espessura (NC) (Figura 5E); c) Espessura da epiderme na face adaxial (EAD) (Figura 5F); d) Espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC) (Figura 5G); e) Espessura isolada da primeira camada (E1) (f) da segunda camada (E2) (g) (Figura 5H); Espessura da parede externa da primeira camada (PE1) (h) e da segunda camada (PE2) (Figura 5I); (i) Número de células com sílica (NSi) (Figura 5J).

Para cada caractere avaliado foram feitas três medidas em regiões representativas da imagem. Todos os valores foram obtidos em micrômetros.

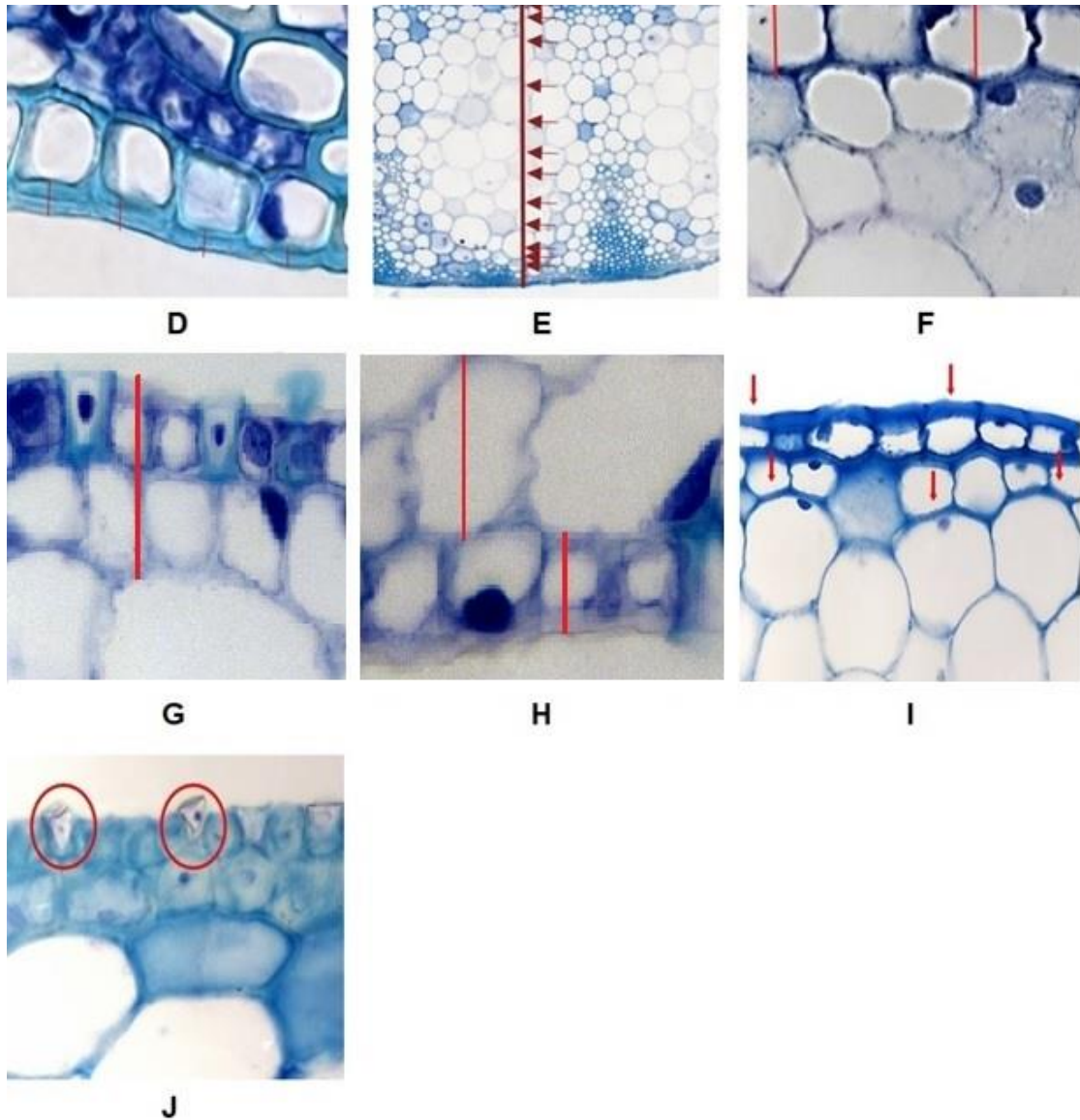


Figura 5: Espessura total (ET) **(A)**; Espessura do mesofilo (EM) **(B)**; Espessura da epiderme na face adaxial (EAD-L) e espessura da epiderme na face abaxial (EAB-L) **(C)**; Espessura da parede externa na face adaxial (PEAD) e espessura da parede externa na face abaxial (PEAB) **(D)**; Espessura total da bainha (EL) e número de células (NC) **(E)**; Espessura da epiderme na face adaxial (EAD) **(F)**; Espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC) **(G)**; Espessura isolada da primeira camada (E1) e da segunda camada (E2) **(H)**; Espessura da parede externa da primeira camada (PE1) e da segunda camada (PE2) **(I)** e número de células com sílica (NSi) **(J)**.

4.2.4. Procedimentos para a quantificação de silício do limbo foliar da cana-de-açúcar

Após seis meses da coleta inicial foi feita uma segunda coleta para a realização da análise de silício. O material foi transferido para o *Laboratório de Análise de Dados Químicos Multivariados* (MCDALab), pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa - MG. Para esse procedimento foi utilizado o limbo foliar de cada genótipo, excluindo a nervura central. Após a coleta, o material foi seco em estufa a 65°C, por três dias. Após este período, a bainha e a nervura central foram separadas e descartadas. O restante do material foi pesado em quantidades iguais e macerado em moinho de esferas Tissuelyser (Figura 6A). O material triturado foi peneirado em peneira de 20 mesh, com o objetivo de uniformizar a granulometria das amostras (Figura 6B). O procedimento para a análise de silício foi baseado no protocolo proposto por Kraska & Breitenbeck (2010).

Para a realização dessa metodologia, os reagentes utilizados foram: ácido tartárico (99% de pureza), peróxido de hidrogênio, fluoreto de amônio ($\geq 98\%$ de pureza), molibdato de amônio tetra hidratado, ácido acético ($\geq 99\%$ de pureza), hidróxido de sódio ($\geq 97\%$ de pureza), todos da marca Sigma-Aldrich. Este procedimento se divide em duas etapas, sendo a primeira realizada com o objetivo de extrair o silício presente no material e a segunda com a finalidade de destacar o silício para sua quantificação.

Na primeira etapa desse processo, utilizou-se 0,1 g de folhas trituradas, as quais foram colocadas em tubos de polietileno com tampa de rosca de 50 mL e pesadas em balança de precisão (Figura 6C). Posteriormente, adicionou-se 5 gotas de álcool octílico e 2 mL de peróxido de hidrogênio (Figura 6D). O material foi levado ao forno de convecção, onde ficou a 95°C durante 30 minutos. Após este período, foram adicionados 4 mL de hidróxido de sódio a 50%. Os tubos foram tampados, agitados suavemente utilizando vórtex (Figura 6E) e levados novamente ao forno a 95°C por quatro horas. Em seguida, adicionou-se 1 mL de fluoreto de amônio 5 mM. Logo após, no mesmo frasco, realizou-se a diluição da solução com água deionizada até completar o volume.

Na segunda etapa, foram utilizados balões volumétricos de 5 mL, aos quais foram adicionados uma alíquota de 2 mL de amostra (solução preparada na primeira etapa) e 1,7 mL de ácido acético a 20% (Figura 6F). Os frascos foram tampados e

agitados vigorosamente por 10 segundos e, logo em seguida, foram adicionados 0,7 mL de molibdato de amônio 0,3 M. A solução foi deixada em repouso por cinco minutos. Posteriormente, adicionou-se 0,3 mL de ácido tartárico a 20%, agitou-se para homogeneizar a solução e, em seguida, foi colocado 0,3 mL de fluoreto de amônio 5 mM. O frasco foi tampado, vigorosamente agitado e deixado em repouso por 60 min, tempo necessário para o aparecimento da cor amarelada (Figura 6G).

Para a leitura de absorvância do material utilizou-se o espectrofotômetro, fixado no comprimento de onda 400,12 nm, juntamente com o software SpectraSuite (Figura 6H).

Em conjunto com as amostras do experimento, foi realizada uma curva de calibração para verificar a precisão do mesmo. Como substituto da amostra na primeira etapa, foi utilizada a solução padrão de Si 100 mg.L⁻¹ em alíquotas de 0,0; 0,17; 0,3; 0,7; 1,0 e 1,3 mL. Para a realização da curva, foram utilizados os valores de absorvância no comprimento de onda de 400,12 nm e a concentração das soluções em mg.mL⁻¹, obtidas pela seguinte fórmula:

$$Cal(mg.mL^{-1}) = V_{SP}(mL) \times \frac{C_{SP}}{V_T}$$

em que VSP corresponde ao volume em mL da solução padrão; CSP à concentração de 0.1 mg.mL⁻¹ da solução padrão e VT ao volume final da etapa, equivalente a 5 mL.

Dessa maneira, foi possível obter a equação de ajuste da regressão e, posteriormente, obter a concentração de Si (CSI) na amostra (mg.mL⁻¹) por meio da seguinte equação:

$$Abs\ 400 = 0,14 + 39,87\ Csi$$

em seguida, foi obtida a concentração de Si (CSI) na alíquota original, sendo utilizada a massa exata que foi obtida por meio da balança de precisão.

$$Cam(mg.mL^{-1}) = \frac{M(mg)}{V_1} \times \frac{Al}{V_2}$$

em que Cam equivale à concentração de folha presente no líquido; V1 ao volume final da primeira etapa, equivalente a 50 mL; M à massa em mg de cada genótipo, obtida em balança de precisão; Al à alíquota de 2 mL da amostra e V2 ao volume final da segunda etapa, equivalente a 5 mL.

Após isso, foi possível obter a % de silício presente na amostra:

$$%Si = \frac{C_{Si}}{C_{am}}$$

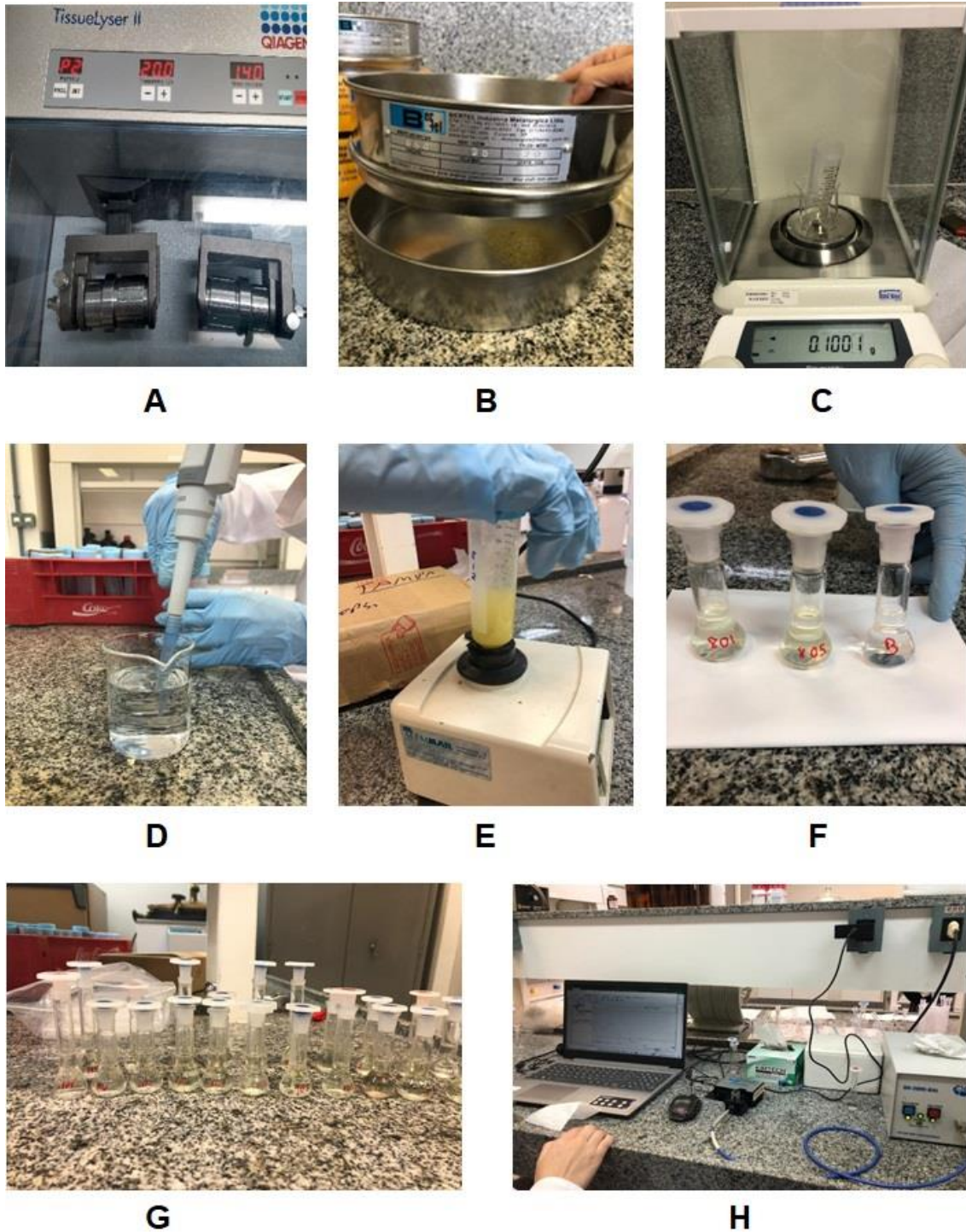


Figura 6: Maceração do material em moinho de esferas TissueLyser (A); Material peneirado em peneira de 20 mesh (B); Pesagem de 1g em balança de precisão (C); Adição de reagentes (D); Material sendo agitado em agitador elétrico (E); Segunda etapa do processo com amostras em frascos de 5mL (F); Espera de 60 minutos para manifestação da cor amarelada (G); Leitura da absorbância em espectrofotômetro em conjunto com o software SpectraSuite (H).

4.3 Análises Estatísticas

Com o objetivo de verificar a existência de diferença entre as médias, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) individual, assumindo blocos e genótipos como fixos, seguindo o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ik} = \mu + g_i + b_k + e_{ik}$$

em que y_{ik} corresponde ao valor observado obtido do i -ésimo genótipo avaliado no k -ésimo bloco; μ equivale à média geral; g_i ao efeito do i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, 23$); b_k : ao efeito do k -ésimo bloco ($k = 1, \dots, 4$) e e_{ik} ao erro aleatório associado à observação y_{ik} .

Para os caracteres que foram significativos, ou seja, que apresentaram diferença entre as médias, foi realizado um teste de Tukey para comparação de médias. As análises foram realizadas de três formas: a) Dentro do grupo resistente, considerando os 13 genótipos; b) Dentro do grupo suscetível, considerando os dez genótipos; c) Considerando todos os 23 genótipos em conjunto. Foi considerado o nível 95% de significância para todas as análises. Foram ainda obtidas estimativas dos contrastes, com análise posterior pelo teste t , entre o grupo resistente e o grupo suscetível para cada característica.

A precisão experimental foi medida através do coeficiente de variação (CV%). Através dessa medida é possível avaliar a homogeneidade do conjunto de dados, por meio da seguinte equação:

$$CV\% = \frac{S_X}{\bar{X}}$$

em que: S_X é o desvio padrão e \bar{X} a média geral dos tratamentos.

Em conjunto, foi aplicada uma técnica de estatística multivariada, com o objetivo de agrupar os genótipos de acordo com as similaridades e dissimilaridades entre eles. Com o intuito de observar o grau de relação entre os caracteres, foi realizada uma análise de correlação de Pearson. Esta tem como objetivo a avaliação do grau de associação entre dois caracteres, X e Y , ou seja, mede a intensidade e a direção da relação linear ou não linear entre caracteres (CHARNET et al., 2008). O

valor de correlação varia de -1 a 1, sendo maior e mais forte a correlação à medida que se aproxima de 1. A análise de correlação seguiu a seguinte equação:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 (y_i - \bar{y})^2}}$$

r : é o coeficiente de correlação entre as duas variáveis x e y e;

\bar{x} e \bar{y} : médias das variáveis em questão.

A análise de agrupamento tem como objetivo agrupar objetos segundo suas características, formando grupos ou conglomerados homogêneos (HAIR et al., 1998).

Para medir a diferença entre as variáveis foi utilizada a distância de Mahalanobis. A distância de Mahalanobis pode ser definida como uma medida de dissimilaridade entre duas variáveis aleatórias e é calculada pela seguinte expressão:

$$D_M(x) = \sqrt{(x - \mu)^T S^{-1} (x - \mu)}$$

em que o valor de x corresponde à coordenada $\{X, Y, Z\}$ dos pontos, μ é o centróide da nuvem e S é a matriz de covariância.

Para os caracteres significativos em que foi possível observar mais de 15% de amplitude entre as médias dos genótipos resistentes comparadas com as médias dos genótipos suscetíveis, foi feito um dendrograma pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average*).

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Amplitude e média dos valores genotípicos

Houve elevada amplitude entre a maior parte das médias dos genótipos. Dessa forma, é evidenciada a existência de variabilidade genética entre o grupo de genótipos resistentes e o grupo suscetível (Tabela 2). As maiores diferenças entre as médias foram encontradas nos caracteres da bainha. EC, E2, e PE2 apresentaram diferença entre as médias acima de 20% a mais nos genótipos resistentes e coeficientes de variação de 26.59%, 16.19% e 41.31%, respectivamente, enquanto em E1 a amplitude foi acima de 30% com CV de 26.04%. Já para os caracteres EAD e PE1, as médias foram de 69,13 μm e 9,67 μm , respectivamente, considerando os genótipos resistentes e de 38,47 μm e 5,43 μm considerando o grupo suscetível. Essa diferença equivale a uma amplitude de mais de 40% para as plantas resistentes.

A folha de cana é destituída de pecíolo, mas apresenta uma bainha que envolve o colmo (Figura 7). A presença desta bainha constitui uma barreira adicional a um possível evento de ataque por um inseto. Desta forma sua estrutura e a justaposição ao colmo podem ter relação com a maior resistência a incidência da broca. De modo semelhante, a composição da parede celular da epiderme e camadas subjacentes é uma próxima abordagem que deve ser explorada na busca e compreensão da resistência a esta praga.

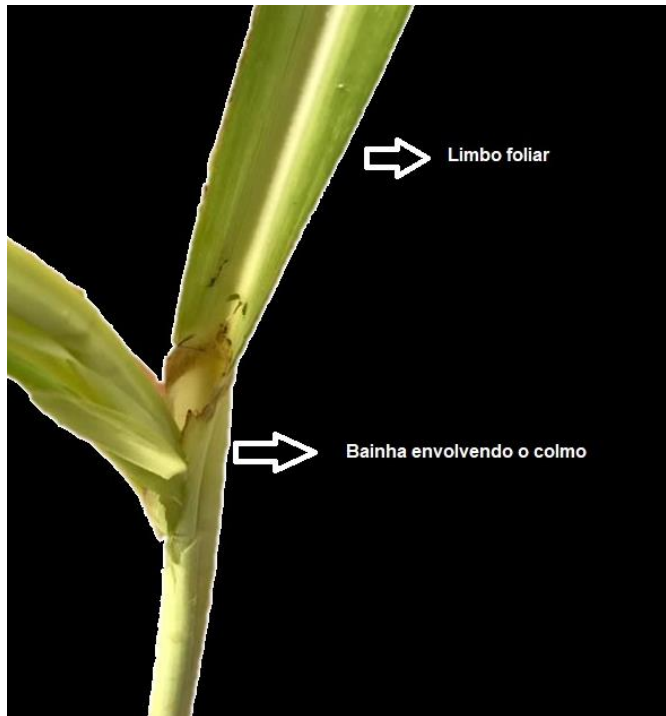


Figura 7. Representação do limbo foliar e bainha da cana-de-açúcar.

Nos demais caracteres, a média de AF dos genótipos suscetíveis foi 11% maior do que nos genótipos resistentes. Considerando os caracteres do limbo, os caracteres de espessura de epiderme se destacaram. O caractere EAD-L apresentou uma média de 44.46 μm e 35.61 μm para o grupo resistente e suscetível, respectivamente. Da mesma maneira, EAB-L apresentou média de 42.46 μm para o grupo resistente e 34.74 μm para o grupo suscetível. Essas diferenças representaram um aumento de cerca de 20% na média dos genótipos resistentes.

O coeficiente de variação experimental (CV%) variou de 9.01%, no caractere AFE, à 97.31 no caractere NSi. Com exceção deste caractere, nenhum outro CV% ultrapassou 41%. Considerando que o silício pode ser associado a tolerância a pragas e doenças (DIAS et. al., 2014), este maior coeficiente de variação pode contribuir para que o número de células com incrustações de silício não tenha contribuído para a resistência de cana à broca.

De acordo com a metodologia apresentada por Pimentel Gomes (2000), experimentos agrícolas com coeficiente de variação experimental (CV%) inferior a 10% são considerados baixos e acima de 30% elevados. Em contrapartida, relatos na literatura demonstram o problema em generalizar todos os experimentos, variáveis e culturas em uma única faixa de CV%. Autores como Lima et al. (2004) e Carvalho et

al., (2003) defendem a diversidade de CV% de acordo com as variáveis que estão sendo avaliadas. Trabalhos relacionados com anatomia vegetal apresentam um coeficiente de variação mais elevado, demonstrando que, para esta área de estudo, CV's considerados anteriormente como elevados são comuns e indicam uma variação normal no experimento.

Tabela 2. Valores genotípicos mínimo, média e máximo, coeficiente de variação e amplitude de 13 genótipos de cana-de-açúcar considerados como mais resistentes (RES) e dez genótipos mais suscetíveis (SUS) à *Diatraea saccharalis*.

Caractere ^{1/}	RES			SUS			CV% ^{2/}	Amplitude (%) ^{3/}
	Min	Med	Max	Min	Med	Max		
Limbo								
ET	207,86	437,63	680,84	222,67	387,76	719,04	19,96	11,40
EAD-L	26,25	44,46	65,11	19,99	34,61	52,51	17,20	22,16
EAB-L	9,01	42,46	64,00	20,40	34,74	47,77	15,27	18,18
EM	162,74	347,74	587,98	143,22	290,18	561,52	23,84	16,55
PEAD	7,99	14,07	27,37	7,98	12,84	20,09	17,39	13,50
PEAB	7,17	12,12	18,05	5,00	10,42	15,75	17,56	14,08
Bainha								
EL	1140,25	2739,53	4056,86	502,36	2741,30	4170,21	28,93	-0,06
NC	10,00	18,17	29,67	5,33	15,80	24,00	21,73	13,07
EAD	35,66	69,13	114,08	23,66	38,47	59,29	21,26	44,35
EC	62,65	112,96	181,32	43,38	82,92	115,09	17,49	26,59
E1	25,66	67,82	120,35	22,87	46,42	82,57	26,04	31,55
E2	25,76	41,96	57,23	17,18	33,52	49,40	16,19	20,12
PE1	3,29	9,67	19,83	1,25	5,43	15,47	36,52	43,86
PE2	4,79	12,38	47,73	1,33	7,77	16,37	41,31	37,19
NSi	0	3	9	0	1,98	8	97,31	1,03
Outros								
%Si	0,17	0,95	1,90	0,37	0,98	1,85	37,54	-3,16
AF	65,48	210,51	366,94	101,67	233,90	371,34	22,56	-11,11
AFE	193,09	253,44	378,33	197,18	263,59	331,53	9,01	-4,00
DEN	0,020	0,027	0,033	0,020	0,026	0,044	11,88	1,09
ESP	0,011	0,015	0,021	0,010	0,015	0,021	16,90	1,06

^{1/} ET, espessura total; EAD-L, espessura da epiderme na face adaxial do limbo; EAB-L, espessura da epiderme na face abaxial do limbo; EM, espessura do mesofilo; PEAD, espessura da parede externa da face adaxial; PEAB, espessura da parede externa da face abaxial; EL, espessura da lâmina da bainha; NC, número de células; EAD, espessura da epiderme na face adaxial; EC, espessura das duas camadas mais espessas em conjunto; E1, espessura da primeira camada; E2, espessura da segunda camada; PE1, espessura da parede externa da primeira camada; PE2, espessura da parede externa da segunda cama; NSi, número de células com sílica; %Si, porcentagem e silício no limbo foliar; AF, área foliar da folha +1; AFE, área foliar específica; DEN, densidade foliar; ESP, espessura foliar. ^{2/} CV (%): coeficiente de variação residual, calculado em porcentagem, dividindo-

se o desvio-padrão da variância residual pela média fenotípica de cada caractere. ^{3/} % redução da média = [(RES-SUS)/RES]*100%.

5.2 Estimativa de contrastes entre as médias do grupo resistente e do grupo suscetível à *Diatraea saccharalis*.

A utilização de contrastes permite analisar dados e obter resultados referentes a efeitos de comparação entre grupos de tratamentos (NOGUEIRA, 2004). Foram obtidas as estimativas dos contrastes, para cada caractere, entre a média do grupo resistente e a média do grupo suscetível (Tabela 3).

Para os caracteres ET, EAD-L, EAB-L, EM, PEAD e PEAB, na região do limbo, juntamente com os caracteres NC, EAD, EC, E1, E2, PE1 e PE2, na região da bainha, foi verificada diferença significativa e positiva. Esse resultado demonstra a possibilidade de tais caracteres estarem relacionados com a resistência da cana-de-açúcar à broca, uma vez que o grupo de genótipos resistentes apresentou médias significativamente superiores quando comparado ao grupo de genótipos suscetíveis.

O caractere AF apresentou a estimativa de contrataste significativa e negativa. Dessa forma, os grupos apresentaram diferença entre si, tendo o grupo suscetível apresentado a maior média.

Já os caracteres EL, NSi, %Si, AFE e DEN não apresentaram diferença significativa. Com isso, a média do grupo resistente e média do grupo suscetível são consideradas estatisticamente iguais. Isso sugere que estes caracteres não estão relacionados com a resistência da cana-de-açúcar à *Diatraea saccharalis*.

Tabela 3. Estimativa dos contrastes entre as médias do grupo resistente (RES), com 13 genótipos, e suscetível (SUS), com dez genótipos, para espessura total (ET), espessura da epiderme da face adaxial (EAD-L), espessura da epiderme na face abaxial (EAB-L), espessura do mesofilo (EM), espessura da parede externa na face adaxial (PEAD), espessura da parede externa na face abaxial (PEAB), espessura da lâmina da bainha (EL), número de células (NC), espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC), espessura da primeira camada (E1), espessura da segunda camada (E2), espessura da parede externa da primeira camada (PE1), espessura da parede externa da segunda camada (PE2), espessura da epiderme na face adaxial (EAD), número de células com sílica (NSi), porcentagem de silício no limbo foliar (%Si), área foliar (AF), área foliar específica (AFE), densidade foliar (DEN) e espessura foliar (ESP).

Caractere	RES vs SUS
Limbo	
ET	671.68*
EAD-L	126.37**
EAB-L	99.21**
EM	99.21**
PEAD	27.93**
PEAB	24.54**
Bainha	
EL	167.91 ^{ns}
NC	29.94**
EAD	407.05**
EC	366.41**
E1	262.48**
E2	98.24**
PE1	54.53**
PE2	55.17**
NSi	13.25 ^{ns}
Outros	
%Si	0.001625 ^{ns}
AF	-344.36*
AFE	-119.54 ^{ns}
DEN	0.0066 ^{ns}
ESP	0.000625 ^{ns}

**,* e ^{ns} significativo a 1 e a 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste t.

5.3 Análise de variância individual

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a maioria dos caracteres. Na região do limbo foliar (Tabela 4), os caracteres EAB-L e PEAD apresentaram significância considerando todos os genótipos, dentro do grupo resistente e dentro do grupo suscetível ($P < 0,05$). Os caracteres ET e EM, embora tenham apresentado diferença significativa dentro do grupo suscetível ($P < 0,05$), não apresentaram diferença entre as médias considerando o grupo resistente e todos os genótipos em conjunto. Dessa maneira, estatisticamente, todas as médias são consideradas iguais, não sendo possível separar os genótipos conforme a resistência, com base nessas características. Em contrapartida, os caracteres EAD e PEAB foram significativos ($P < 0,01$) na análise geral, embora as médias não tenham apresentado diferença significativa quando avaliado apenas o grupo resistente, em PEAB, e apenas o grupo suscetível, em EAD.

Considerando os caracteres da região da bainha (Tabela 5), não houve diferença significativa para o caractere EL na análise geral e também dentro de cada grupo. Esse resultado, juntamente com o resultado do caractere ET no limbo, demonstram inexistência de influência da espessura total na resistência da cana-de-açúcar à *D. saccharalis*. Em ambas as regiões, considerando o tamanho total na análise geral, não foi possível observar diferença entre as médias. Com a observação de que uma maior camada da epiderme está relacionada à resistência a pragas, pode-se desmembrar a observação da espessura e composição de parede da epiderme da composição, espessura e conteúdo das células do interior do colmo. Dessa maneira, é possível favorecer tanto a produção de açúcares quanto a resistência às pragas.

O caractere NSi não apresentou significância em nenhuma das análises realizadas. Essa característica demonstrou alta heterogeneidade, apresentando elevada diferença entre as repetições, o que não permitiu uma medida precisa.

O caractere E2 apresentou diferença significativa na análise geral dos genótipos ($P < 0,01$) enquanto os caracteres PE2 e EC apresentaram diferenças em todas as três análises.

Foi observada ausência de significância nos caracteres NC, E1, PE1 e EAD, dentro do grupo suscetível, considerando os dez genótipos. Porém, tais caracteres apresentaram diferença entre as médias na análise geral e dentro do grupo resistente.

Com isso, é possível observar a presença de variabilidade genética entre os genótipos resistentes, para essas características, sendo possível fazer a seleção dos melhores genótipos dentro do grupo.

Considerando os caracteres estruturais, AFE, AF, %Si, DEN e ESP, todos apresentaram diferença significativa ($P < 0.01$) nas três situações (Tabela 6).

Tabela 4. Estimativas dos quadrados médios para os caracteres espessura total (ET), espessura da epiderme da face adaxial (EAD-L), espessura da epiderme na face abaxial (EAB-L), espessura do mesofilo (EM), espessura da parede externa na face adaxial (PEAD) e espessura da parede externa na face abaxial (PEAB) do limbo foliar, considerando os 23 genótipos de cana-de-açúcar em conjunto, os dez genótipos mais suscetíveis e os 13 genótipos mais resistentes à *Diatraea saccharalis*.

FV	GL	Quadrado Médio					
		ET	EAD-L	EAB-L	EM	PEAD	PEAB
Geral							
Blocos	3	144026.77	111.54	92.26	87451.64	1029.04	1046.03
Genótipos	22	10681.97 ^{ns}	23.53 ^{**}	9.85 [*]	9374.84 ^{ns}	165.42 ^{**}	153.57 ^{**}
Resíduo	58	6904.94	9.23	5.33	5845.67	47.7857	35.62
Suscetíveis							
Blocos	3	57862.07	309.47	42.04	33736.05	44.4721	37.25
Genótipos	9	15555.32 [*]	45.16 ^{ns}	279.28 ^{**}	10249.83 [*]	12.40 [*]	9.05 [*]
Resíduo	23	5262.60	33.59	11.70	4125.90	3.63	3.02
Resistentes							
Blocos	3	92410.72	753.49	830.11	60858.98	79.24	32.75
Genótipos	12	5012.34 ^{ns}	124.50 [*]	166.48 ^{**}	5686.16 ^{ns}	23.10 [*]	6.65 ^{ns}
Resíduo	32	8147.15	59.29	50.20	6960.09	8.39	5.06

^{**}, ^{*} e ^{ns} significativo a 1 e a 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 5. Estimativas dos quadrados médios para os caracteres espessura da lâmina da bainha (EL), número de células (NC), espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC), espessura da primeira camada (E1), espessura da segunda camada (E2), espessura da parede externa da primeira camada (PE1), espessura da parede externa da segunda camada (PE2), espessura da epiderme na face adaxial (EAD) e número de células com sílica (NSi) na região da bainha, considerando os 23 genótipos de cana-de-açúcar em conjunto, os dez genótipos mais suscetíveis e os 13 genótipos mais resistentes à *Diatraea saccharalis*.

FV	GL	Quadrado Médio								
		EL	NC	EC	E1	E2	PE1	PE2	EAD	NSi
Geral										
Blocos	3	4176238.52	12.87	5533.61	1521.13	758.03	18.71	35.29	2108.10	9.20
Genótipos	22	728672.94 ^{ns}	45.67**	1584.07**	893.49**	127.96**	39.57**	71.15**	1241.75**	16.16 ^{ns}
Resíduo	63	628921.71	13.91	300.90	238.32	38.02	8.23	18.36	123.34	6.18
Suscetíveis										
Blocos	3	3074696.21	15.51	1970.30	263.59	455.40	25.94	26.24	414.01	8.29
Genótipos	9	1188668.05 ^{ns}	34.07 ^{ns}	549.77**	294.64 ^{ns}	68.45 ^{ns}	12.94 ^{ns}	27.08**	47.10 ^{ns}	8.58 ^{ns}
Resíduo	25	785940.73	15.44	140.21	140.89	36.93	6.33	4.81	47.87	4.11
Resistentes										
Blocos	3	1772434.93	12.21	4059.86	1684.63	383.48	10.13	33.61	1882.10	14.00
Genótipos	12	443697.48 ^{ns}	47.79**	994.68**	661.80 ^{ns}	61.88 ^{ns}	28.97**	70.58*	497.49**	8.46 ^{ns}
Resíduo	35	513167.77	12.73	401.80	293.30	35.04	8.83	27.78*	171.63	7.74

**,* e ^{ns} significativo a 1 e a 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 6. Estimativas dos quadrados médios para os caracteres porcentagem de silício no limbo foliar (%Si), área foliar (AF), área foliar específica (AFE), densidade foliar (DEN) e espessura foliar (ESP), considerando os 23 genótipos de cana-de-açúcar em conjunto, os dez genótipos mais suscetíveis e os 13 genótipos mais resistentes à *Diatraea saccharalis*.

FV	GL	Quadrado Médio				
		%Si	AF	AFE	DEN	ESP
Geral						
Blocos	3	<0.01	8730.17	59.04	<0.01	<0.01
Genótipos	22	<0.01**	10331.13**	3673.69**	<0.01**	<0.01**
Resíduo	61	<0.01	2479.07	539.91	<0.01	<0.01
Suscetíveis						
Blocos	3	<0.01	2271.20	783.37	<0.01	<0.01
Genótipos	9	<0.01**	14792.51**	4455.66**	<0.01**	<0.01**
Resíduo	25	<0.01	2919.55	366.92	<0.01	<0.01
Resistentes						
Blocos	3	<0.01	8612.55	433.34	<0.01	<0.01
Genótipos	12	<0.01**	6815.25**	3184.61**	<0.01**	<0.01**
Resíduo	33	<0.01	2175.84	614.80	<0.01	<0.01

**,* e ^{ns} significativo a 1 e a 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

5.4 Teste comparativo entre médias

Para os caracteres que apresentaram diferença entre as médias, foi realizado um teste de Tukey para comparação de médias ($P < 0.05$).

Os genótipos resistentes foram representados por números de 1 a 13 enquanto os genótipos suscetíveis foram representados por número de 14 a 23, conforme tabela abaixo.

Tabela 7. Genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis* e respectivo número equivalente utilizado nas análises estatísticas.

Genótipo	Representação numérica
IM 76-228	1
RB047055	2
RB047201	3
RB047212	4
RB047226	5
RB127384	6
RB147588	7
RB147589	8
RB147590	9
RB147591	10
RB147592	11
RB147587	12
RB867515	13
RB047016	14
RB057231	15
RB047248	16
RB057249	17
RB147529	18
RB147530	19
RB147531	20
RB147532	21
RB147533	22
RB147534	23

5.4.1 Teste comparativo entre médias dentro dos grupos

O teste Tukey de comparação de médias foi realizado dentro do grupo resistente, considerando os 13 genótipos, e dentro do grupo suscetível, considerando os dez genótipos. Esta análise teve por objetivo verificar a presença ou não de variabilidade dentro dos grupos e a possibilidade de fazer a seleção dos genótipos que mais se destacaram para cada característica.

Para os caracteres da região do limbo foliar, considerando o grupo suscetível, houve diferença significativa ($P < 0.05$) para os caracteres PEAD, PEAB, ET, EM e EAB-L (Apêndices 15 à 19). Os caracteres PEAD e PEAB apresentaram resultados similares no teste de médias, tendo o genótipo RB057231 apresentado as maiores médias para estes caracteres e o genótipo RB047248, as maiores médias. Os demais genótipos não apresentaram diferença significativa, sendo as médias dos mesmos consideradas estatisticamente iguais

Para os caracteres ET, EM e EAB-L o genótipo RB047016 apresentou as maiores médias, enquanto o genótipo RB147529 foi o de menor média para ET e EAB-L, e o genótipo RB047248, para EM.

Na região da bainha, houve variabilidade genética dentro do grupo suscetível para os caracteres PE2 e EC (Apêndices 20 e 21). O genótipo RB147530 apresentou as menores médias em ambos os caracteres. Em EC, as maiores médias foram encontradas nos genótipos RB047016, RB057231 e RB147529, enquanto para o caractere PE2, o genótipo RB057231 também apresentou a maior média.

Nos demais caracteres avaliados, os genótipos RB047016 e RB057231 apresentaram uma menor AFE e uma EPS mais elevada. O genótipo RB147531, por sua vez, apresentou a menor ESP e uma das maiores AFE. O genótipo RB047016 apresentou a menor DEN dentre os genótipos suscetíveis avaliados. A menor AF foi encontrada no genótipo RB047248. Para %Si, o genótipo RB147529 apresentou a maior, dentre os suscetíveis, e o genótipo RB147533, a menor (Apêndices 22 à 26).

Para o teste de comparação de médias realizado dentro do grupo resistente, houve diferença significativa ($P < 0.05$) para os caracteres PEAD, EAD-L e EAB-L na região do limbo (Apêndices 27,28 e 29).

Na região da bainha, o genótipo RB147588 apresentou destaque, tendo as maiores médias para PE1 e PE2, ao mesmo tempo em que apresentou as menores

médias para NC. O genótipo RB147587 apresentou a maior média para EAD e EC. Já o genótipo RB047226, apresentou a menor média para EAD e as maiores médias para AF, DEN e ESP. Em AFE, a menor média foi encontrada em RB147592. O mesmo genótipo teve destaque para o caractere %Si, tendo apresentado a maior média (Apêndices 30 à 39).

5.4.2 Teste comparativo entre médias considerando todos os genótipos

O teste de Tukey para comparação entre médias foi realizado com todos os 23 genótipos com a finalidade de observar a existência ou não de diferenciação entre as médias dos genótipos resistentes e as médias dos genótipos suscetíveis. Dessa forma, é possível verificar a relação entre determinado caractere com a resistência da cana-de-açúcar à *Diatraea saccharalis*.

Na região do limbo, apesar de apresentarem diferenças significativas na análise de variância, a maior parte das médias para os caracteres PEAB e PEAD foi considerada estatisticamente igual. Dessa maneira, não é possível diferenciar os genótipos suscetíveis dos resistentes com base apenas nessa característica (Apêndices 40 e 41).

Houve destaque para os caracteres EAD-L e EAB-L. Foi observado que, numericamente, a maior parte das médias dos genótipos resistentes foi maior que as médias dos genótipos suscetíveis, para ambos os caracteres. Nas figuras 7 e 8 é possível observar o desvio padrão das médias dos genótipos resistentes (representados pela cor azul) e dos genótipos suscetíveis (representados pela cor vermelha) e o resultado do teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente ($P < 0.05$).

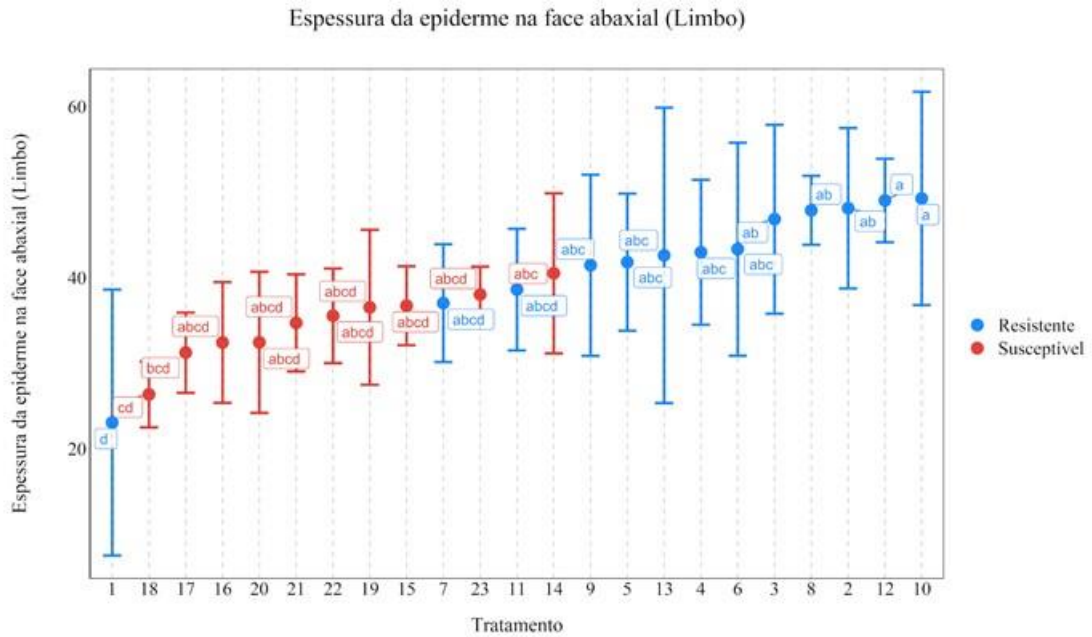


Figura 8. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face abaxial do limbo (EAB-L). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

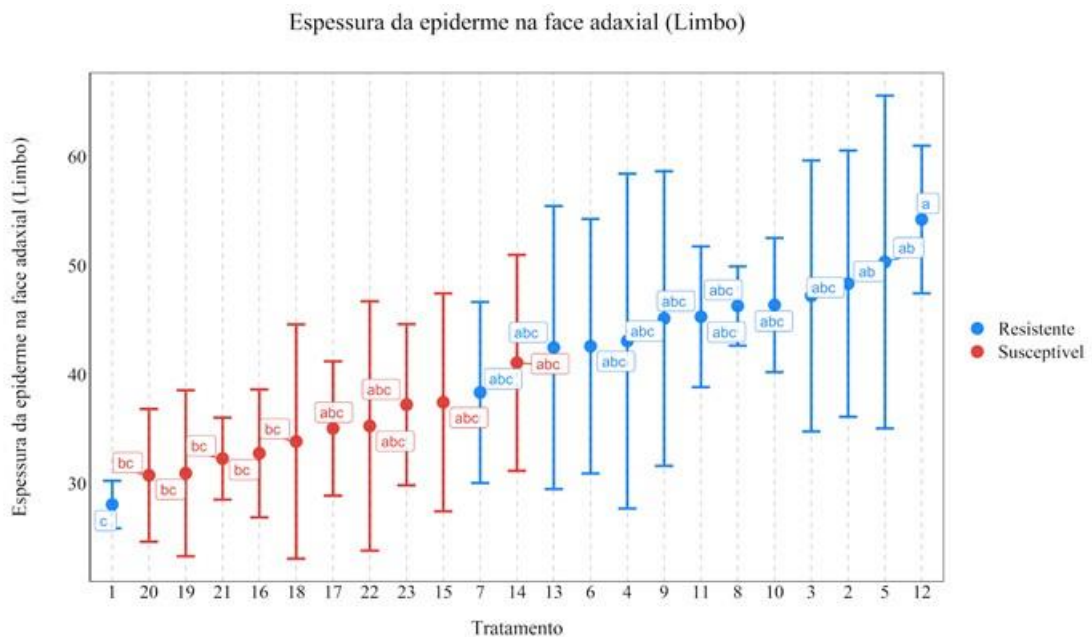


Figura 9. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face adaxial do limbo (EAD-L). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

Na região da bainha, as características PE1, PE2, NC, EC, EAD, E1 e E2 apresentaram diferença significativa na análise de variância ($P < 0.05$) e foram incluídos no teste de Tukey (Apêndices 42 à 47).

A característica EC teve destaque na separação dos grupos, uma vez que a maior parte dos genótipos resistentes apresentou média superior aos genótipos suscetíveis.

O genótipo RB147588 apresentou as maiores médias para os caracteres PE1 e PE2. Para o caractere PE2, foi constatado que os genótipos resistentes apresentaram médias estatisticamente diferentes do que a maior parte dos genótipos suscetíveis. Esses caracteres representam a espessura de parede externa. A parede celular possui funções como a prevenção contra a ruptura e entrada de água na célula e defesa contra bactérias e fungos (PEZZATO-DA-GLÓRIA, 2009). Além disso, a presença de lignina confere rigidez e alta resistência a ela. Blum (1968) verificou que genótipos de sorgo resistentes à larvas de *Atherigona varia* apresentaram uma maior espessura das paredes celulares e grande lignificação na epiderme abaxial de bainhas das folhas. Dessa maneira, a presença de uma parede celular maior pode levar a planta a uma condição de maior resistência contra as adversidades, inclusive ao ataque de pragas.

Os genótipos resistentes e suscetíveis não apresentaram diferença estatística suficiente para a separação dos grupos considerando o caractere NC. De maneira contrária, as características E1 e E2 indicaram a possibilidade de estarem relacionados com a resistência à broca, devido à superioridade das médias dos genótipos resistentes. Dessa maneira, é possível observar uma tendência dos genótipos resistentes apresentarem medidas de epiderme mais espessas.

O grande destaque vai para o caractere EAD, em que foi possível observar a nítida separação entre os genótipos resistentes e os genótipos suscetíveis à *Diatraea saccharalis* (Figura 10). Todas as médias dos genótipos resistentes foram superiores às médias dos genótipos suscetíveis, sendo possível observar visualmente esta característica nas Figuras 9A e 9B.

A epiderme é o tecido mais externo dos órgãos vegetais, estando em contato direto com o meio e tendo o revestimento como principal função. Possui células bem justapostas, sem espaços intercelulares. A disposição das células atua como defesa mecânica, impedindo a invasão por patógenos, perda de água, limitando as trocas gasosas e protegendo a planta contra o excesso de radiação (PEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2009). Essas informações vão de acordo com os trabalhos de Esau (1974) e Kozlowski (1997) os quais afirmam que uma maior espessura de epiderme atua como barreira contra microorganismos patogênicos e impede a entrada de substâncias tóxicas do solo na planta. Dessa forma, quanto maior a espessura da epiderme, mais protegido o mesofilo se encontra (KORNDÖRFER et al., 2002).

Em decorrência do contato direto com o meio, a epiderme fica sujeita a modificações estruturais. Segundo Castro et al. (2009), a ocorrência de estresses pode ocasionar alterações na espessura epidérmica foliar. Em conjunto, Faria et al. (2014) afirma que a diminuição da espessura da epiderme foliar conduz a planta à uma condição de fragilidade em relação ao ataque de pragas e patógenos. Colaborando com estas informações, os resultados encontrados demonstram que genótipos resistentes apresentam epidermes mais espessadas quando comparados com os genótipos mais suscetíveis à *Diatraea saccharalis*. Uma vez que esta possui função de defesa contra choques mecânicos, uma maior espessura de epiderme dificultaria a predação por herbívoros. Deste modo, plantas com epidermes mais espessas apresentam maior chance de adaptabilidade e sobrevivência.

A maior espessura de epiderme, assim como a maior espessura de parede celular, observada nos genótipos resistentes, pode estar relacionada a uma resistência em decorrência de antixenose física, como relatado por Bernays & Chapman (1994). O método de separação dos genótipos, através da II%, demonstra que os mesmos tiveram uma menor perfuração do colmo quando comparados com os genótipos suscetíveis. Isso colabora com a hipótese de que uma maior barreira física dificultaria a predação pela broca, fazendo com que estas plantas fossem menos atrativas e, conseqüentemente, menos atacadas pelo inseto-praga.

A diferença da anatomia foliar entre os genótipos contrastantes dá suporte a hipótese de uma barreira física, atribuída à estrutura das folhas de cana-de-açúcar, consista em uma das estratégias de resistência à *Diatraea saccharalis*.

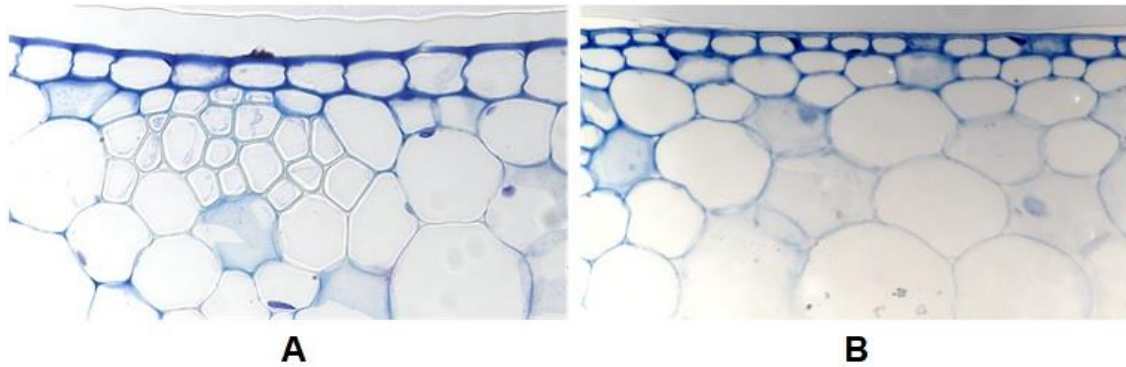


Figura 10. Espessura da epiderme na face adaxial do genótipo RB147587, resistente à *Diatraea saccharalis* (A) e do genótipo RB147533, suscetível à *Diatraea saccharalis* (B).

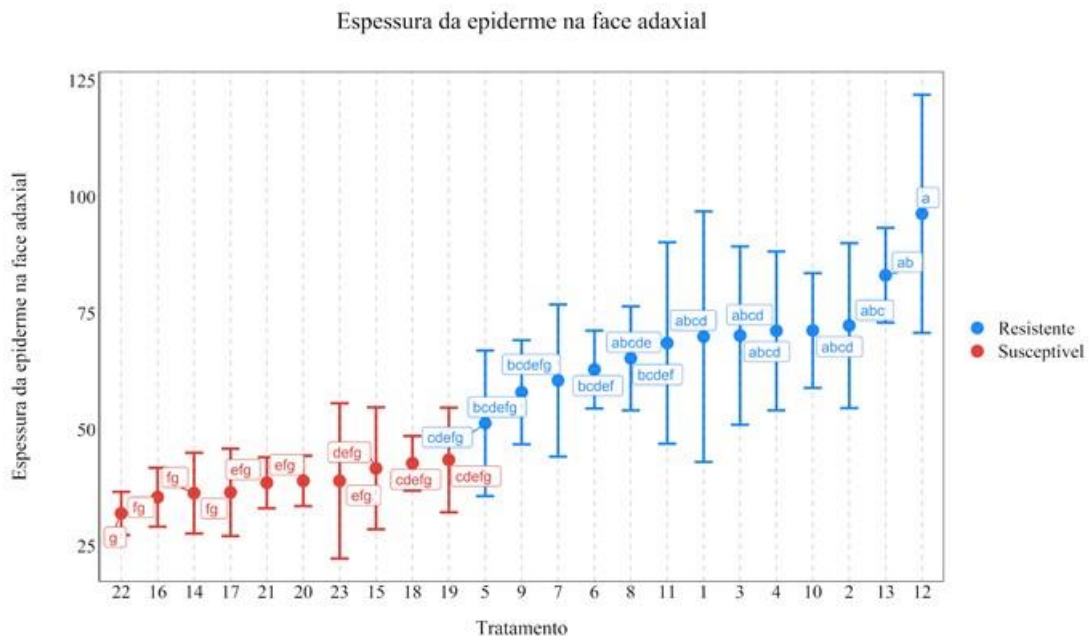


Figura 11. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face adaxial da bainha (EAD). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14=

RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

Houve uma tendência dos genótipos resistentes apresentarem uma menor média de área foliar (Figura 11). A redução da área foliar, com a finalidade de aumento da resistência da planta, já foi observada em trabalhos relacionados ao estresse hídrico. Segundo Kerbaury (2009), Cordeiro et al. (2009) e Taiz e Zeiger (2013) uma planta com menor área foliar transpira menos, conservando sua turgescência e suportando períodos de estresse mais prolongados.

Para as características AFE, ESP e DEN (Apêndices 48, 49 e 50), não houve separação dos genótipos resistentes dos genótipos suscetíveis por meio do teste de Tukey. Dessa maneira, é inferido que tais características não estão diretamente ligadas com a resistência das plantas à *D. saccharalis*.

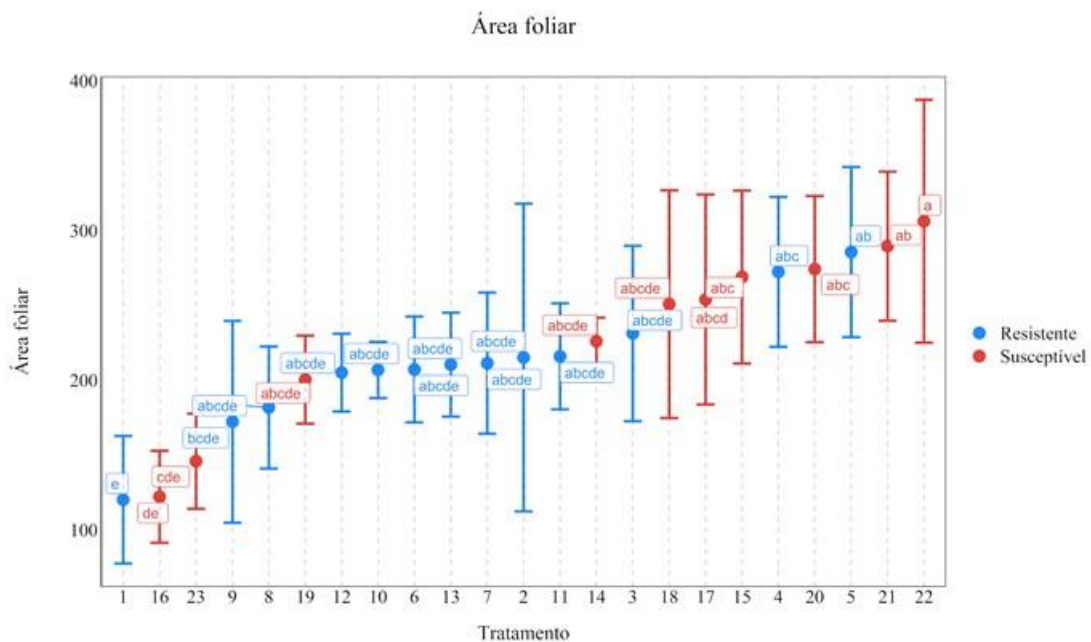


Figura 12. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar (AF). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

Para a quantificação no teor de silício, embora os genótipos tenham apresentado diferença significativa na análise de variância ($P < 0.05$) não foi possível separar os genótipos resistentes dos genótipos suscetíveis (Figura 12). O genótipo RB147590, resistente à *Diatraea saccharalis*, apresentou a maior porcentagem de silício, enquanto o genótipo suscetível, RB147533, a menor. Apesar destes resultados serem condizentes com os achados na literatura que afirmam a existência de relação entre a quantidade de silício presente nas folhas de cana-de-açúcar e a resistência à artrópodes, a grande maioria dos genótipos utilizados neste estudo não apresentou médias consideradas estatisticamente diferentes.

Embora Keeping et al. (2009) afirme que variedades de cana-de-açúcar resistentes à artrópodes apresentam eficiência na absorção de silício no solo, mesmo sem a realização de adubação silicatada, a falta da aplicação do nutriente pode ter influenciado nos resultados. Como observado primeiramente no trabalho de Wagner (1940) e por Goussain et al. (2002), Fauteux et al. (2005), Kvedaras et al. (2010), Becker et al. (2015) e Oliveira (2016), o silício teve efeito significativo no aumento da resistência à pragas em diversas culturas. Dessa maneira, embora os resultados não tenham demonstrado um maior teor de silício nos genótipos resistentes, é indicado a continuação de pesquisas visando compreender de qual forma esse nutriente atua na resistência de plantas.

A idade das plantas influencia nas concentrações de Si na cana-de-açúcar. Plantas muito jovens podem apresentar valores significativamente mais baixos quando comparadas com plantas mais velhas (KORNDÖRFER; DATNOFF, 1995). A realização de estudos em plantas de diferentes idades possibilita uma maior precisão quanto à concentração deste elemento nos genótipos de cana-de-açúcar.

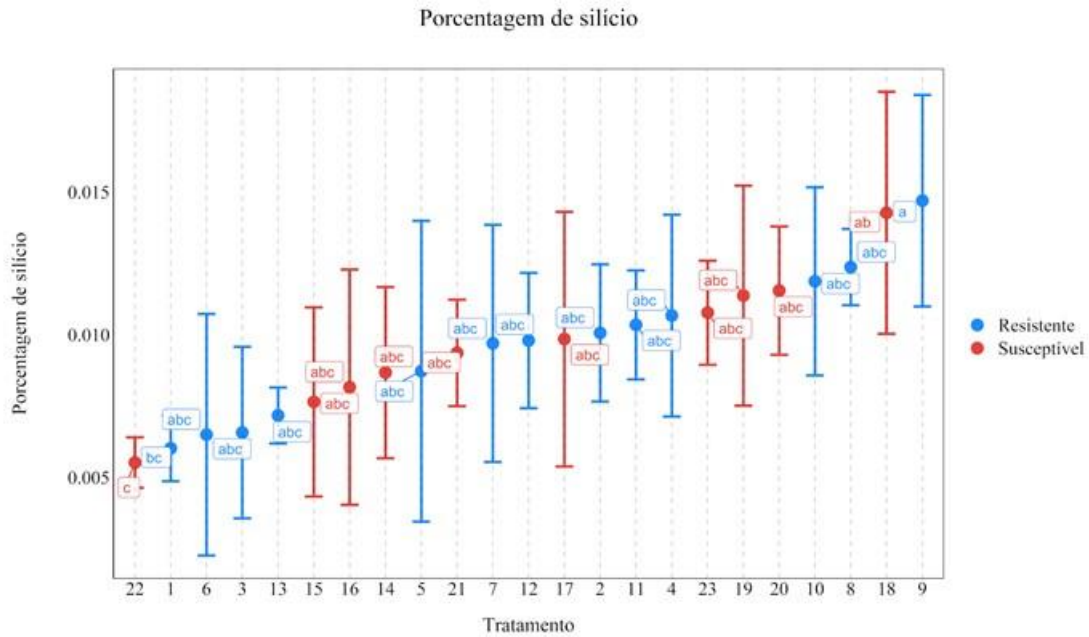


Figura 13. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere porcentagem de silício (%Si). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

5.5 Diversidade Genética

A análise de diversidade genética foi realizada para os caracteres que foram significativos na análise de variância geral e apresentaram uma amplitude entre a média dos genótipos resistentes e a média dos genótipos suscetíveis superior a 15%. Os caracteres foram: EAD, EC, E1, E2, EAD-L, EAB-L, PE1 e PE2.

Todos os caracteres apresentaram correlação significativa e positiva (Tabela 8). A maior magnitude foi entre os caracteres E1 X EC (0.95). Os caracteres que se destacaram por apresentar uma correlação de magnitude mais elevada (>0.70) foram EC X E2 (0.78), EAD-L X EAB-L (0.77) e PE1 X PE2 (0.72). A maior correlação encontrada com o caractere EAD foi EC (0.61). Os caracteres que apresentaram correlação de média magnitude (>0.50) com EAD foram E1 X EAD (0.55), E2 X EAD (0.54), EAD-L X EAD (0.53) e EAB-L X EAD (0.50).

Tabela 8. Coeficiente de correlação de Pearson entre os caracteres espessura da epiderme na face adaxial (EAD), espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC), espessura isolada da primeira camada (E1), espessura isolada da segunda camada (E2), espessura da epiderme na face adaxial do limbo (EAD-L), espessura da epiderme na face abaxial do limbo (EAB-L), espessura da parede externa da primeira camada (PE1) e espessura da parede externa da segunda camada (PE2) de 23 genótipos de cana-de-açúcar classificados como resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*.

Caractere	EAD	EC	E1	E2	EAD-L	EAB-L	PE1	PE2
EAD		0,61**	0,55**	0,54**	0,53**	0,50*	0,40**	0,24*
EC	0,61**		0,95**	0,78**	0,58**	0,56**	0,63**	0,57**
E1	0,55**	0,95**		0,65**	0,50**	0,50**	0,60**	0,53**
E2	0,54**	0,78**	0,65**		0,49**	0,51**	0,60**	0,56**
EAD-L	0,53**	0,58**	0,50**	0,49**		0,77**	0,31**	0,28**
EAB-L	0,50*	0,56**	0,50**	0,51**	0,77**		0,31**	0,28**
PE1	0,40**	0,63**	0,60**	0,60**	0,31**	0,31**		0,72**
PE2	0,24*	0,57**	0,53**	0,56**	0,28**	0,28**	0,72**	

**,* significativo a 1% e 5% de probabilidade respectivamente.

As matrizes de distâncias de Mahalanobis (D^2) foram estimadas e utilizadas como medida de dissimilaridade entre os genótipos para a construção de um dendrograma pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average*) (Figura 13). A partir da análise de agrupamento é possível formar grupos de genótipos mutuamente similares.

Considerando o corte do dendrograma realizado em 14.25 de dissimilaridade, foram formados 6 grupos. Quanto mais baixo o corte, maior a quantidade final de grupos formados e maior a similaridade entre eles.

O primeiro grupo foi formado pelos genótipos RB147591, RB147589, RB047212, RB867515, RB147590, RB127384, RB147592, RB047201 e RB047226, todos resistentes. O segundo grupo foi formado pelo genótipo RB047055 enquanto o terceiro e o quarto grupo foram formados pelos genótipos RB147587 e RB147588 respectivamente. O genótipo RB147588, embora tenha apresentado médias menores, dentre os genótipos resistentes, para os caracteres EAD, EAD-L e EAB-L, teve destaque para os caracteres PE1 e PE2. Desse modo, apesar das características relacionadas a espessura não terem se destacado, as características de parede celular apresentaram espessura significativamente maior que os demais genótipos

resistentes. Já o genótipo RB147587 apresentou as maiores médias para todas as características relacionadas com espessura de epiderme, tanto na região do limbo, quanto na região da bainha da folha. Dessa forma, os genótipos são indicados para estudos futuros relacionados à seleção de genótipos resistentes com base em características anatômicas. Todos os genótipos dos grupos de um à quatro são considerados como resistentes à *Diatraea saccharalis*.

O quinto grupo foi formado por todos os dez genótipos suscetíveis. Esse resultado colabora ainda mais com a hipótese de que as características relacionadas com a espessura de epiderme de cana-de-açúcar possuem relação com a resistência à broca. O genótipo IM 76-228, por sua vez, formou sozinho o grupo seis. Este genótipo é o único classificado como *S. Robustum* e foi considerado resistente em decorrência de sua alta dureza e pilosidade. Esse resultado demonstra que a resistência de plantas a artrópodes é uma característica influenciada por diversos fatores. O genótipo apresenta características estruturais que conferem alta mortalidade de larvas em estágio inicial (PIMENTEL et al., 2017), embora não tenha apresentado aumento na espessura de epiderme e paredes externas. Por outro lado, ainda que não tenha apresentado médias elevadas para caracteres de espessura de epiderme, o genótipo IM 76-228 apresentou a maior média para o caractere PEAB. Esse resultado vai de acordo com o trabalho de Wartha et al. (2014), em que foram encontrados compostos químicos relacionados à resistência à *Diatraea saccharalis* na parede celular deste genótipo.

Por meio da análise de agrupamento, é perceptível a separação dos genótipos resistentes e suscetíveis com base nos caracteres descritos anteriormente. Em vista disso, podemos observar que as características de epiderme e parede externa da cana-de-açúcar auxiliam na resistência da planta à broca.

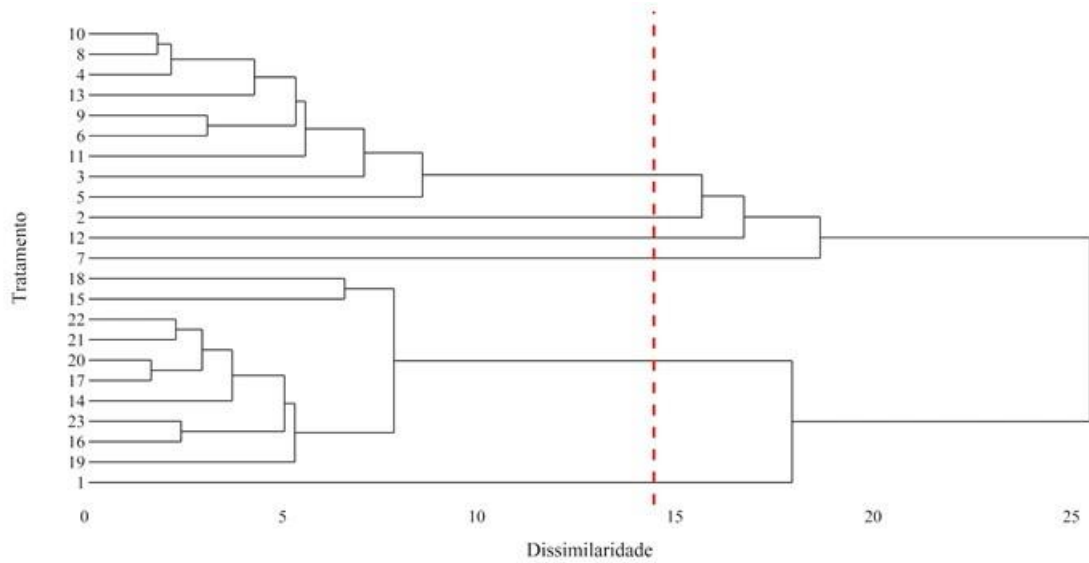


Figura 14. Dendrograma gerado pelo método UPGMA de 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, com base nos caracteres espessura da epiderme na face adaxial (EAD), espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC), espessura isolada da primeira camada (E1), espessura isolada da segunda camada (E2), espessura da epiderme na face adaxial do limbo (EAD-L), espessura da epiderme na face abaxial do limbo (EAB-L), espessura da parede externa da primeira camada (PE1) e espessura da parede externa da segunda camada (PE2).

6. CONCLUSÃO

Existe variação na estrutura anatômica das folhas dos genótipos de cana-de-açúcar que pode ser relacionada à resistência *Diatraea saccharalis*;

Os genótipos de cana-de-açúcar apresentam diferença significativa para os caracteres EAB-L e EAD-L, na região do limbo, tendo os genótipos resistentes apresentado amplitude acima de 15% nas médias dos genótipos resistentes quando comparados com os suscetíveis.

As diferenças da anatomia da epiderme e camadas adjacentes das folhas de genótipos de cana divergentes dão suporte a hipótese de uma barreira física do tecido de revestimento relevante para a tolerância à broca da cana.

Há diferenças significativas e maiores médias nos genótipos resistentes para os caracteres EC, E1, E2, PE1, PE2 e EAD na região da bainha.

A maior diferença anatômica entre os genótipos resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis* é a espessura da epiderme na face adaxial, sendo esta maior nos genótipos resistentes;

Houve diferença significativa entre a porcentagem de silício presente nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar.

O teor de silício presente nas folhas de cana-de-açúcar não diferiu entre o grupo resistente e o grupo suscetível à *Diatraea saccharalis*.

O genótipo RB147587 apresentou as maiores médias para os caracteres EAD-L, EAB-L, EC e EAD e pode ser utilizado em programas de melhoramento visando o estudo de caracteres anatômicos e obtenção de genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*.

Foi possível realizar a separação dos genótipos quanto a resistência à *Diatraea saccharalis* com base nos caracteres EAD, EC, E1, E2, EAD-L, EAB-L, PE1 e PE2.

7. REFERÊNCIAS

- AUDE, M.I.S. 1993. **Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade**. Ciência Rural, v.23, p.241-248.
- BARBIERI, V.; VILLA NOVA, N. A. 1977. **Climatologia e a cana-de-açúcar**. In: PLANALSUCAR – Coordenadoria Regional Sul – COSUL, Araras, p. 1-22.
- BECKER, C.; DESNEUX, N.; MONTICELLI, L.; FERNANDEZ, X.; MICHEL, T.; LAVOIR, A. V. **Effects of abiotic factors on hipv-mediated interactions between plants and parasitoids**. Bio Med Research International, London, p. 1-18. DOI: 10.1155/2015/342982.
- BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. 1994. **Hostplant selection by phytophagous insects**. Chapman & Hall, New York.
- BLUM, A. 1968. **Anatomical phenomena in seedlings of sorghum varieties resistant to the sorghum shoot fly *Atherigona varia soccata***. Crop Sci., 8:388-391.
- BOTELHO P. S. M.; MACEDO, N.1988. **Controle integrado da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lepidoptera: Pyralidae)**. Brasil Açucareiro, v. 160, p. 2-14.
- BOWEN, P.; MENZIES, J.; EHRET, D. 1992. **Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves**. Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v. 117, n. 6, p. 906-912.
- CARRAPIÇO, F. J. N. 1998. **Tecidos vegetais: estrutura e enquadramento evolutivo**. Departamento de Biologia molecular/ Secção de Biologia Celular e Biotecnologia vegetal.
- CARVALHO, C. G. P.; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; OLIVEIRA, M. F.; HIROMOTO, D. M.; TAKEDA, C. 2003. **Proposta de classificação dos coeficientes de variação em relação à produtividade e altura da planta de soja**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 38:187-193.
- CASAGRANDE, A. A. 1991. **Tópicos de morfologia e fisiologia de cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP. 157p.

- CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. 2009. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 234p.
- CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. **Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp.** *Phytopathology*, St. Paul, v. 84, n. 3, p. 236- 242, mar., 1994. DOI: 10.1094/Phyto-84-236.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acomp. safra bras. cana, v. 6 - Safra 2019/20, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília**, p. 1-58 abril de 2019.
- CORDEIRO, Y. E.M.; PINHEIRO, H. A.; SANTOS FILHO, B.G.; CORREA, S. S.; SILVA, J. R. R., DIAS-FILHO, M. B. 2009. **Physiological and morphological responses of young mahogany 60 (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought.** *Forest Ecology and Management*.v. 258, p.1449–1455.
- DEMETRIO, P. A.; ZONETTI, P. P.; MUNHOZ, R. E. F. 2008. **Avaliação de genótipos de cana-de-acucar promissores RBs quanto à resistência à broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) na região noroeste do Paraná.** *Iniciação Científica Cesumar*, v.10, p.13-16,
- DIAS, P. A. S.; SAMPAIO, M. V.; RODRIGUES, M. P.; KORNDÖRFER, A. P.; OLIVEIRA, R. S.; FERREIRA, S. E.; KORNDÖRFER, G. H. 2014. **Induction of resistance by silicon in wheat plants to alate and apterous morphs of *Sitobion avenae* (Hemiptera: *Aphididae*).** *Environmental Entomolgy*, Oxford, v. 43, n. 4, p. 949-956. DOI: 10.1603/EN13234.
- DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. 2012. **Influência da infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) sobre parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar.** *Bragantia*, Campinas, v. 71, n. 3, p.342- 345, 26. FapUNIFESP (SciELO).
- DINARDO-MIRANDA LL, Pragas. In: Dinardo-Miranda LL, Vasconcelos ACM, Landell MG (Ed.). 2008. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 349 - 404.
- EPSTEIN, E. 1999. **Silicon.** *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, jun.
- ERLER, G. 2010. **Controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera:Crambidae) através de isca tóxica.** Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 112p.

- ESAU, K. 1974. **Anatomia de plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher.
- FARIA, A.T.; SILVA, A.F.; FERREIRA, E.A.; ROCHA, P.R.R.; SILVA, D.V.; SILVA, A.A. ET AL. 2014. **Alterações nas características fisiológicas da cana-de-açúcar causadas por trinexapac-ethyl**. Revista Brasileira Ciências Agrárias, v.9, n.2, p.200-204.
- FAUTEUX, F.; RÉMUS-BOREL, W.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. 2005. **Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi**. FEMS Microbiology Letters, Amsterdam, v. 249, n. 1, p. 1-6. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.06.03
- FAWE, A.; ABOU-ZAID, M.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. **Silicon – mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber**. *Phytopatology*. St. Paul, v. 88, n. 5, p. 396-401, maio 1998. DOI: 10.1094/PHYTO.1998.88.5.396.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**. 2021. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/ptop/pagina-principal/en/>>. Acesso em: 10 de junho de 2020.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GOUSSAIN, M.M. 2001. **Efeito da aplicação do silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e do pulgão-da-folha *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae)**. 64p. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. 2002. **Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Neotropical Entomology, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310. DOI: 10.1590/S1519-566X2002000200019.
- GULLAN, P. J.; GRANSTON, P. S. 2007. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Roca. 440 p. Ilustrado por: K. Hansen McInnes.

- KARBAN, R. **Plant behaviour and communication**. Ecol. Lett. v. 11, p.1-13, 2008.
- JOSEPH E. KRASKA AND GARY A. BREITENBECK. 2010. **Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue**. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 41:2075–2085.
- KEEPING, M. G.; MEYER, J. H. 1999. **Application of silicon enhances resistance of sugarcane to stalk borer *Eldana saccharina* Walker**. Proceedings of the 12th Congress Entomological Society.
- KEEPING, M.G. AND MEYER, J.H. 2006. **Silicon-Mediated Resistance of Sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): Effects of Silicon Source and Cultivar**. Journal of Applied Entomology, 130, 410-420.
- KEEPING, M. G.; KVEDARAS, O. L.; BRUTON, A. G. 2009. **Epidermal silicon in sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldana saccharina***. Environmental and Experimental Botany, Lancaster, v. 66, n. 1, p. 54-60.
- KERBAUY, G. B. 2009. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.452.
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. 2002. **Papel do silício na produção de cana-de-açúcar**. STAB, v.21, n.2, p.6-9.
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. 2004. **Silicatos de cálcio e magnésio na agricultura**. Uberlândia: UFU, GPSi, ICIAG, 23p.
- KORNDÖRFER, G. H.; DATNOFF, L. E. 1995. **Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz**. Informações Agronômicas, Piracicaba, n. 70, p. 1-3.
- KOZLOWSKI, T. T. 1997. **Responses of woody plants to flooding and salinity**. Tree physiology, v. 17, n. 7, p. 490.
- KVEDARAS, O. L.; AN, M.; CHOI, Y. S.; GURR, G. M. 2010. **Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences**. Bulletin of Entomological Research, Londres, v. 100, n. 3, p. 367–371. DOI 10.1017/S0007485309990265.

- LARA, F. M. 1991. **Princípios de resistência de plantas aos insetos**. 2. ed. São Paulo: Ícone. 336 p.
- LIMA, L. L.; NUNES, G. H. S.; BEZERRA NETO, F. 2004. **Coeficientes de variação de algumas características do meloeiro: uma proposta de classificação**. Horticultura Brasileira, 22:14-17.
- LIMA FILHO, O.F de. 2009. **Buscando maior sustentabilidade na agricultura com silicatos**. Artigo em Hypertexto.
- MA, J.F.; MIYAKE Y, TAKAHASHI E. 2001. **Silicon as a beneficial element for crop plants**. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) Silicon in agriculture. Studies in plant science, 8. Elsevier, Amsterdam, pp 17–39.
- MACEDO, N.; LAVORENTI, N. 2004. **Novo método de amostragem de intensidade de infestação da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*)**. STAB, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 32-41.
- MAGALHÃES, A. C. N. Ecofisiologia da cana-de-açúcar: aspectos do metabolismo do carbono na planta. In: CASTRO, P.R.C., FERREIRA, S. O., YAMADA, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Assoc. Bras. da Potassa e do Fosfato. 1987. p. 113-118.
- MATOS, C. H. C.; PALLINI, A.; VENZON, M.; FREITAS, R. C. P.; REZENDE, D. D. M. ; 2009. **SCHOEREDER, J. H. Os tricomas de *Capsicum* spp. interferem nos aspectos biológicos do ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus*, Banks (Acari: Tarsonemidae)**. Neotropical Entomology, v. 38, p. 589-594.
- MENZIES, J. G.; EHRET, D. L.; GLASS, A. D. M.; HELMER, T.; KOCH, C.; SEYWERD, F. 1991. **Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus***. Phytopathology, St. Paul, v. 81, n.1, p. 84-88, jan.
- MILLIGAN S.B., BALZARINI M., WHITE W.H. 2003. **Broad-sense heritabilities, genetic correlations, and selection indices for sugarcane borer resistance and their relation to yield loss**. Crop science. 43(5):1729-35.
- MOZAMBANI, A. E.; PINTO, A. S.; SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M. 2006. **História e morfologia da cana-de-açúcar**. In: SEGATO, S. V.;PINTO, A. S., et al (Eds.).

Atualização em produção de cana-de-açúcar. 1ª ed. Piracicaba, v. 1. p.

NOGUEIRA, M.C.S. 2004. **Orthogonal contrasts: definitions and concepts.** Scientia Agricola, Piracicaba, v.61, n.1, p.118-124.

OHASHI, A.Y.P. 2014. **Crescimento e distribuição do sistema radicular de cultivares de cana-de-açúcar fertirrigadas por gotejamento subsuperficial. Dissertação (Mestrado) em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agrônomo. Campinas. 54p.**

OLIVEIRA, R. S. 2016. **Silício na indução de resistência à *Sitobion avenae* (fabricius, 1775) (hemiptera: aphididae), na produtividade do trigo e na produção de voláteis.** 90 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

OLIVEIRA, F. I. C.; FIEGE, L. B. C.; CELIN, E. F.; INNECCO, R.; NUNES, G. H. S.; ARAGÃO, F. A. S. 2017. **Screening of melon genotypes for resistance to vegetable leafminer and your phenotypic correlations with colorimetry.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 89, p. 1155-1166.

OMETTO, ALDO ROBERTO. 2000. **Discussão sobre os fatores ambientais impactados pelo setor sucroalcooleiro e a certificação socioambiental.** São Carlos, SP. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

PAINTER, R. H. 1973. Insect resistance in crop plants. New York, The Macmillan Company, 1951, 520p. Rossetto, C. J. **Resistência de plantas a insetos.** Piracicaba-SP, ESALQ-USP. 171p.

PANDA, N.; KHUSH, G.S. 1995. **Host plant resistance to insects.** Wallingford: CAB. 448p.

PEZZATO-DA-GLÓRIA, Beatriz; CARMELLO-GUERREIRO, Sandra Maria. 2009. **Anatomia Vegetal.** [S.l: s.n.].

PICANÇO, Marcelo Coutinho.2010. **Manejo Integrado de Pragas.** Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa : Departamento de Biologia Animal.

PINTO, A. de S. 2006. **Controle de pragas da cana-de-açúcar.** Sertãozinho: Biocontrol. 64p. (Boletim Técnico Biocontrol, n.1).

- PIMENTEL, Guilherme Vieira. 2016. **Comportamento de oviposição e desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar**. 70f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PIMENTEL, G. V., TOMAZ, A. C., BRASILEIRO, B. P., PETERNELLI, L. A. & BARBOSA, M. H. P. 2017. **Oviposition preference and larval performance of sugarcane borer in eight sugarcane genotypes**. Ciênc. agrotec. 41, 439–446.
- POSEY, F. R. et al. 2006. **Sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) management threshold assessment on four sugarcane cultivars**. Journal of Economic Entomology , 99(3):966-971.
- RECTOR, B.G.; ALL, J.N.; PARROTT, W.A.; BOERMA, H.R. 2000. **Quantitative trait loci for antibiosis resistance to corn earworm in soybean**. Crop Science, Madison, v.40, n.1, p.233- 238.
- REZENDE, G. F. 1992. **Atividade de silício na produtividade e na indução de resistência de gramíneas ao ataque de pragas** 72 p. : il
- ROSSETTO, R.; SANTIAGO, A. D. 2007. **Adubação: resíduos alternativos**. Brasília, DF: EMBRAPA.
- ROSSETTO, C. J. 2009. **Resistência de plantas a insetos**. Piracicaba-SP, ESALQ-USP, 1973. 171p. Zhang G, Gu C, Wang D. Molecular mapping of soybean aphid resistance genes. Theoretical and Applied Genetics, 118:473-482.
- SANTOS, D. M. 2002. **Efeito do silício na intensidade da cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berk & Cooke) em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 43p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG
- SAVANT, N. K.; SNYDER, G. H., DATNOFF, L. E. 1997. **Silicon management and sustainable rice production**. *Advances in Agronomy*, [S.l.], v. 58, p.151-199. DOI: 10.1016/S0065-2113(08)60255-2.
- SCORTECCI, K. C.; CRESTE, S.; CALSA JR., T.; XAVIER, M. A.; LANDELL, M. G. A.; FIGUEIRA, A.; BENEDITO, V. A. **Challenges, Opportunities and Recent Advances in Sugarcane Breeding**. In: ABDURAKHMONOV, I. Y. (Ed.). *Plant Breeding* 1ª ed.: InTech, 2012. cap. 12, p. 267-296.

- SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. 2005. **Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal**. Acta Botanica Brasilica, v. 19, p. 183-194.
- SMITH, C.M. 2005. **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht, Netherlands: Springer. 423p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2013. **Fisiologia vegetal, 5ª edição Internacional**. Ed. Artmed. 954 p.
- TOMAZ, A. C. et al. 2017. **Assessing resistance of sugarcane varieties to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae)**. Bull. Entomol. Res. 1–9.
- VILELA, M. 2013. **Interação silício x *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) x *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar** / Michelle Vilela. – Lavras : UFLA. 50 p. : il.
- WAGNER, F. 1940. **Die bedeutung der Kieselsäurefür das Wachstumeiniger Kulturpflanzen, ihren Nährstoffhaushaltundihre Anfälligkeitgegen exte Mehltaupilze**. Phytopathologische Zeitschrift, Berlim, v.12, p.427-429.
- WARTHA, C. A. **Resistance mechanism of sugarcane genotypes to the sugarcane borer**. Viçosa, MG. Dissertação (Mestrado). Universidade Federa de Viçosa. 38p.
- WEI, J.; ZOU, L.; RONGPING, K.; LIPING, H. 2000. **Influence of leaf tissue structure on host feeding selection by Pea leafminer *Liriomyzahuidobrensis* (Diptera: Agromyzidae)**. Zoological Studies. Taipei, v. 39, n. 4, p. 295-300.

8. APÊNDICES

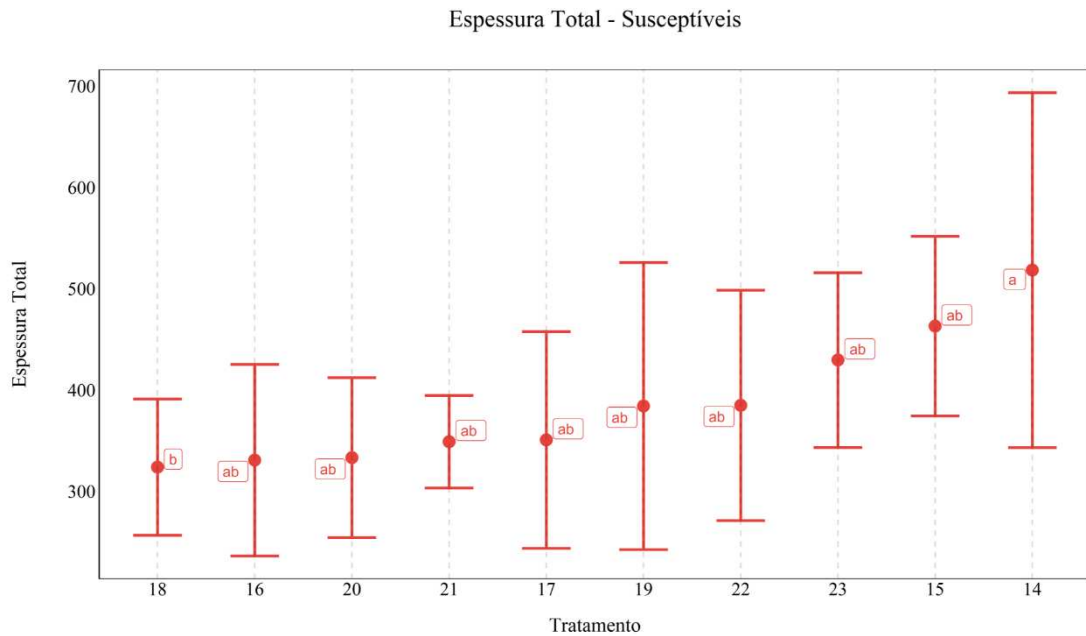


Figura 15. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura total do limbo (ET). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

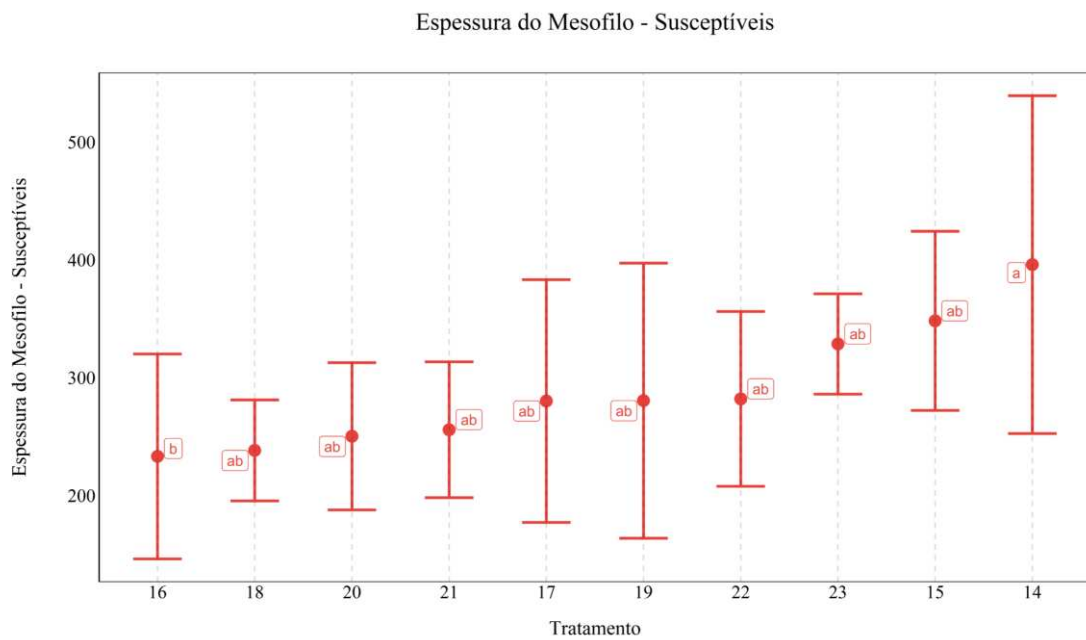


Figura 16. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura do mesofilo (EM). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

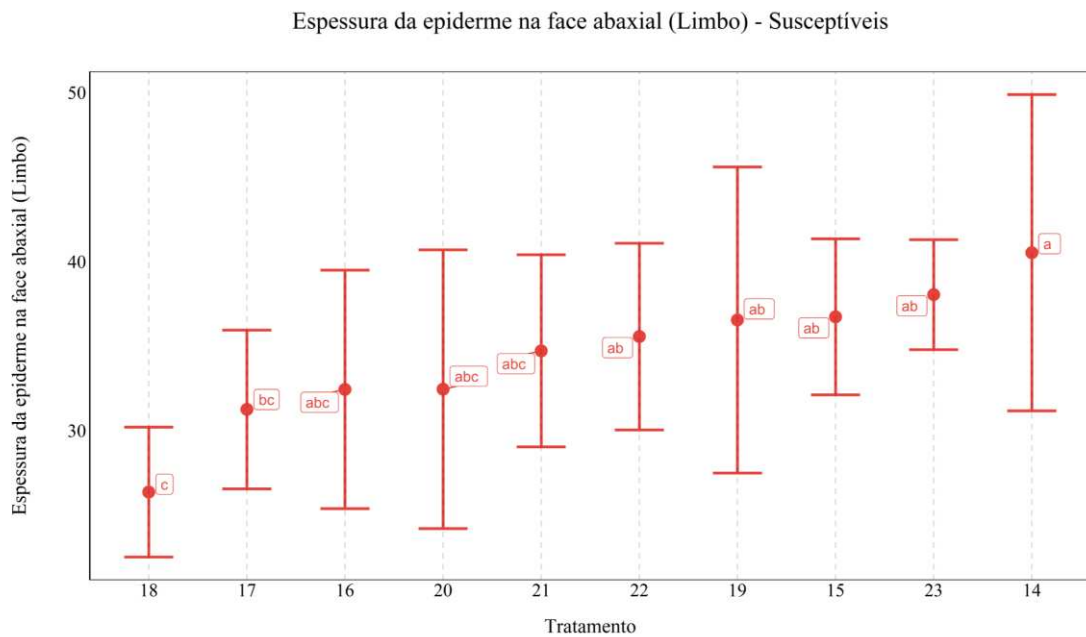


Figura 17. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face abaxial do limbo (EAB-L). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

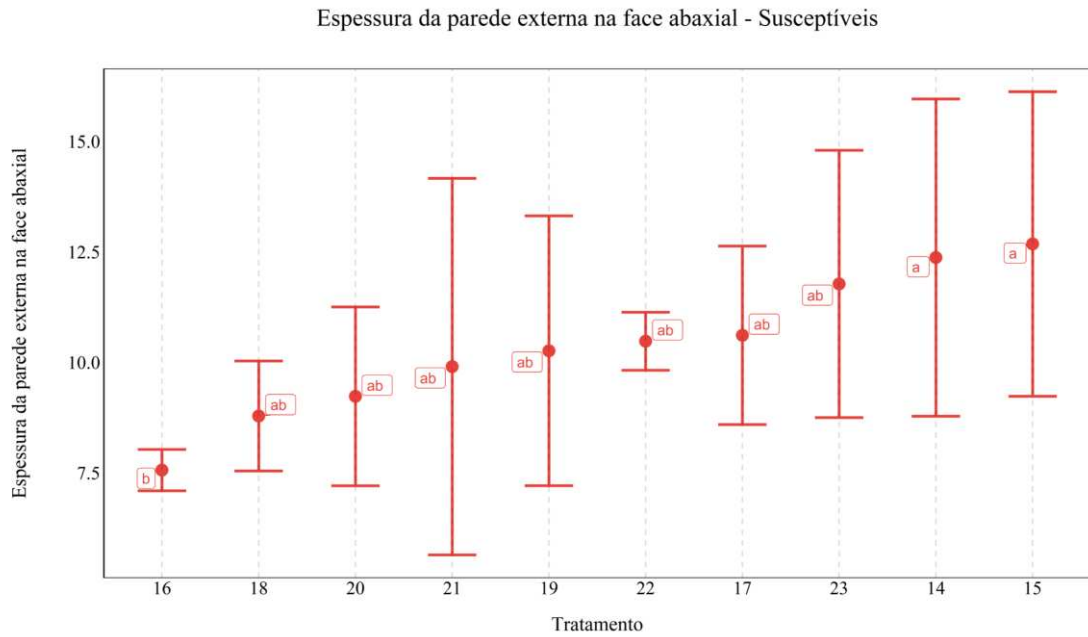


Figura 18. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa na face abaxial (PEAB). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

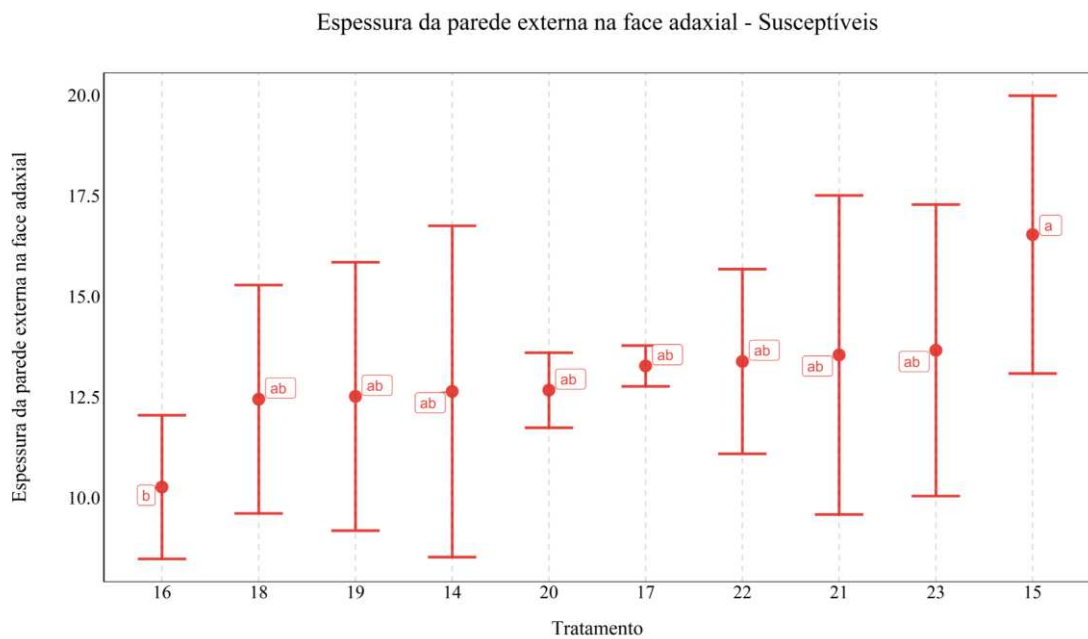


Figura 19. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa na face adaxial (PEAD). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

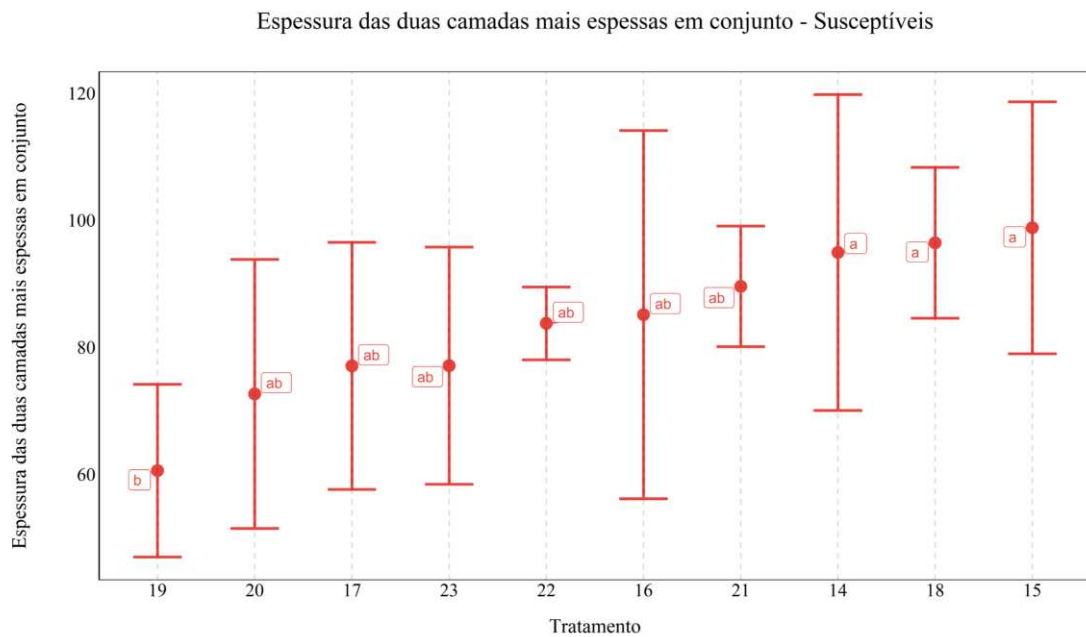


Figura 20. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

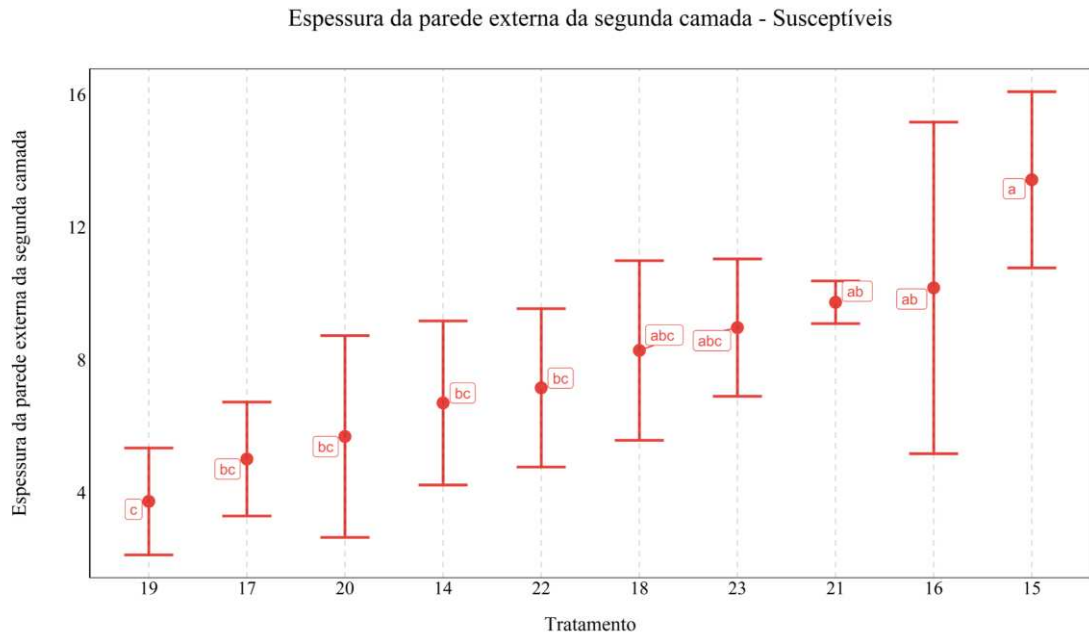


Figura 21. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa da segunda camada (PE2). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

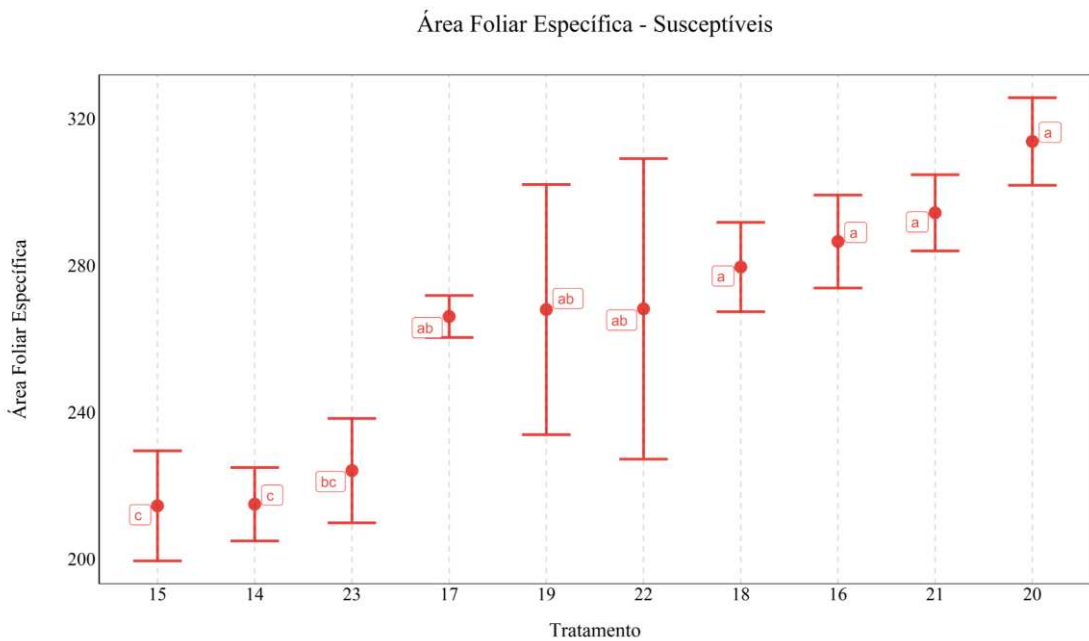


Figura 22. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar específica (AFE).. Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

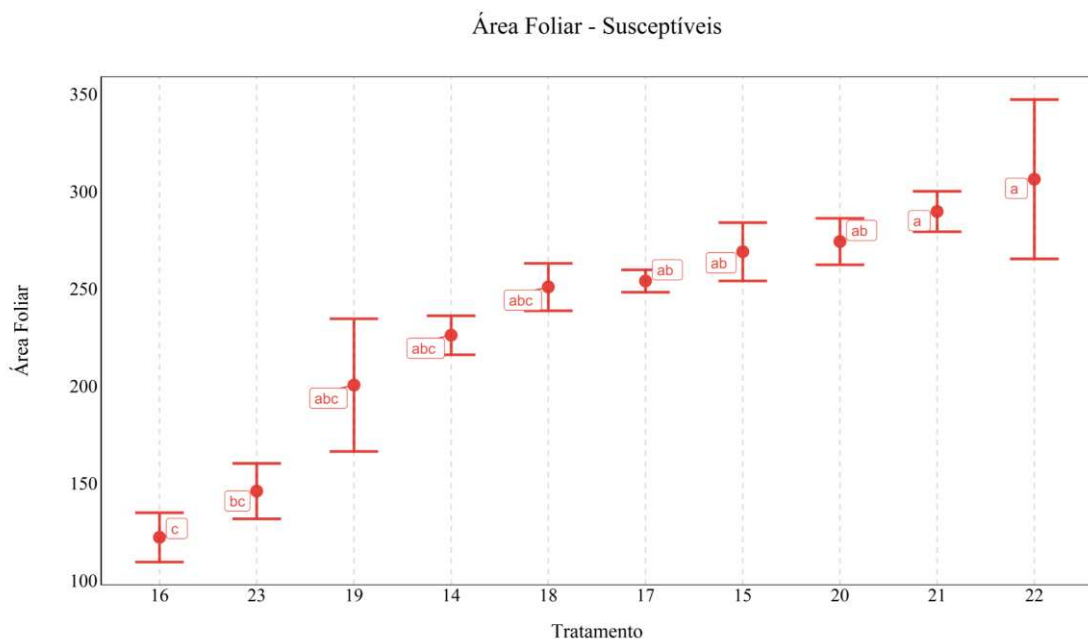


Figura 23. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar (AF). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

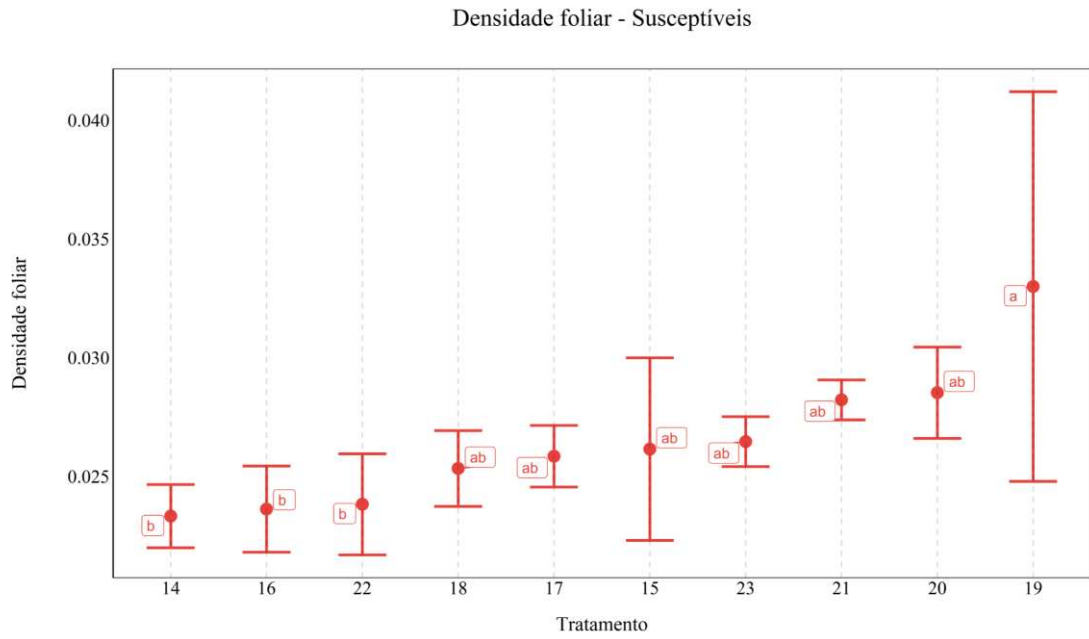


Figura 24. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere densidade foliar (DEN).. Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

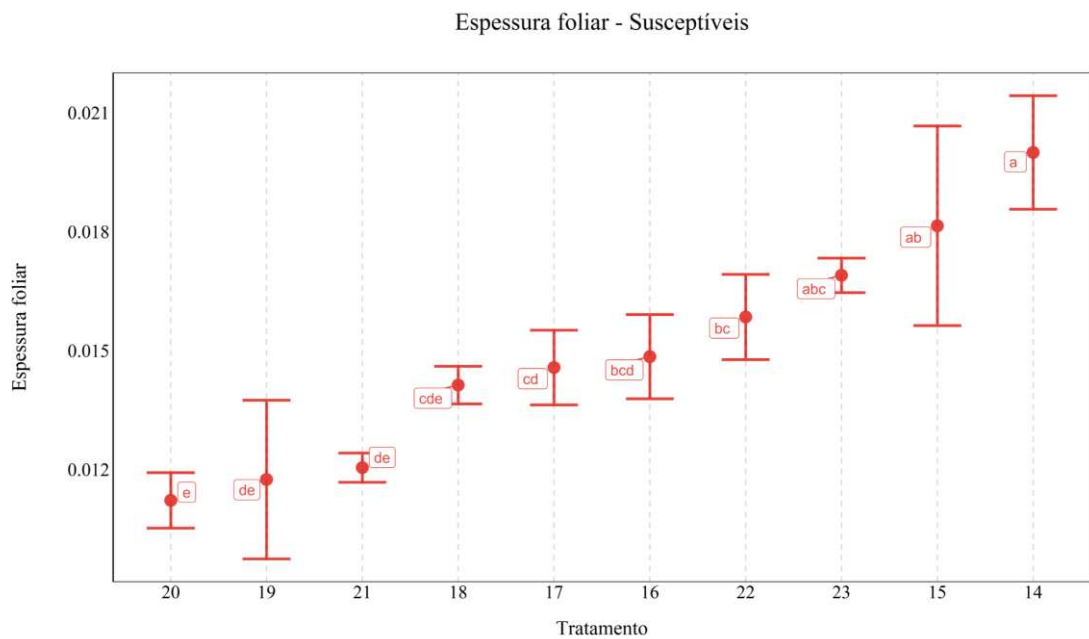


Figura 25. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura foliar (ESP). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

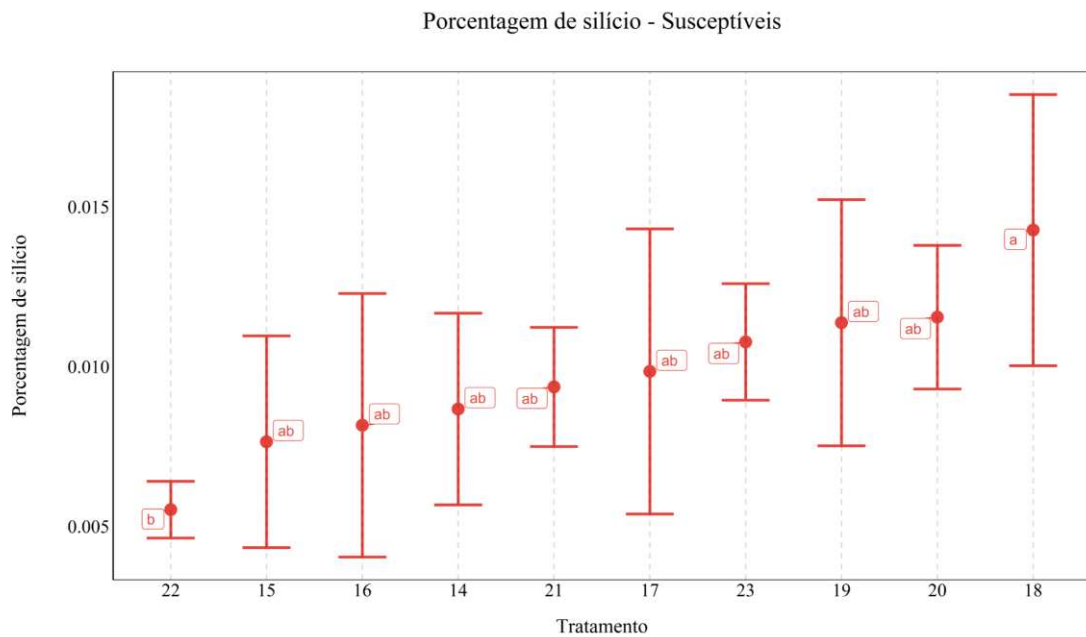


Figura 26. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os dez genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere porcentagem de silício (%Si). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

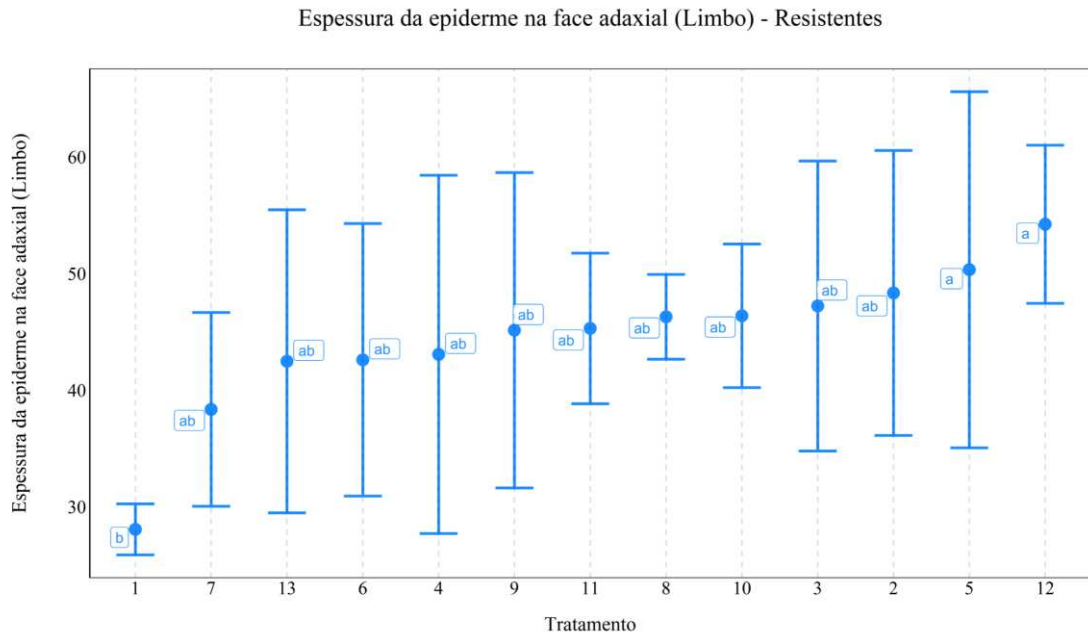


Figura 27. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face adaxial do limbo (EAD-L). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

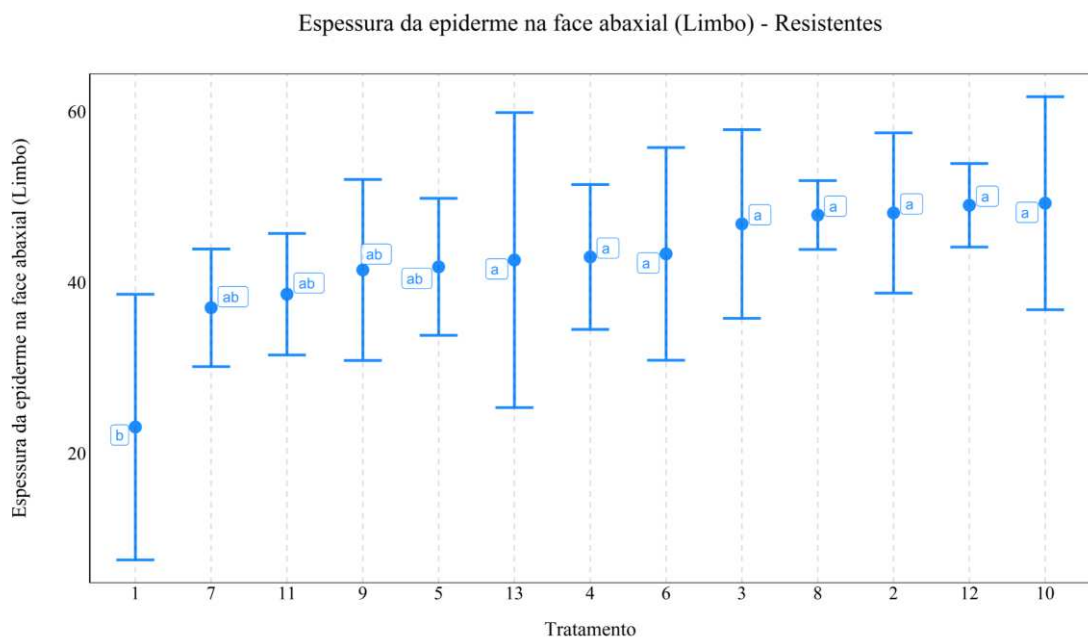


Figura 28. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face abaxial do limbo (EAB-L). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

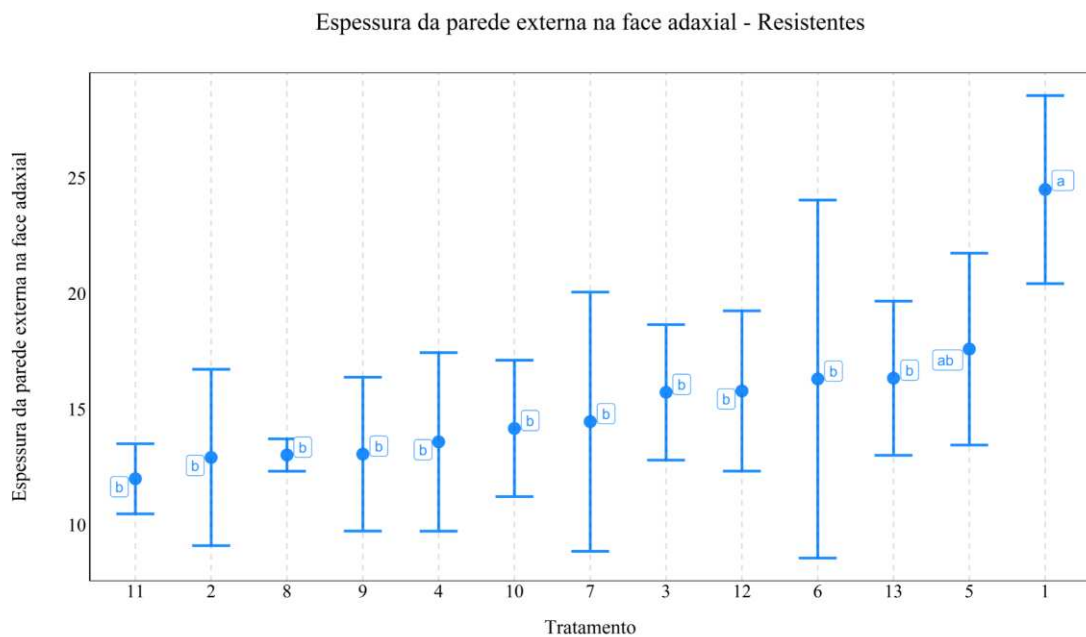


Figura 29. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa na face adaxial (PEAD). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

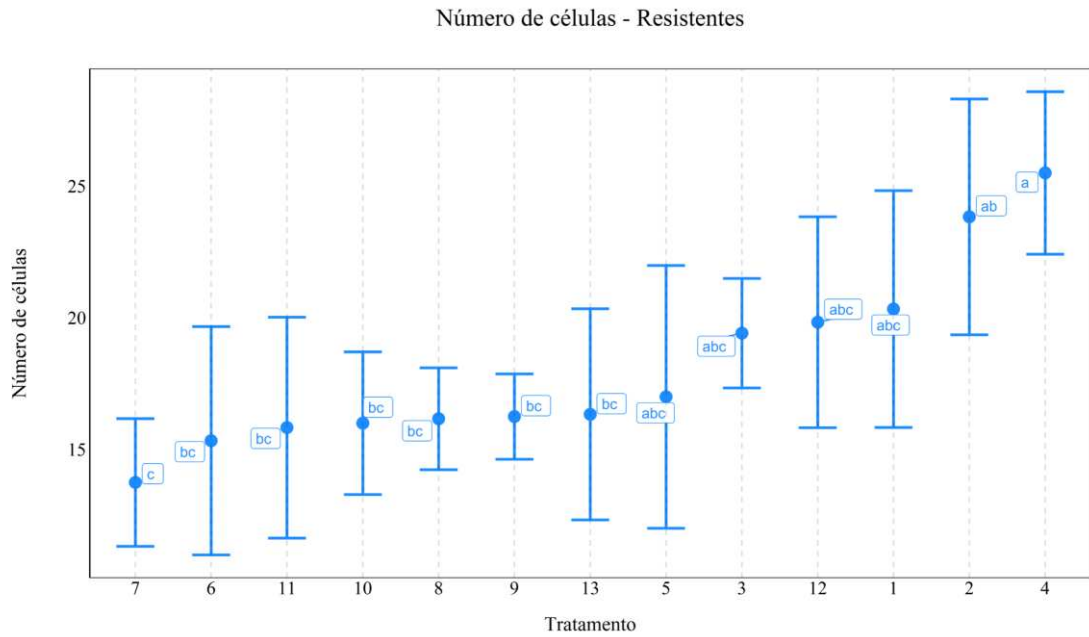


Figura 30. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere número de células (NC). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

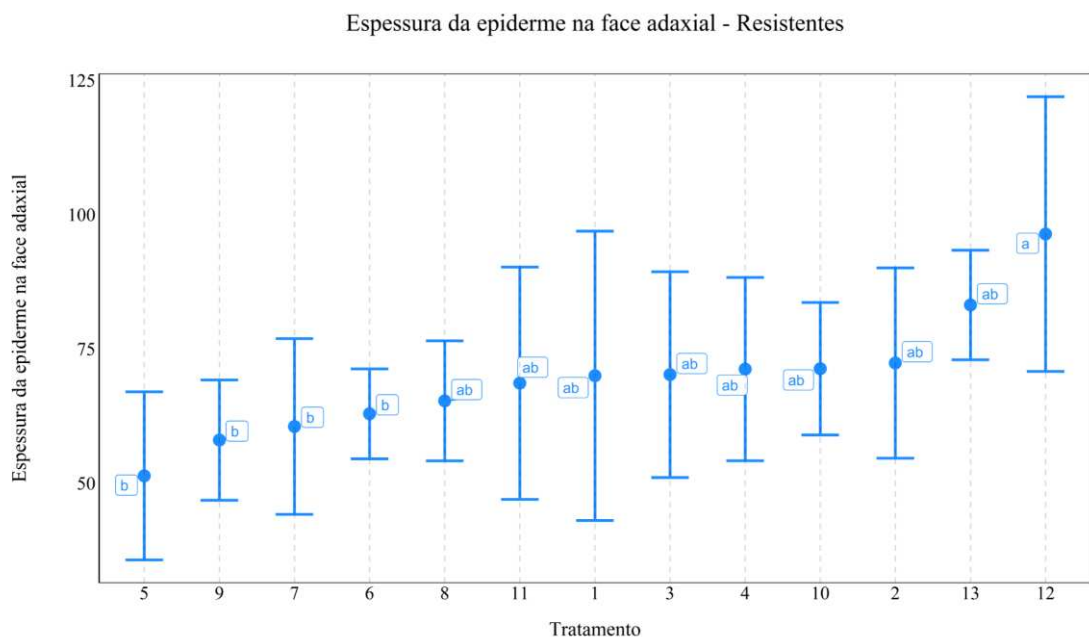


Figura 31. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da epiderme na face adaxial (EAD). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

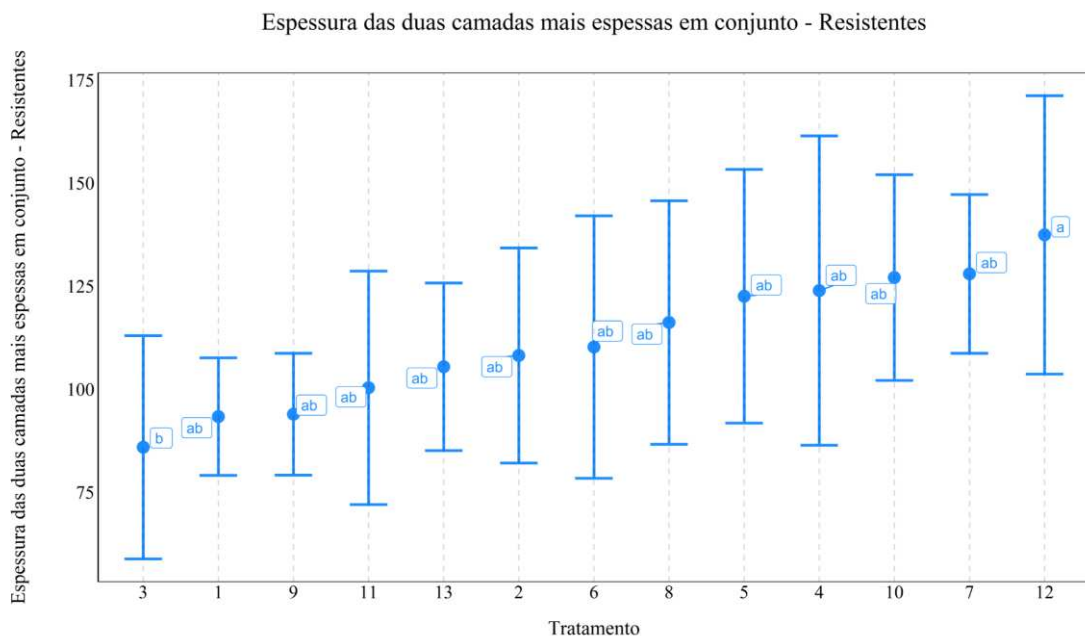


Figura 32. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura das duas camadas mais espessas em conjunto (EC). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

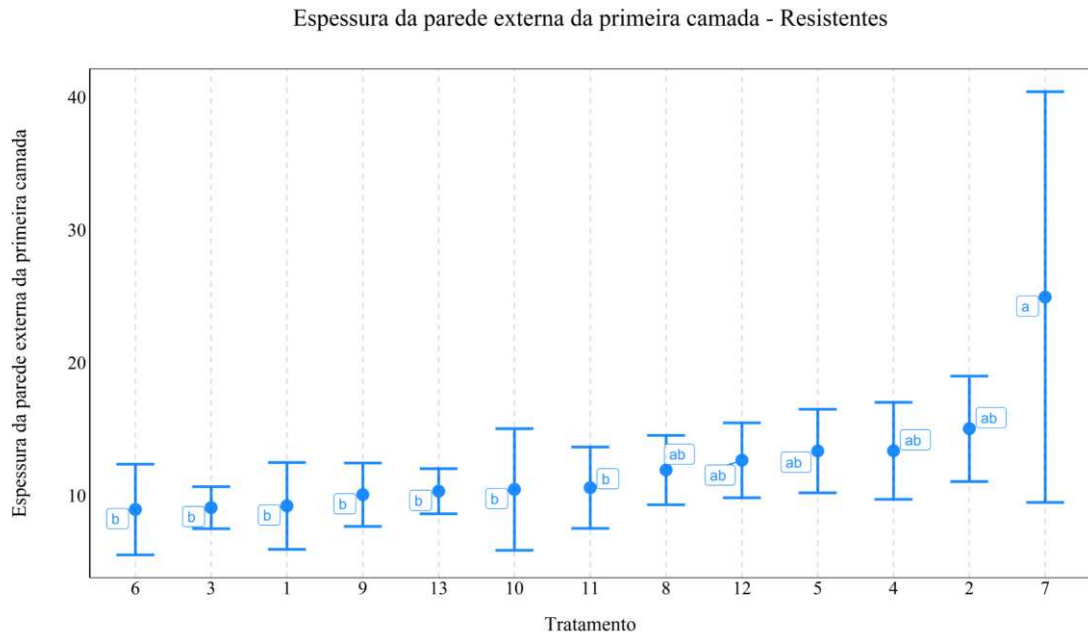


Figura 33. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa da primeira camada (PE1). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

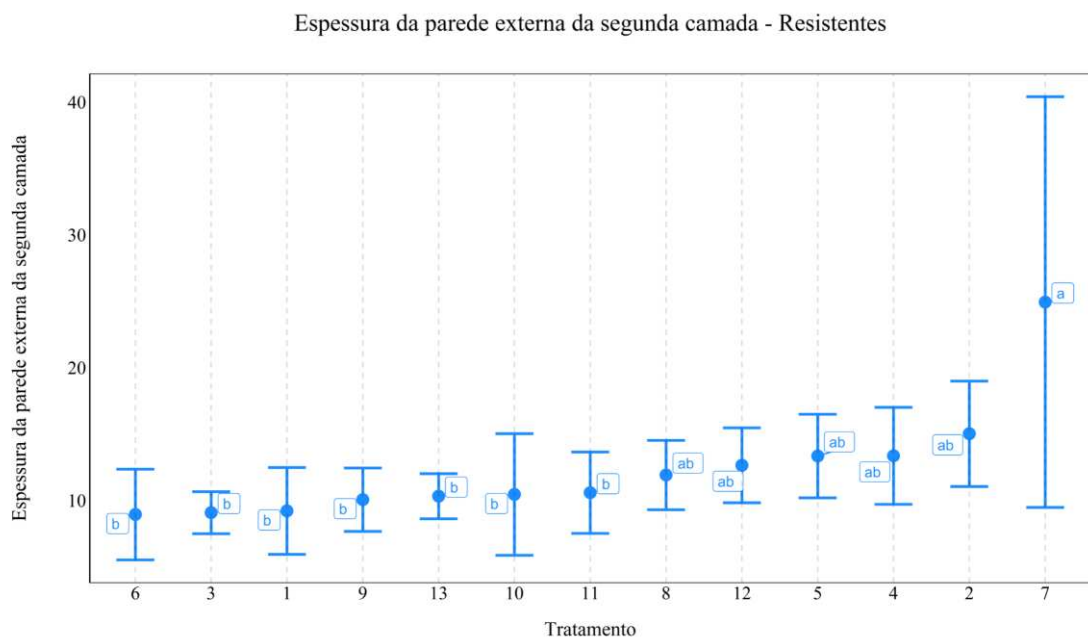


Figura 34. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa da segunda camada (PE2). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

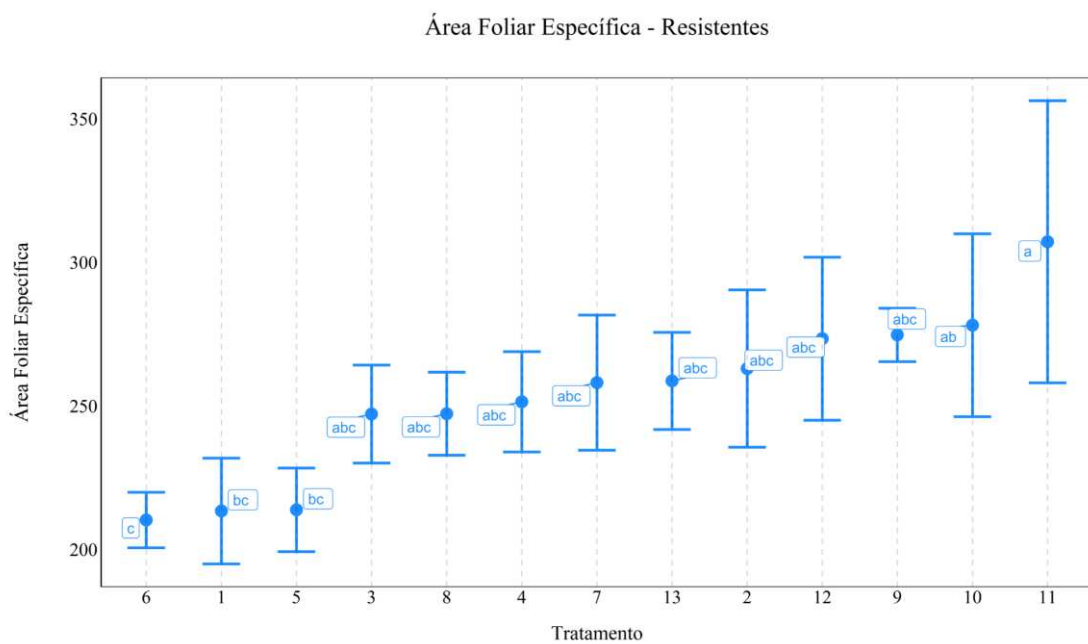


Figura 35. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar específica.. Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

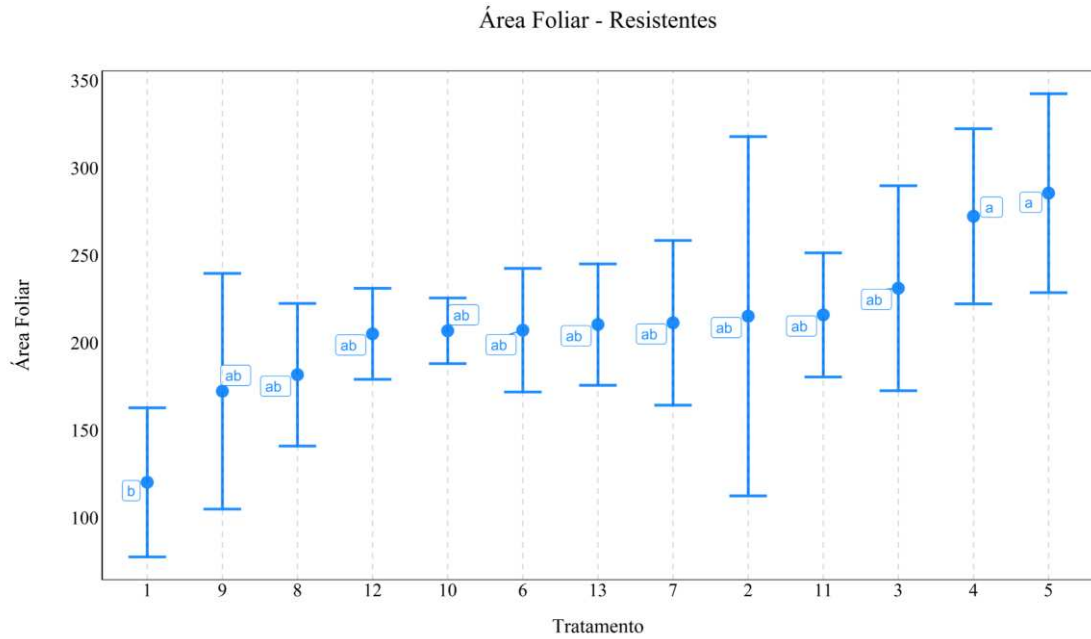


Figura 36. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar (AF). . Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

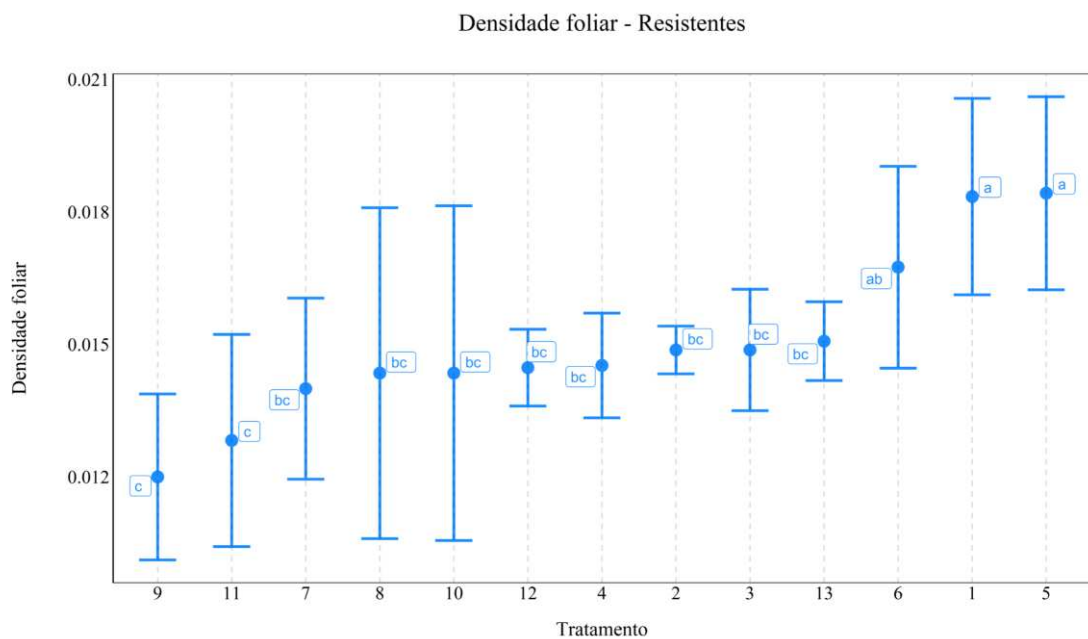


Figura 37. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere densidade foliar (DEN).. Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

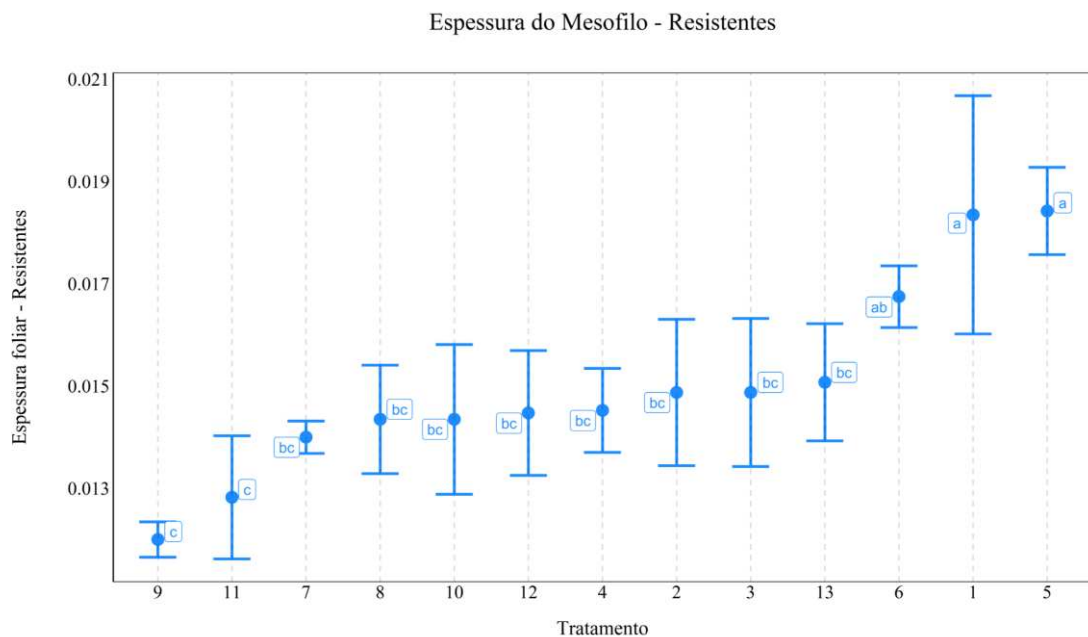


Figura 38. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura foliar (ESP). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

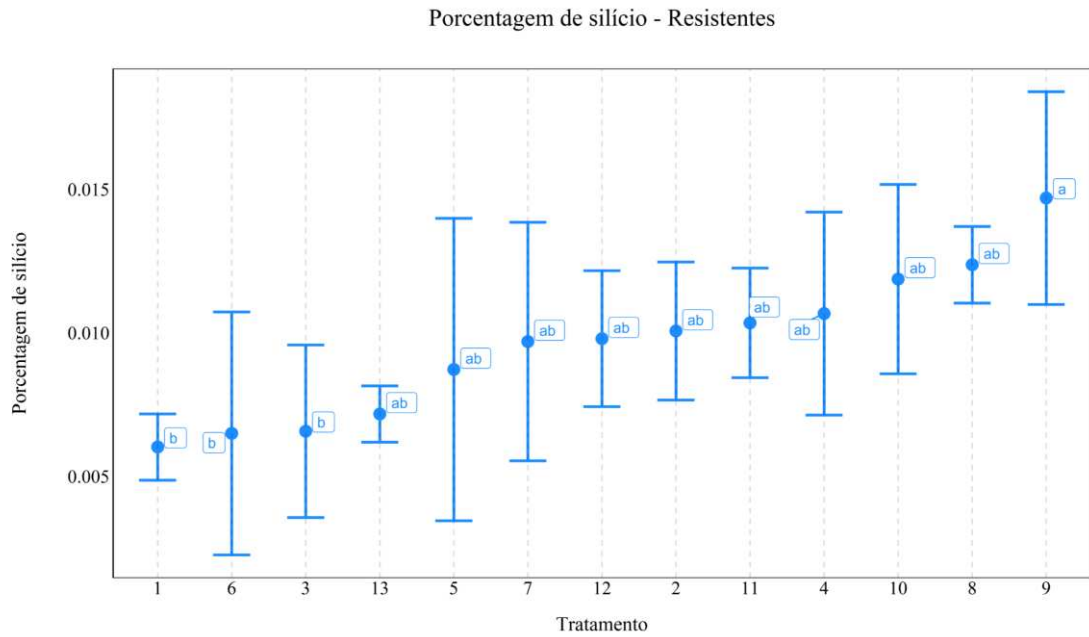


Figura 39. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 13 genótipos de cana-de-açúcar resistentes à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere porcentagem de silício (%Si). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515.

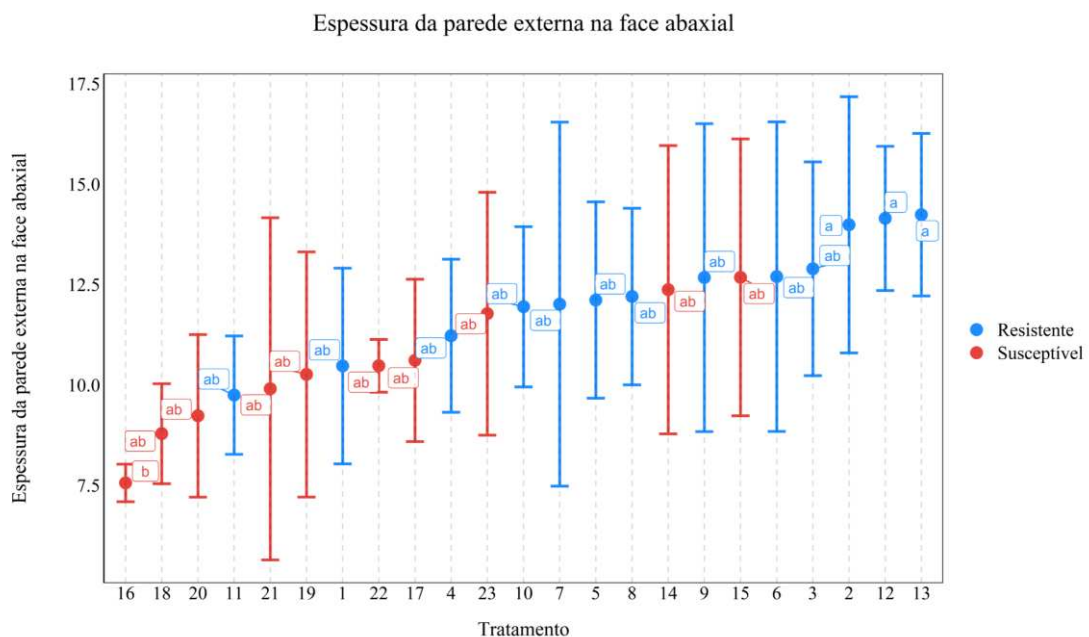


Figura 40. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa na face abaxial (PEAB). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

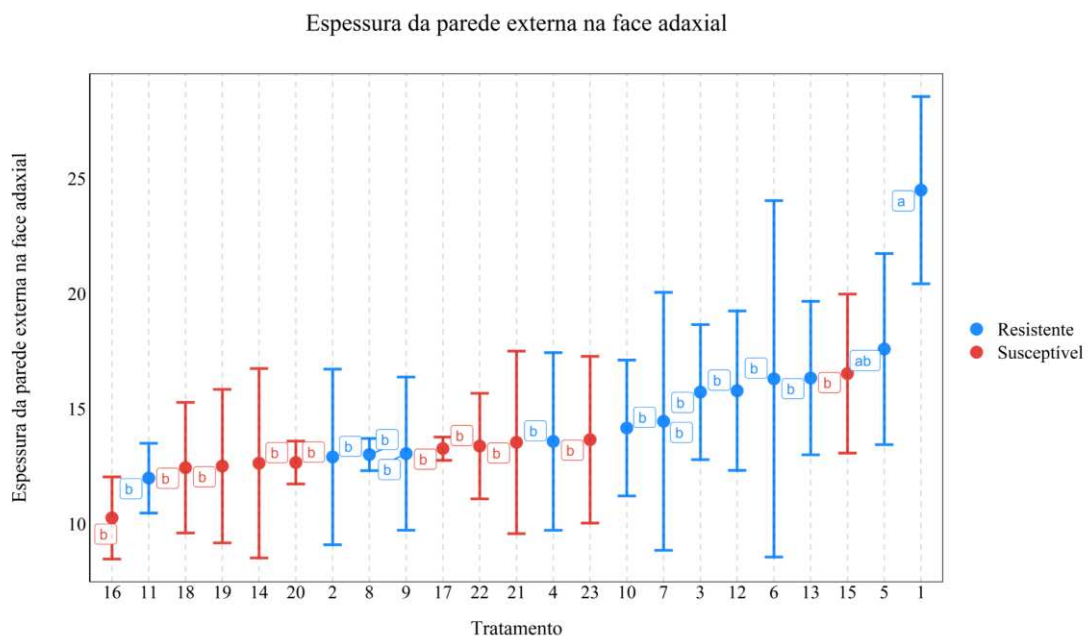


Figura 41. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa na face adaxial (PEAD). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

Figura 43. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura das duas camadas mais espessadas em conjunto (EC). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

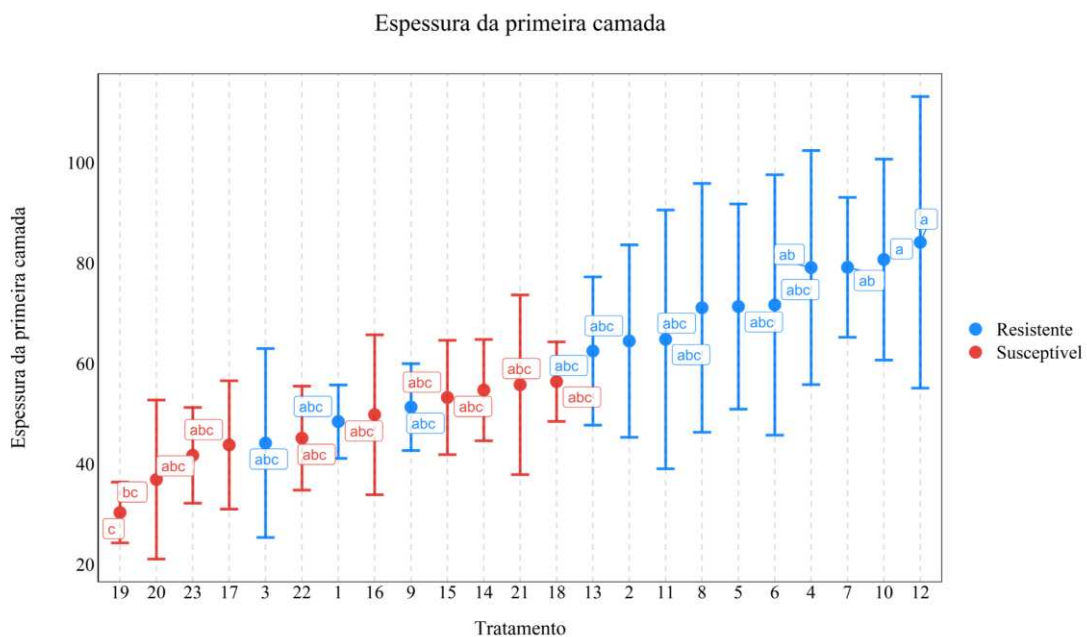


Figura 44. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da primeira camada (E1). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

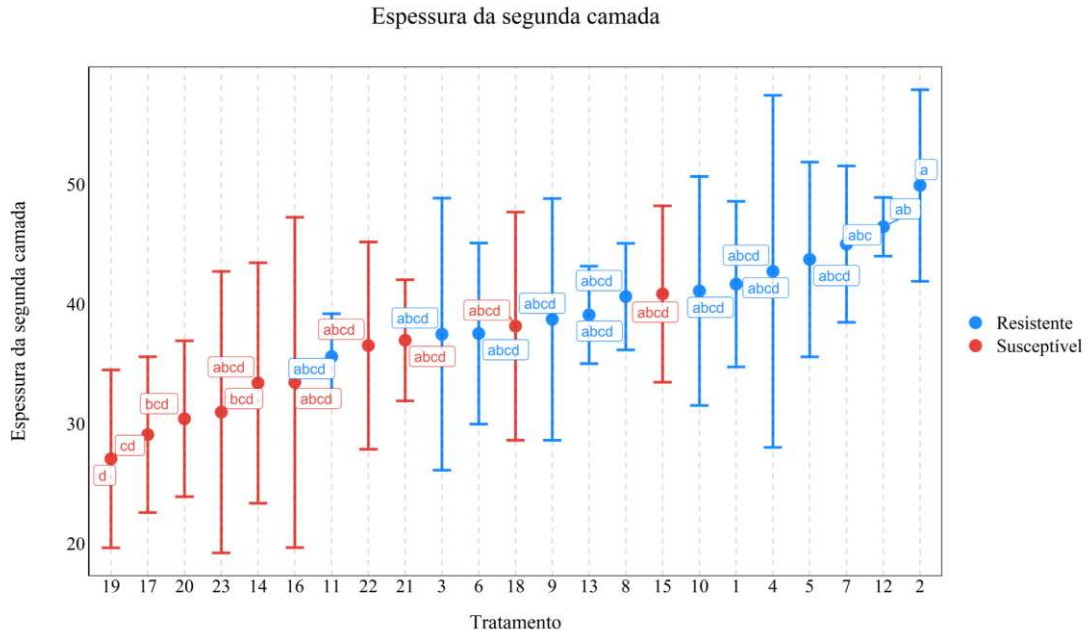


Figura 45. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da segunda camada (E2). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

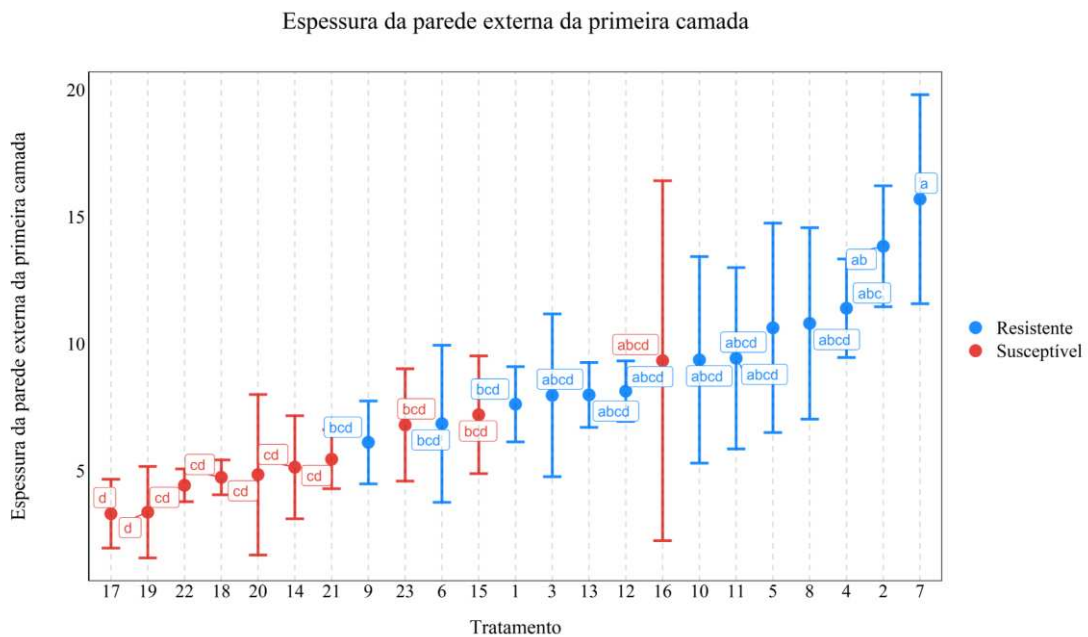


Figura 46. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa da primeira camada (PE1). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

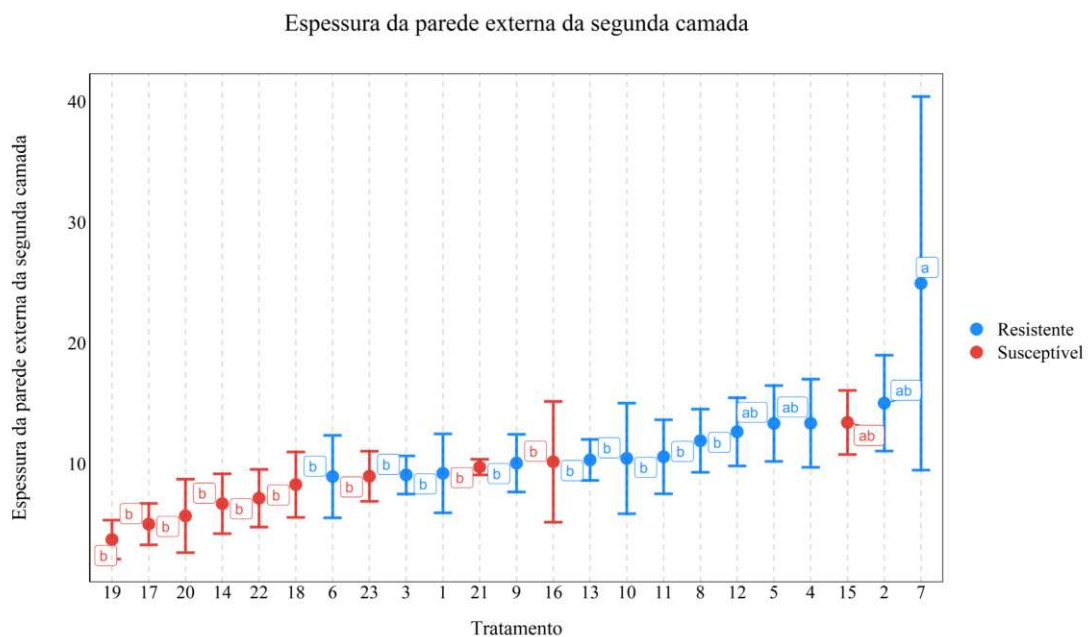


Figura 47. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura da parede externa da segunda camada (PE2). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248;17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

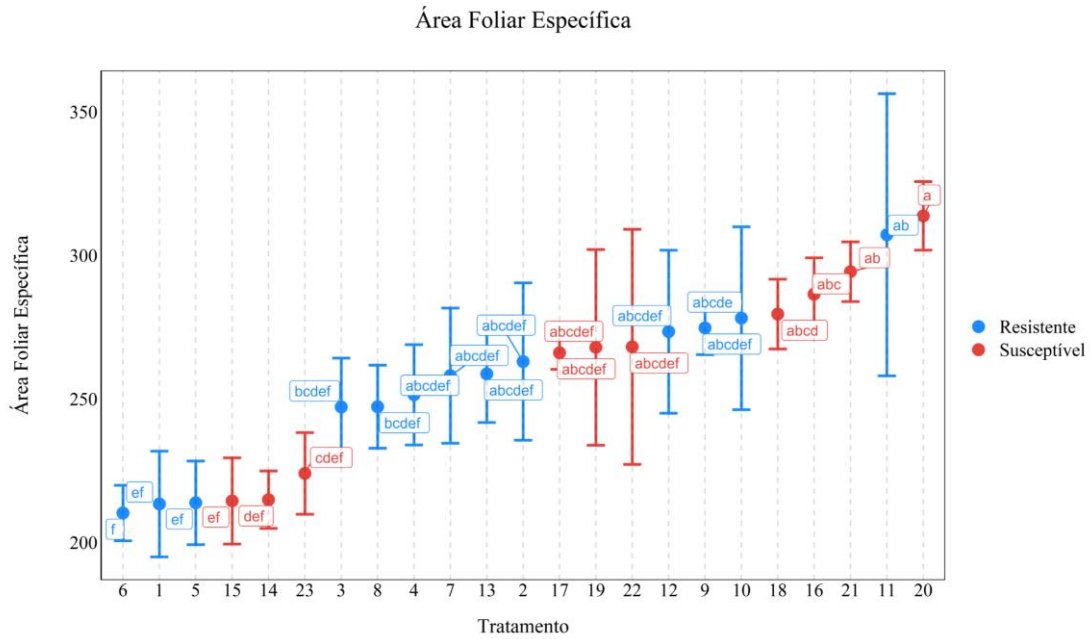


Figura 48. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere área foliar específica (AFE). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

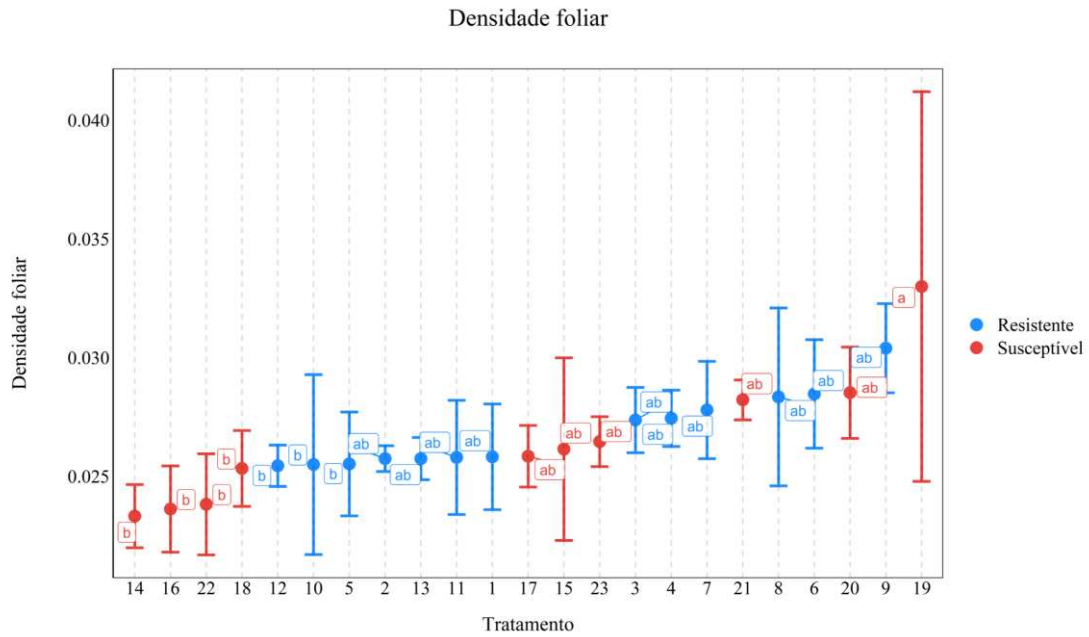


Figura 49. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere densidade foliar (DEN). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.

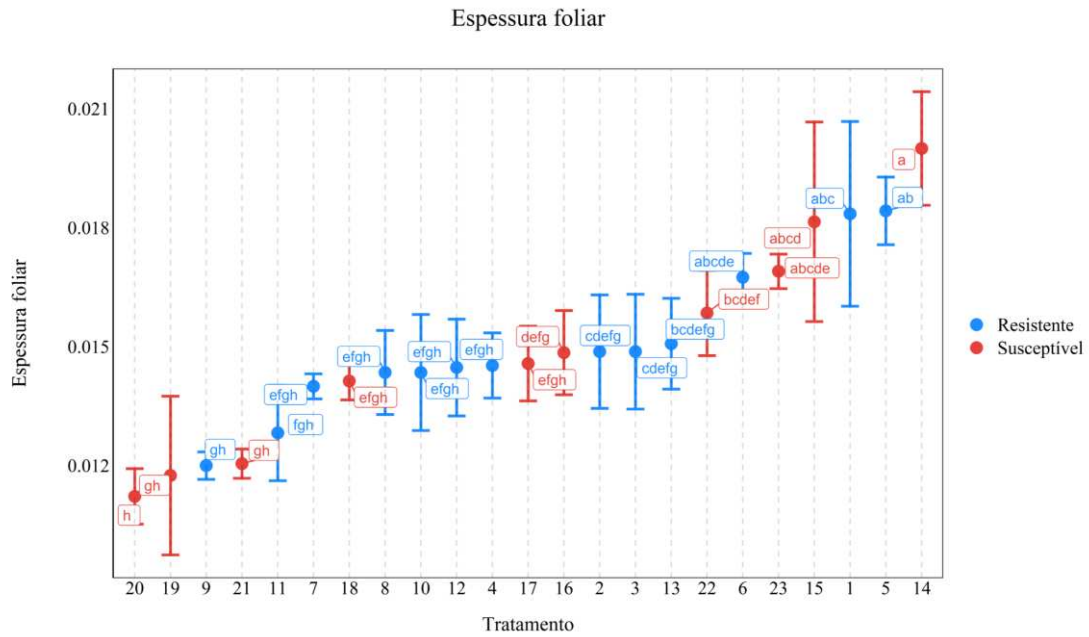


Figura 50. Desvio padrão e resultado do teste de Tukey para os 23 genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis à *Diatraea saccharalis*, considerando o caractere espessura foliar (ESP). Médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente. Genótipos resistentes representados pela cor azul e genótipos suscetíveis pela cor vermelha. 1 = IM 76-228; 2= RB047055; 3= RB047201; 4= RB047212; 5= RB047226; 6= RB127384; 7= RB147588; 8= RB147589; 9= RB147590; 10= RB147591; 11= RB147592; 12= RB147587; 13= RB867515; 14= RB047016; 15= RB057231; 16= RB047248; 17= RB057249; 18= RB147529; 19= RB147530; 20= RB147531; 21= RB147532; 22= RB147533 e 23= RB147534.