

Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida

Juliana Espada Lichston⁽¹⁾ e Silvana Aparecida Pires de Godoy⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Dep. de Botânica, Ecologia e Zoologia, Av. Salgado Filho, s/nº, CEP 59072-970 Natal, RN. E-mail: lichston@cb.ufrn.br ⁽²⁾Universidade de São Paulo, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Av. Arlindo Bettio, nº 1.000, CEP 03828-000 São Paulo, SP. E-mail: saggodoy@usp.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de fungicida na morfologia e no teor da cera epicuticular, em duas cultivares de café, uma resistente à ferrugem (Obatã) e outra suscetível (Catuaí Vermelho). As plantas foram agrupadas por tratamento – com fungicida e sem fungicida –, coletando-se folhas do quinto e sexto nós, uma para estudo da morfologia e duas para avaliação do teor de cera. A aplicação do fungicida diminuiu o teor de cera e alterou sua morfologia, provocando rupturas e desaparecimento dos cristalóides, o que pode tornar a planta mais suscetível a doenças, pragas e estresse hídrico. As cultivares diferem quanto ao teor e morfologia da cera, o que pode estar relacionado com a resistência à ferrugem na cultivar Obatã.

Termos para indexação: *Coffea arabica*, cera foliar, ferrugem, oxiclureto de cobre.

Morphology and epicuticular wax content of coffee leaves after fungicide application

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of fungicide application on the content and morphology of the epicuticular wax of two *Coffea arabica* L. cultivars, one rust resistant (Obatã) and other susceptible (Catuaí Vermelho). Plants were grouped according to treatment (with and without fungicide application), sampling the leaves from 5th and 6th nodes, one for morphology study and two others for wax content. The fungicide application decreased wax content and modified its morphology, causing ruptures and missing crystalloids that can make the plant more susceptible to diseases, herbivory and desiccation. Cultivars differ in their content and morphology wax, which can be related to the rust resistance observed in the Obatã cultivar.

Index terms: *Coffea arabica*, leaf wax, rust, copper oxichloride.

Introdução

A ferrugem, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., é a doença mais prejudicial ao cafeeiro, disseminada por todas as regiões de cultivo de café, causando danos às lavouras. A infecção ocorre pela entrada do fungo nas folhas através dos estômatos (Raterink et al., 1991), e o combate é feito com um fungicida cúprico, aplicado via foliar (Thomaziello et al., 2000).

A superfície das folhas, com exceção das aberturas dos estômatos, é recoberta pela cutícula, uma camada lipídica, extracelular, cujo principal componente estrutural é a cutina, um polímero insolúvel de ácidos graxos. A cutícula apresenta várias funções nas plantas, tais como: controlar a perda d'água (Shepherd et al., 1995),

participar das trocas gasosas (Kerstiens, 1996), reduzir a lixiviação foliar, prevenindo a perda de nutrientes e íons (Scherbatskoy & Tyree, 1990), constituir um anteparo à radiação (Barnes & Cardoso-Vilhena, 1996) e proteger a planta contra: o resfriamento (Vigh et al., 1981), as lesões causadas pelo vento e abrasão física (Eglinton & Hamilton, 1967), os diversos microrganismos patogênicos (Mendgen, 1996) e insetos herbívoros.

Sobre a cutícula, deposita-se a cera foliar epicuticular, constituindo a interface natural entre as folhas e o meio, tendo como função básica conferir ao vegetal maior resistência à perda d'água e a doenças. Quimicamente, a cera foliar epicuticular é uma mistura complexa de constituintes químicos, com predominância de alcanos, ésteres, cetonas e álcoois (Shepherd et al., 1995).

A morfologia da cera foliar é distinguida (Barthlott et al., 1998) entre uma fina camada ou filme, e estruturas de cera superpostas depositadas como camadas contínuas, crostas ou cristalóides solitários. Tais estruturas microscópicas mantêm a superfície foliar seca, dificultando a germinação de esporos (Martin, 1964), entre outras funções que conferem proteção ao vegetal.

Alterações morfológicas na cera epicuticular ocorrem em condições de poluição, perceptíveis como erosões, modificações dos cristais de cera (Esch & Mengel, 1998) e diminuição do teor, agravadas pelo efeito cumulativo dos poluentes depositados na superfície foliar (Alves et al., 1990). Isto comprova que algumas substâncias em contato com a superfície foliar danificam a morfologia e o teor da cera, podendo ser prejudiciais à planta, em razão da diminuição da capacidade de retenção de água pela cera, provocando estresse hídrico nas plantas analisadas.

As propriedades da superfície foliar podem afetar a absorção de herbicidas e explicar diferentes respostas de espécies de plantas a diversos produtos (Chun et al., 1997).

O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito da aplicação, via foliar, de um fungicida, cujo princípio ativo é o oxiclureto de cobre, em duas cultivares de *Coffea arabica* L., uma resistente à ferrugem, Obatã, e outra sensível, Catuaí Vermelho, no teor e na morfologia da cera foliar epicuticular, além de averiguar a existência de relação entre as características da cera foliar epicuticular e as diferenças apresentadas pelas cultivares, quanto à resistência à ferrugem.

Material e Métodos

Foram analisadas duas cultivares de cafeeiro, Catuaí Vermelho (suscetível à ferrugem) e Obatã (resistente à ferrugem), fornecidas pelo Instituto Agrônômico, Campinas, SP. As plantas foram divididas em quatro lotes: 90 mudas da cv. Obatã sem aplicação do fungicida (controle); 90 mudas da cv. Obatã tratadas com o fungicida; 45 mudas da cv. Catuaí Vermelho sem aplicação do fungicida (controle) e 45 mudas da cv. Catuaí Vermelho tratadas com o fungicida.

As mudas das duas cultivares foram marcadas com barbante, do quarto ao sexto nó, de modo a escolher as folhas do quinto e sexto nó para coleta e análise.

Aos dez meses, metade dos espécimes foi pulverizada com um fungicida que combate a ferrugem, cujo princípio ativo é o oxiclureto de cobre. Foram realizadas

quatro aplicações do fungicida, de março a julho de 2000, a cada 45 dias, conforme recomendado aos plantadores de café (Thomaziello et al., 2000), avaliando-se o efeito cumulativo do produto na superfície foliar.

Foram feitas quatro coletas de folhas de seis mudas de cada lote. Em cada muda, foram coletados dois pares de folhas, correspondentes ao quinto e sexto nós, separadas segundo a análise: duas folhas para a quantificação do teor de cera e uma folha para o estudo da morfologia em microscopia eletrônica de varredura. As coletas foram realizadas dez dias depois de cada aplicação do produto, período considerado suficiente para a folha absorver substâncias (Thomaziello et al., 2000).

As folhas destinadas à quantificação do teor de cera foram prensadas para manter as superfícies planas e foram escaneadas para a obtenção da área foliar.

A cera foliar epicuticular foi extraída das faces foliares separadamente. Cada face foliar foi lavada com clorofórmio, três vezes, alternando-se a face a cada lavagem. O rendimento da cera foliar epicuticular foi calculado pela relação entre o peso da cera e a área foliar ($\mu\text{g cm}^{-2}$), em cada face. A área foliar foi obtida, escaneando-se as folhas (Scanner ScanJet 3200C) e submetendo-se as figuras, devidamente corrigidas com escala, ao aplicativo SIARCS 3.0, da Embrapa.

Nas análises da morfologia em microscopia eletrônica de varredura foram utilizados fragmentos de folhas com cerca de 6 mm^2 . Os procedimentos de preparação do material seguiram as recomendações de Bondada et al. (1996), com modificações, tendo sido suprimidas as fases de infiltração em etanol 30% e desidratação, pois, o material já estava desidratado para a fase de secagem em ponto crítico.

A documentação das amostras foi feita por eletromicrografia em máquina MAMIYA com filme T-MAX 120, evidenciando a morfologia da cera epicuticular em ambas as faces foliares. O microscópio eletrônico de varredura utilizado é da marca Jeol-JSM, modelo 5200, com tensão aceleradora de 20 kV. A morfologia da cera foliar epicuticular foi analisada, baseando-se na classificação de Barthlott et al. (1998).

As medidas dos teores de cera foliar epicuticular foram submetidas à análise estatística (programa SYSTAT). Foram utilizados os testes não paramétricos de Wilcoxon, na análise de amostras pareadas, fixando-se a cultivar e o tratamento, variando-se a face foliar amostrada; teste de Mann-Whitney, utilizado na análise de amostras inde-

pendentes, fixando-se a face foliar e a cultivar, variando o tratamento e, ainda, fixando-se a face foliar e o tratamento, variando a cultivar; e teste de Kruskal-Wallis, utilizado na análise de amostras independentes, comparando-se as amostras estudadas simultaneamente em todas as quatro coletas analisadas, fixando-se a face foliar, o tratamento e a cultivar.

Resultados e Discussão

O teor de cera foliar epicuticular foi maior no grupo controle em ambas as faces foliares, exceto para a primeira coleta, na qual não foi verificada alteração no teor de cera na face adaxial (Tabela 1).

Ao analisar as folhas de cada coleta separadamente, verificou-se que a quantidade de cera epicuticular diminuiu significativamente com a aplicação do fungicida, nas duas faces foliares (Tabela 1).

Shepherd et al. (1995) alertam quanto a alterações no teor de cera durante o desenvolvimento do órgão. Espera-se uma diminuição gradativa da cera, à medida que a folha se expande, desde que fatores como estresse hídrico e calor excessivo não interfiram. Nessa análise, o teor de cera foliar epicuticular, quando alterado, aumentou, evidenciando características intrínsecas de *C. arabica*, uma espécie adaptada a condições de intensa radiação solar.

As cultivares diferem quanto ao teor de cera segundo a face foliar. A cv. Obatã apresenta maior teor de cera na face foliar abaxial, e a Catuaí Vermelho, na face adaxial. Pode-se estabelecer uma relação entre o maior teor de cera nessa face e a resistência da cultivar, pois a face inferior da folha é o sítio de infestação do fungo. Raterink et al. (1991) e Monquero (2003) relatam que

tanto a resistência a agentes patogênicos quanto a tolerância de espécies a determinados defensivos químicos estão diretamente relacionadas ao teor e à composição química da cera epicuticular.

Os espécimes que receberam as pulverizações apresentaram alteração no teor de cera nas duas cultivares; a alteração se expressou como uma diminuição gradativa e em ambas as faces foliares, em decorrência do efeito cumulativo do produto nas folhas (Tabela 1). Considerando a capacidade das folhas em absorver substâncias nelas pulverizadas (Thomaziello et al., 2000), o fungicida pode estar afetando a síntese da cera foliar epicuticular, pois as plantas-controle mostram aumento gradativo do teor de cera.

A acentuada diminuição do teor de cera foliar pode ser prejudicial à planta, em virtude de suas propriedades exclusivas, descritas por diversos pesquisadores, destacando-se Balsdon et al. (1995). Por constituírem interface natural entre as plantas e o meio ambiente, evidencia-se que a aplicação de substâncias via foliar pode alterar estas propriedades e acarretar prejuízos à produção, uma vez que a planta torna-se mais susceptível a doenças e ao estresse hídrico, podendo afetar diretamente o produto a ser comercializado, seja grãos, raízes, folhas, flores ou, até mesmo, compostos fitoterápicos.

A integridade da cera foliar epicuticular pode afetar a permeabilidade da cutícula e prejudicar a produção e a comercialização dos vegetais, pois a deficiência hídrica é uma das maiores causas de redução da produtividade agrícola (Pimentel & Hébert, 1999).

Na comparação da morfologia da cera epicuticular das folhas de 'Catuaí Vermelho', grupo controle, observada nas duas primeiras coletas, verifica-se que ambas as faces foliares têm predomínio da cera do tipo filme (Figura 1 A e C) e ocorrência de cristalóides isolados,

Tabela 1. Valores medianos e médios do teor de cera foliar epicuticular ($\mu\text{g cm}^{-2}$) das faces foliares adaxial (AD) e abaxial (AB) de café 'Catuaí Vermelho' e 'Obatã' dos tratamentos controle e com o fungicida Cuprozeb.

Coleta	Controle						Cuprozeb					
	Mediana		Média		Dp		Mediana		Média		Dp	
	AD	AB	AD	AB	AD	AB	AD	AB	AD	AB	AD	AB
Catuaí Vermelho												
1	66,74aA	64,98cA	68,02	66,71	1,38*	1,02*	64,22aA	56,09dA	67,99	56,31	2,57*	1,07*
2	65,44aA	63,87cA	67,39	65,11	2,01*	1,93*	57,05bB	45,27dB	55,19	47,53	1,12*	1,48*
3	79,58aB	71,28cB	78,01	70,05	1,80**	2,24*	39,14bC	32,60dC	37,91	31,74	1,03**	1,12*
4	77,37aB	69,83cB	78,14	68,95	1,57**	1,13*	27,13bD	24,71dD	25,19	21,85	1,09**	1,57*
Obatã												
1	66,10aA	65,37cA	67,29	66,52	1,93*	1,17*	56,81bA	61,47dA	55,72	61,63	0,92*	1,06*
2	65,97aA	70,29cB	66,31	69,71	0,95*	0,70*	49,24bB	55,07dB	48,13	53,26	1,12*	0,38*
3	78,27aB	84,15cC	77,01	82,39	1,07*	0,27*	31,60bC	43,83dC	29,11	40,13	0,29*	1,47*
4	83,69aC	92,01cD	82,47	90,62	0,85*	1,18*	22,18bD	30,65dD	19,50	32,92	1,77	0,69

⁽¹⁾As medianas seguidas de letras diferentes, minúsculas na mesma linha (teste de Mann-Whitney) e maiúsculas na mesma coluna (teste de Kruskal-Wallis), apresentam diferenças estatísticas; Dp: desvio-padrão. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

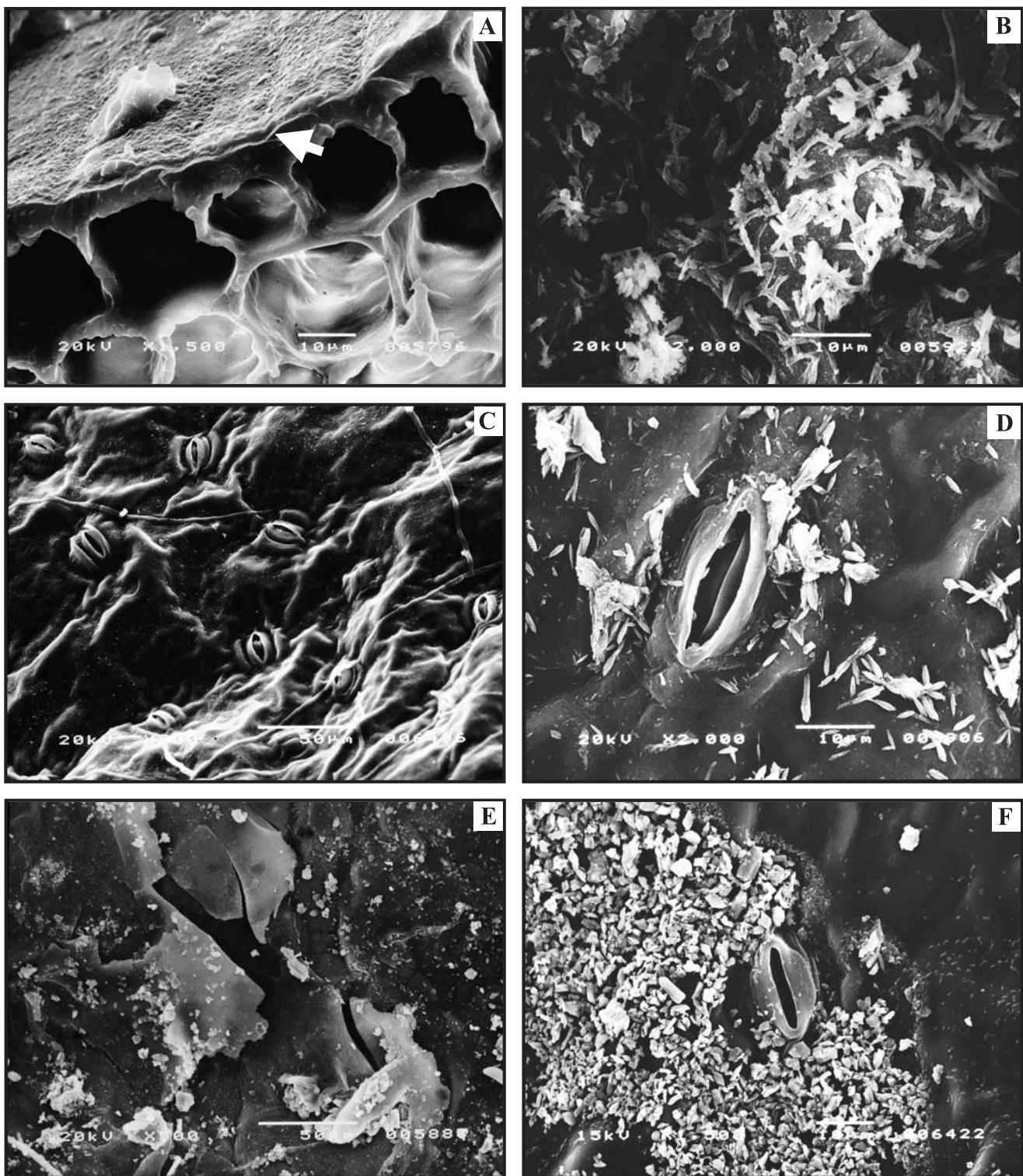


Figura 1. Eletromicrografia de varredura da cera foliar epicuticular de *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Vermelho; as letras A, C e E correspondem à face adaxial e as letras B, D e F, à face abaxial. A–D: grupo controle; E–F: grupo tratado com o fungicida. A e C: cera tipo filme. A: folha (corte transversal), seta indica cera epicuticular. B e D: cera tipo cristalina. E: rupturas de cera. F: estômato em fenda, destaque para os grânulos do fungicida.

que são mais freqüentes na face foliar abaxial e arranjados em rosetas (Figura 1 B e D). As folhas analisadas na terceira e quarta coletas apresentam apenas cera epicuticular do tipo filme.

Ao se analisar a morfologia da cera foliar epicuticular de 'Catuaí Vermelho', do grupo tratado com o fungicida, observou-se apenas cera do tipo filme; cristalóides não foram mais observados. Verificou-se, ainda, aumento no número de grânulos – resíduos do fungicida que se acumularam da primeira para a última coleta –, evidenciando o efeito cumulativo do fungicida na folha (Figura 1 F). Este efeito pode ser associado às deformidades da cera na superfície foliar, evidentes pelos muitos estômatos com células-guarda em fenda, parcial ou completamente obstruídas, e pela área de cera descontínua, com placas que denotam ter havido rupturas (Figura 1 E e F). Alves et al. (1990) associam as deformidades estomáticas com a penetração de constituintes químicos pela abertura estomática ou por entre as células-guarda e as células companheiras, alterando a permeabilidade dessas células, causando um colapso no movimento dos solutos e, conseqüentemente, resultando em alterações nas formas e movimentos estomáticos.

Na comparação da morfologia da cera epicuticular das folhas da cv. Obatã (resistente à ferrugem), grupo controle, amostradas nas duas primeiras coletas, verificou-se que ambas as faces foliares têm áreas com cera do tipo filme e alguns cristalóides arranjados em rosetas (Figura 2 A e C); aparentemente a face foliar adaxial apresenta maior concentração de cristalóides que a face oposta, o que pode conferir à folha maior proteção contra os raios ultravioletas do sol (Wollenweber & Dietz, 1981). Nas outras duas coletas, terceira e quarta, há apenas cera do tipo filme (Figura 2 E).

A análise da morfologia da cera epicuticular das folhas da cv. Obatã tratadas com o fungicida mostrou que, nas quatro coletas, em ambas as faces foliares, ocorreu apenas cera do tipo filme, sem cristalóides (Figura 2 B e D).

Semelhantemente ao observado na cv. Catuaí Vermelho, há maior densidade de grânulos na superfície foliar, em razão do efeito cumulativo do fungicida (Figura 2 F), e também lesões (Figura 2 B); os estômatos anômalos são encontrados freqüentemente na terceira e quarta coletas.

Os grupos controle de 'Catuaí Vermelho' e 'Obatã', nas duas primeiras coletas, apresentaram cera do tipo filme com cristalóides isolados arranjados em roseta; os

cristalóides não foram mais verificados nas duas últimas coletas. Essa observação corrobora o fato relatado por Shepherd et al. (1995), de que há variação na composição e morfologia da cera epicuticular durante o desenvolvimento da folha.

Levando em consideração que a morfologia da cera epicuticular está relacionada à sua constituição química, como afirmam Bondada et al. (1996) e Barthlott et al. (1998), pode-se atribuir tal diferença a alterações na composição química da cera foliar epicuticular, com o desenvolvimento foliar.

Nas folhas tratadas com o fungicida, nota-se apenas cera do tipo filme. Pode-se inferir que, além de diminuir o teor de cera, a absorção do fungicida altera a composição, refletida na morfologia da cera. Affonso (2002) verificou que *C. arabica* apresenta cera foliar epicuticular com alto teor de alcanos que, segundo Juniper & Jeffree (1983), com os álcoois primários, determina superfícies cristalinas e maior poder impermeabilizante. A alteração da morfologia indica que pode estar havendo menor produção de alcanos, o que acarreta menor poder impermeabilizante da cera e ainda facilita a germinação de esporos, pois a ornamentação da cera epicuticular mantém a superfície foliar seca (Martin, 1964), conferindo proteção ao vegetal. Observaram-se ainda áreas lesadas, com a cera rompida, levantando placas, o que pode tornar a planta suscetível a doenças, facilitando a entrada de microrganismos na folha.

Características semelhantes foram observadas e relatadas por Huttunen & Laine (1983), citado por Kinnunen et al. (1999), quando compararam a morfologia da cera foliar epicuticular de plantas em locais poluídos e livres de poluição. Esses autores notaram, nas plantas de locais poluídos, que a cera estava com erosões e havia mudado do tipo cristalino para o amorfo. Esch & Mengel (1998) também observaram degradação da cera foliar epicuticular, com fusão e aparecimento de lesões, após chuva ácida sobre a superfície foliar.

Nota-se predomínio de cera do tipo filme na cv. Obatã, resistente à ferrugem, e maior freqüência de cristalóides na cera da cv. Catuaí Vermelho, suscetível à ferrugem. As ceras amorfas apresentam uma expressiva quantidade de terpenóides, que atuam como inibidores de fungos (Salatino et al., 1985), o que pode estar relacionado à resistência da cultivar ao fungo causador da ferrugem.

Allen et al. (1991) afirmam que a superfície foliar influencia a adesão e a direção de crescimento de vários

fungos, por apresentar características que podem ser reconhecidas por esporos e tubos germinativos.

O fator mais importante no contato do uredosporo do fungo da ferrugem, *Hemileia vastatrix*, com a superfície

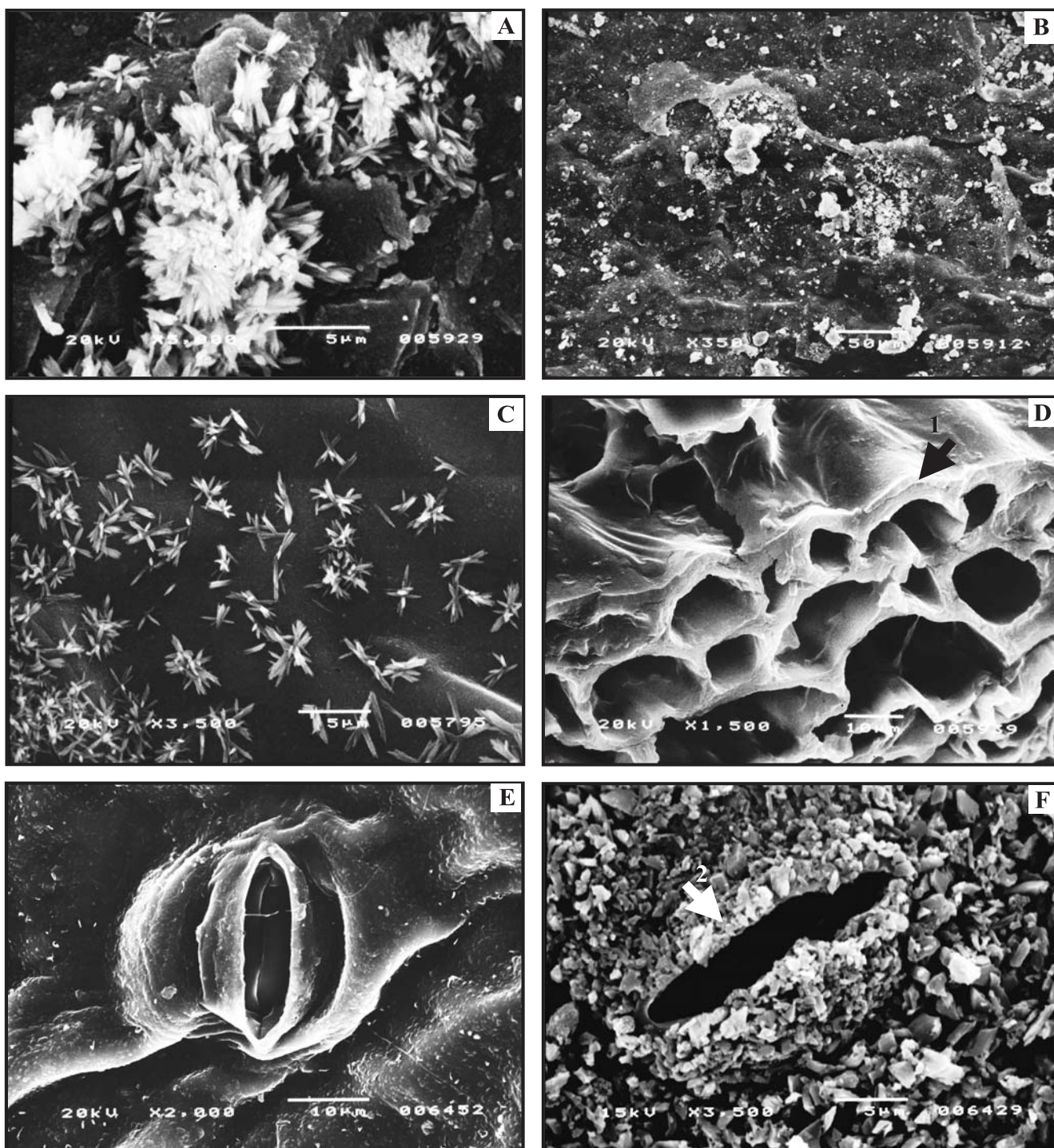


Figura 2. Eletromicrografia de varredura da cera foliar epicuticular de *Coffea arabica* L., cultivar Obatã; as letras A, C e E correspondem ao grupo controle e as letras B, D e F, ao grupo tratado com o fungicida. A e B: face adaxial. C–F: face abaxial. A e C: cristalóides de cera arranjados em rosetas. B: rupturas de cera. D e E: cera tipo filme. D: folha (corte transversal), seta indica cera. F: superfície foliar totalmente coberta por grânulos de fungicida, seta indica estômato.

foliar, parece ser a interação hidrofóbica entre a cutícula da planta e o esporo do fungo (Clement et al., 1994). Durante o estágio inicial de infecção, a superfície de contato entre uredosporos e cutícula é mediada por estruturas semelhantes a pequenos espinhos que emergem da superfície do esporo. Assim, o uredosporo maximiza as chances de contato com a superfície foliar (Mendgen, 1996), vencendo a barreira física das protuberâncias da cutícula e cristais de cera. Logo, a integridade da superfície foliar é fundamental para a proteção das plantas ao ataque de fungos.

Conclusões

1. O teor de cera nas plantas não submetidas ao fungicida à base de oxiclureto de cobre aumenta com o tempo, em ambas as faces foliares.

2. As cultivares de café Obatã e Catuaí Vermelho diferem no teor de cera quanto à face foliar, independentemente da aplicação do fungicida.

3. A aplicação do fungicida diminui o teor e altera a morfologia da cera epicuticular nas duas cultivares.

Agradecimentos

À Fapesp, pela bolsa concedida à primeira autora; ao Dep. de Biologia, Setor de Botânica da FFCLRP/USP, onde o trabalho foi desenvolvido; ao laboratório de Microscopia Eletrônica do Dep. de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Fac. de Medicina da USP, pelo uso do microscópio eletrônico de varredura; ao Instituto Agrônomo, Campinas, SP, pelo fornecimento das mudas de café.

Referências

AFFONSO, P. **Comportamento forrageiro de *Atta sexdens* L. em relação a folhas de *Coffea* L. e alguns de seus constituintes químicos**. 2002. 131p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

ALLEN, E.A.; HOCH, H.C.; STAVELY, J.R.; STEADMAN, J.R. Uniformity among races of *Uromyces appendiculatus* in response to topographic signaling for appressorium formation. **Phytopathology**, v.81, p.883-887, 1991.

ALVES, P.L. da C.A.; OLIVA, M.A.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R. Efeitos da chuva ácida simulada e de um solo de Cubatão (SP) sobre parâmetros relacionados com a fotossíntese e a transpiração de plantas de soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, p.7-14, 1990.

BALSDON, J.A.; ESPELIE, K.E.; BRAMAN, S.K. Epicuticular lipids from azalea (*Rhododendron* spp.) and their potential role in host plant acceptance by azalea lace bug *Stephanitis pyrioides* (Heteroptera: Tingidae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.23, p.477-485, 1995.

BARNES, J.D.; CARDOSO-VILHENA, J. Interactions between electromagnetic radiation and cuticle. In: KERSTIENS, G. (Ed.). **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Lancaster: Bios Scientific Publishers, 1996. p.157-174.

BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C.; CUTLER, D.; DITSCH, F.; MEUSEL, I.; THEISEN, I.; WILHELMI, H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.126, p.227-236, 1998.

BONDADA, B.R.; OOSTERHUIS, D.M.; MURPHY, J.B.; KIM, K.S. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract and boll. **Environmental and Experimental Botany**, v.36, p.61-69, 1996.

CHUN, J.C.; MA, S.Y.; KIM, S.E.; LEE, H.J. Physiological responses of *Rehmannia glutinosa* to paraquat and its tolerance mechanisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.59, p.51-63, 1997.

CLEMENT, J.A.; PORTER, R.; BUTT, T.M.; BECKETT, A. The role of hydrophobicity in attachment of urediniospores and sporelings of *Uromyces viciae-fabae*. **Mycological Research**, v.98, p.1217-1228, 1994.

EGLINTON, G.; HAMILTON, R.J. Leaf epicuticular waxes. **Science**, v.156, p.1322-1335, 1967.

ESCH, A.; MENGEL, K. Combined effects of acid mist and frost drought on the water status of young spruce trees (*Picea abies*). **Environmental and Experimental Botany**, v.39, p.57-65, 1998.

JUNIPER, B.E.; JEFFREE, C.E. **Plant surfaces**. London: E. Arnold, 1983. 93p.

KERSTIENS, G. Diffusion of water vapour and gases across cuticles and through stomatal pores presumed closed. In: KERSTIENS, G. (Ed.). **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Lancaster: Bios Scientific Publishers, 1996. p.121-134.

KINNUNEN, H.; MANNINEN, S.; PEURA, R.; LAAKSO, K.; HUTTUNEN, S. SEM-EDS image analysis as a tool for scoring the epicuticular wax tube distribution on *Pinus sylvestris* needles – evaluation using a UV-B field experiment. **Environmental and Experimental Botany**, v.42, p.173-180, 1999.

MARTIN, J.T. Role of cuticle in the defense against plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v.2, p.81-100, 1964.

MENDGEN, K. Fungal attachment and penetration. In: KERSTIENS, G. (Ed.). **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Lancaster: Bios Scientific Publishers, 1996. p.175-188.

MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. 2003. 99p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PIMENTEL, C.; HÉBERT, G. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.7-11, 1999.

- RATERINK, S.B.; MORAES, W.B.C.; RICO, M.Q. **La roya del café, conocimiento y control**. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1991. 281p.
- SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F.; AMARAL, M. do C.E. do; ROQUE, N.F.; VILEGAS, W. Ceras epicuticulares de las superficies adaxial y abaxial de hojas de dicotiledoneas del cerrado brasileiro. **Medio Ambiente**, v.7, p.15-20, 1985.
- SCHERBATSKOY, T.; TYREE, M.T. Kinetics of exchange of ions between artificial precipitation and maple leaf surfaces. **New Phytologist**, v.114, p.703-712, 1990.
- SHEPHERD, T.; ROBERTSON, G.W.; GRIFFITHS, D.W.; BIRCH, A.N.E.; DUNCAN, G. Effects of environment on the composition of epicuticular wax from kale and swede. **Phytochemistry**, v.40, p.407-417, 1995.
- THOMAZIELLO, R.A.; FAZUOLI, L.C.; PEZZOPANE, J.R.M.; FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C. **Café arábica**: cultura e técnicas de produção. Campinas: IAC, 2000. 82p. (Boletim técnico, 187).
- VIGH, L.; HORVÁTH, I.; FARKAS, T.; MUSTARDY, L.A.; FALUDI-DANIEL, A. Stomatal behaviour and cuticular properties of maize leaves of different chilling-resistance during cold treatment. **Physiologia Plantarum**, v.24, p.287-290, 1981.
- WOLLENWEBER, E.; DIETZ, V.H. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. **Phytochemistry**, v.20, p.869-932, 1981.

Recebido em 26 de janeiro de 2005 e aprovado em 14 de fevereiro de 2006