



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL)**



POLYANA GEYSA DA SILVA CAVALCANTE

TESE DE DOUTORADO

**EFEITO DO ESTIMULANTE VEGETAL TRIACONTANOL SOBRE
CRESCIMENTO INICIAL E MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE
TOLERÂNCIA A SECA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Rio Largo, AL

2018

POLYANA GEYSA DA SILVA CAVALCANTE

**EFEITO DO ESTIMULANTE VEGETAL TRIACONTANOL SOBRE
CRESCIMENTO INICIAL E MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE
TOLERÂNCIA A SECA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à coordenação
do Programa de Pós-Graduação
em Agronomia: Produção
Vegetal, CECA/UFAL, como
requisito para obtenção do grau
de Doutora em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Laurício Endres

Co-orientadora: Prof. ^a Dra Claudiana Moura dos Santos

Rio Largo, AL

2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

C376e Cavalcante, Polyana Geysa da Silva

Efeito do estimulante vegetal triacontanol sobre crescimento inicial e mecanismos fisiológicos de tolerância a seca de cana-de-açúcar. Rio Largo-AL – 2018.

70 f.; il; 33 cm

Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.

Orientador(a): Prf^a. Dr. Laurício Endres
Co-Orientador(es): Prof^a. Dr^a. Claudiana Moura dos Santos.

1. Cana-de-açúcar 2. Estresse hídrico. 3. Biostimulante. 4. Clorofilas. I. Título.

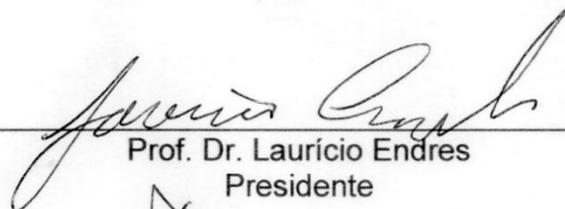
CDU: 633.61

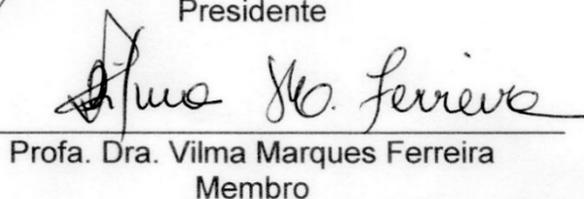
TERMO DE APROVAÇÃO

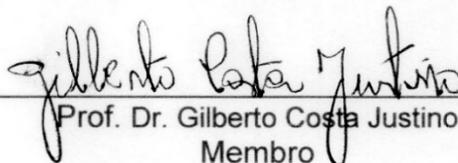
POLYANA GEYSA DA SILVA CAVALCANTE
(Matrícula 14140066)

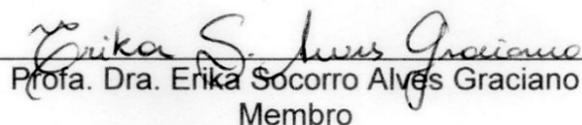
"Efeito do estimulante vegetal triacontanol sobre crescimento inicial e mecanismos fisiológicos de tolerância à seca de cana-de-açúcar"

Tese apresentada e avaliada pela banca examinadora em vinte e cinco de outubro de 2018, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.


Prof. Dr. Laurício Endres
Presidente


Profa. Dra. Vilma Marques Ferreira
Membro


Prof. Dr. Gilberto Costa Justino
Membro


Profa. Dra. Erika Socorro Alves Graciano
Membro

Rio Largo - AL
Outubro-2018

Aos meus pais, Cicero José e Maria Betânia, pelo amor, carinho, dedicação, principalmente por todo o incentivo e pelo exemplo de coragem e honestidade...

Ao meu amado esposo Tassyano, por todo amor e companheirismo...

Ao meu amado filho, Tassy, amor eterno ...

Aos meus irmãos, Paula Esmith e Paulo Victor, pelo carinho e amizade...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- ❖ *A DEUS, no qual acredito e confio, agradeço por todos os dias da minha vida...*
 - ❖ *À Universidade Federal de Alagoas e Centro de Ciências Agrárias, pela estrutura...*
 - ❖ *Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, por todo apoio e por ter concedido o tempo necessário para findar este trabalho.*
 - ❖ *À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.*
 - ❖ *Ao meu orientador, Prof. Dr. Lauricio Endres, pela confiança, ensinamento, e pelo grande exemplo profissional...*
 - ❖ *A minha coorientadora, Prof.^a Dra Claudiana Moura dos Santos, pelo ensinamento, dedicação, atenção sem medida e carinho...*
 - ❖ *A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, pelo ensinamento e dedicação...*
 - ❖ *A todos os meus colegas de curso, em especial Maria Inajal, Tatiana, Taciana, Sebastião, Jailma, Letice, pelo companheirismo e amizade...*
 - ❖ *Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal (CECA) pelo bom convívio, amizade e por toda colaboração, em especial aos companheiros, Jhulyanne, Isabela, Sebastião, Jailma, Jônatas e Paulo.*
 - ❖ *Aos bolsistas pibic, André, Rafael, Adnilton, Elenilton, Jhulyanne, Alex, Dorathe, Débora, Joyce, Rui pelo desempenho e dedicação, pois sem o incrível companheirismo esse trabalho não teria sido realizado...*
 - ❖ *Aos participantes da banca Prof.^a Dr.^a Vilma Marques, Prof. Dr. Lauricio Endres, Prof. Dr Gilberto Costa Justino e Prof.^a Dr.^a Erika Socorro Alves Graciano pelas sugestões e correções.*
 - ❖ *A todos, amigos e colegas que de algum modo colaboraram para a realização deste trabalho...*
- Agradeço de maneira especial,*
- ❖ *As minhas avós, Maria Geni e Tercilia (in memoriam), por todo carinho e exemplo de mãe e família. Amor eterno*
 - ❖ *Aos meus pais, Maria Betânia e Cicero, pessoas fundamentais para minha existência... Amo muito vocês...*
 - ❖ *Ao meu amado esposo, Tassyano Amorim, por todo amor e companheirismo....Te amo!!!*

- ❖ *Ao meu filho, Tassy, amor da minha vida, ser mais abençoado, o qual Deus me concedeu o privilégio de cuidar e amar... Amor eterno ...*
- ❖ *Aos meus irmãos, Paula Esmith e Paulo Victor por todos os momentos de alegria, companheirismo.... Amo muito vocês...*
- ❖ *Ao meu sobrinho, Gabriel, que tanto amo... Amor eterno ...*
- ❖ *Aos meus primos, Roberta Patrícia e Adnelson, por toda amizade e carinho, meus irmãos de coração...*
- ❖ *Aos meus afilhados Lucas e Eduarda, por todo carinho... muito orgulho...*
- ❖ *Aos meus queridos tio(as), Jaime, Roberto, Katia, Telma, Rita, Lia, Zeza, Carlo, Quiteria e José, por todo amor e carinho...*
- ❖ *Aos meus cunhado(as), Gledson, Rafaela e Adriana, por toda amizade...*
- ❖ *A toda minha família, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, pelo carinho, incentivo e amor...*

A todos os meus sinceros agradecimentos...

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo.”
Nelson Mandela

RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é considerada uma das principais culturas agrícolas do Brasil, de grande importância econômica, responsável pela produção de açúcar e etanol. O estresse hídrico é um dos fatores mais limitantes para produção desta cultura. Uma alternativa para diminuir os efeitos negativos do estresse pode ser obtida com a aplicação de bioestimulantes vegetais. A aplicação foliar do bioestimulante triacontanol (TRIA) tem sido usada em diferentes culturas para reduzir os efeitos adversos de estresses, contudo seu efeito sobre a cultura da cana-de-açúcar ainda não foi estudado. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do TRIA sobre o crescimento e tolerância à seca da cana-de-açúcar. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação com a cultivar RB92579. O delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 4x2: quatro doses de TRIA (0, 10, 40 e 160 μM) e dois regimes hídricos (irrigado e estresse hídrico), com cinco repetições. As aplicações do TRIA na parte aérea da planta ocorreram aos 30 e 60 dias após o plantio (DAP). As plantas foram mantidas irrigadas até os 120 DAP, quando a irrigação foi suspensa por seis dias, seguido de três dias de reidratação. As avaliações morfológicas ocorreram durante o experimento com plantas irrigadas e as fisiológicas e coleta de material vegetal para análises bioquímicas foram realizadas ao longo do estresse hídrico e reidratação. As plantas irrigadas que receberam a dose de 160 μM de TRIA exibiram melhor crescimento, com o aumento na altura, número de folhas, área foliar massa seca do colmo, além de promover o aumento no teor de clorofilas. Com a imposição da deficiência hídrica todas as plantas independentes das doses de TRIA apresentaram diminuição do potencial hídrico da folha, teor relativo de água, trocas gasosas, além disso, as plantas estressadas apresentaram redução na eficiência fotoquímica do fotossistema II e teor de clorofilas. As plantas estressadas que receberam maior dose de TRIA apresentaram alta concentração de açúcares solúveis, e pouca variação nas concentrações de prolina e aminoácidos. Plantas sob estresse hídrico exibiram menores atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase e menor peroxidação de lipídeos quando aplicado 160 μM de TRIA, enquanto as atividades das enzimas catalase e ascorbato peroxidase não foram alteradas pelo regulador aplicado. A aplicação de TRIA, na dose 160 μM contribuiu com o crescimento de cana-de-açúcar sob irrigação, apesar disso, o conjunto de dados mostram que doses até 160 μM TRIA são insuficientes para reduzir significativamente os sintomas do estresse hídrico em cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar. Estresse hídrico. Bioestimulante. Trocas gasosas. Clorofilas. Enzimas antioxidantes. Osmoproteção. Fotossistema II.

ABSTRACT

The sugarcane (*Saccharum* spp.) is one of the main crop of Brazil, of great economic importance that contributes to the sugar and ethanol production. Drought is one of the most limiting factors in the sugarcane productivity and an alternative to reduce the negative effects of stress is the application of vegetable biostimulants.. Foliar application of the biostimulant triacontanol (TRIA) has been used in different crops to reduce adverse effects, but it is still an effect on sugarcane have not been studied. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of TRIA on the growth and drought tolerant of sugarcane. The experiment was carried out in a greenhouse with cultivar RB92579. The experimental design was a randomized complete block design with a 4x2 factorial design: four levels of TRIA (0, 10, 40 and 160 μM) and two water regimes (irrigated and drought stress) with five replications. The applications of TRIA in the aerial part of the plant occurred 30 and 60 days after planting (DAP). These plants were physiologically and biochemically evaluated at two intervals: six days (drought stress) and two days (rehydration) after the onset of treatment at 120 days after planting. The irrigated plants that received 160 μM TRIA level was more effective ingrowth, with increase in the height, number of leaves, leaf area, stalk dry mass, besides promoting the increase in the chlorophyll content. With drought stress imposed all plants independent of the various levels of TRIA, the reduction of leaf water potential, the relative water content, the gas exchanges, furthermore, the same plants presented a reduction in effective quantum of photosystem II and chlorophyll content. Under drought stress the plants that received the highest TRIA level showed showed higher increases in total soluble carbohydrate content, and little variation of proline and amino acids concentrations. Plants under drought stress presented lower activity antioxidant enzymes of superoxide dismutase and lipid peroxidation when TRIA was applied 160 μM , while the activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes were not altered by TRIA applications. The 160 μM TRIA level application contributed to growth of irrigated sugarcane, but even with positive results, the data sets suggest that concentrations up to 160 μM TRIA level are insufficient to significantly reduce the symptoms of drought stress in sugarcane.

Key words: Sugarcane. Drought stress. Biostimulant. Gas exchange. Chlorophylls. Antioxidant enzymes. Osmoprotection. Photosystem II.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade gravimétrica do solo (D), umidade volumétrica do solo (E) e potencial hídrico do solo, Ψ_w (F) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta \rightarrow indica o estresse máximo.31

Figura 2 - Altura da planta (A), número de perfilhos (B), número de folhas (E), diâmetro do colmo (D) e área foliar (E) de plantas de cana-de-açúcar irrigadas, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de diferentes doses de TRIA (0, 10, 40 e 160 μM). Cada ponto indica o valor médio de cinco repetições e barras indicam erro padrão.....35

Figura 3 - Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do colmo (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.36

Figura 4 - Potencial hídrico foliar amanhecer, Ψ_w (A e B), potencial hídrico foliar meio-dia, Ψ_w (C e D) e teor relativo de água na folha (TRA) (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.37

Figura 5 - Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D); taxa fotossintética (E e F) e eficiência instantânea do uso da água (A/E) (G e H) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.39

Figura 6 - Relação F_v/F_m ao meio dia (A e B), eficiência quântica efetiva do fotossistema II, Φ_{PSII} (C e D) e clorofila total (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.40

CAPÍTULO II

Figura 1- Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade gravimétrica do solo (D), umidade volumétrica do solo (E) e potencial hídrico do solo, Ψ_w (F) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta \rightarrow indica o estresse máximo52

Figura 2- Concentrações de Aminoácidos (A e B), prolina (C e D) e açúcares solúveis totais (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e

reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.58

Figura 3- Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A e B), catalase (CAT) (C e D) e ascorbato peroxidase (APX) (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação . Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....60

Figura 4- Peroxidação de lipídeos (MDA) (A e B) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....61

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1- Análise de variância da Altura de plantas (AP), número de perfilhos (NP) comprimento da folha (CF), largura da folha (LF), número de folhas (NF), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), massa seca de folhas (MSF), massa seca do colmo (MSC) massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses(0, 10, 40 e 160 μM).34

Tabela 2- Análise de variância dos atributos fisiológicos: fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), Eficiência instatânea do uso da água (A/E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), eficiência quântica efetiva do fotossistema II ($\Phi\text{P}_{\text{SII}}$), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em cana-de-açúcar pré-tratadas com triacontonol e submetida ao estresse hídrico, com dois períodos de avaliação, seis dias de deficiência hídrica e posterior reidratação por três dias.38

CAPÍTULO II

Tabela 1- Análise de variância dos atributos bioquímicos: aminoácidos (AA), prolina (Pro), açúcares solúveis totais (CARB), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) ascorbato peroxidase (APX) e malondialdeído (MDA) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) e submetida ao estresse hídrico, com dois períodos de avaliação, seis dias de deficiência hídrica e posterior reidratação por três dias.....57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Cana-de-açúcar	16
2.2 Estresse hídrico na planta.....	17
2.3 Reguladores Vegetais.....	19
2.4 Triacontanol	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO I.....	28
RESUMO.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.1. Material vegetal e condições experimentais.....	30
2.2. Análises morfológicas	32
2.3. Análises fisiológicas.....	32
2.4. Análise estatística.....	33
3. RESULTADOS	34
4. DISCUSSÃO	41
5. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPÍTULO II.....	48
RESUMO.....	48
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1. Material vegetal e condições experimentais.....	51
2.2. Osmorreguladores	53
2.2.1. Determinação de Aminoácidos.....	53
2.2.2. Determinação de Prolina.....	53
2.2.3. Determinação de Carboidratos.....	54
2.3. Atividade de enzimas antioxidantes.....	54
2.3.1. Superóxido dismutase (SOD)	54
2.3.2. Catalase (CAT)	54
2.3.3. Ascorbato peroxidase (APX)	55
2.3.4. Malanodialdeído (MDA)	55

2.4. Análise estatística.....	56
3. RESULTADOS	57
4. DISCUSSÃO	62
5. CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) uma das principais culturas do mundo. Essa cultura é fonte de açúcar e biocombustível renovável, o álcool, cultivada em mais de 100 países, mas com sua maior produção concentrada no Brasil, Índia, China, Tailândia, Paquistão, (FAO, 2008; WORDATLAS, 2016). No Brasil, o Estado de São Paulo apresenta-se como o maior produtor de área plantada, seguido por Goiás, Minas Gerais e Paraná. No Nordeste o estado de Alagoas possui 301,7 mil ha seguido de Pernambuco com 259,5 mil ha (CONAB, 2017).

Atualmente, as áreas de cultivo de cana-de-açúcar têm se expandido para regiões semi-áridas. Estas regiões caracterizam-se por apresentarem baixas precipitações e com isso a baixa quantidade de água provida pelos poucos eventos chuvosos não é suficiente para suprir a necessidade requerida pela cultura (PRABU et al., 2010; WILLADINO, et al., 2011). Áreas agricultáveis onde ocorre a falta ou limitação hídrica às culturas é um condicionante que reduz o desenvolvimento e potencial de produção das plantas (HOLANDA et al. 2015).

A deficiência hídrica é um dos mais importantes fatores estressantes que limita a produtividade de culturas como a cana-de-açúcar. Sob condições edafoclimáticas desfavoráveis os produtores sucroalcooleiros visam a plantação de genótipos de cana-de-açúcar mais tolerantes à seca e vem buscando soluções práticas que diminuam os efeitos do estresse hídrico.

Atualmente, isso pode ser alcançado com a aplicação de biorreguladores ou bioestimulantes. Essas substâncias podem ser aplicadas diretamente nas plantas, promovendo o melhor desenvolvimento, através de alterações nos processos fisiológicos e estruturais, principalmente possibilitando incrementos no teor de sacarose, precocidade de maturação e aumento na produção e uma melhor qualidade final da cultura, o que pode ser muito importante em condições ambientais de seca (MARTINS; CASTRO, 1999; CAPUTO et al., 2007; SILVA et al., 2010; COSTA et al., 2011).

O triacontanol (TRIA) é um bioestimulante que vem sendo usado em várias culturas no mundo todo, caracterizado como um hormônio vegetal regulador de crescimento, conhecido por aumentar o crescimento das plantas por meio da modulação de diferentes processos metabólicos, incluindo a fotossíntese, fotorrespiração, a síntese de clorofila, a divisão celular, a absorção de água e nutrientes minerais, e as atividades de

algumas enzimas-chave (CHEN et al., 2002; KRISHNAN; KUMARI, 2008; PERVEEN et al., 2010, 2011, 2012; NAEEM et al., 2009, 2010, 2012; SINGH et al., 2012).

A aplicação foliar do triacontanol em vários estágios de crescimento têm aumentado a produtividade final de várias culturas como milho, tomate e gengibre (SIVAKUMAR et al., 2002; KHAN et al., 2006; SINGH et al., 2011). Além disso, estudos do papel do TRIA sob estresses abióticos vem crescendo devido ao sucesso desse bioestimulante em aumentar o crescimento das plantas. O interesse dos pesquisadores é utilizar esse hormônio para reduzir os efeitos adversos do estresse nas plantas, como vem sendo investigado em diferentes culturas (MUTHUCHELIAN et al., 2001, 2003; BOROWSKI; BLAMOWSKI, 2009; KILIÇ et al., 2010).

Entretanto, essas informações em cana-de-açúcar não estão disponíveis, em especial sob condições de deficiência hídrica. O que torna esse estudo de grande relevância, na busca da compreensão das interações entre bioestimulante e cana-de-açúcar sob condições de seca. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do TRIA sobre o crescimento e tolerância à seca da cana-de-açúcar. Visando constituir para práticas agronômicas que possam minimizar o efeito da seca sobre a produtividade da cultura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma planta monocotiledônea pertencente à família Gramineae (Poaceae), ciclo semiperene com metabolismo fotossintético C4, com origem na Ásia Meridional, na região da Nova Guiné e Indonésia e de clima tropical e subtropical (DANIELS; ROACH, 1987). As primeiras mudas de cana-de-açúcar foram introduzidas no Brasil em 1532 por Martim Afonso de Souza. Atualmente, os cultivares que compõem os canaviais brasileiros são formados por híbridos (*Saccharum spp.*) provenientes dos cruzamentos das espécies *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum* (CESNIK; MIOCQUE, 2004; CONAB, 2015).

A cana-de-açúcar tem a capacidade de formar perfilhamentos que ocorrem nos primeiros meses após o plantio. Essa característica é muito importante para a produtividade da cultura e é influenciada por fatores como temperatura, radiação solar, disponibilidade de água e a de nitrogênio (SUGUITANI; MATSUOKA, 2001; CONAB, 2015). O seu desenvolvimento ocorre em dois ciclos: o primeiro ciclo é chamado de cana-planta com período de 12 ou 18 meses conforme a variedade. Após o primeiro corte inicia o ciclo da cana soca com período de 12 meses. A cultura permite vários cortes, sem a necessidade de replantio, mas em determinado momento é necessária a renovação do canavial porque as plantas não respondem mais satisfatoriamente às medidas de manejo (CONAB, 2015).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido de Índia e China e ainda domina todos os estágios de tecnologia de produção de etanol e açúcar. De acordo com o primeiro levantamento da CONAB, o país deverá produzir 647,6 milhões de toneladas de cana-de-açúcar em uma área estimada de 8,84 milhões de hectares na safra de 2017/2018, mas mesmo assim esses valores apresentam queda na produção de 2,3 %, em relação à safra anterior (CONAB, 2017). Segundo Conab 2017 o setor canavieiro Norte/Nordeste está passando por um bom momento de recuperação e deve ter um acréscimo na produtividade de 1,6%, além de um aumento na área plantada (2,7%), o que reflete num aumento de produção de 4,3% em relação à safra 2016/17.

O etanol é o carro chefe nessa ascensão, uma fonte de biocombustível renovável, e o Brasil é o segundo maior produtor mundial, ficando atrás apenas dos EUA na produção de álcool, mas nossa produtividade é maior quando comparada com de outros

países, pois nossa matéria prima, a cana-de-açúcar, possui alta eficiência energética e o país domina todo o processo de produção de álcool. Essas vantagens proporcionam os menores custos de produção de álcool no mundo. Além do que o Brasil continua incentivando pesquisa para desenvolvimento de novas tecnologias, a principal vem ocorrendo com a produção de etanol de segunda geração, etanol celulósico, além do etanol de terceira e quarta geração (CARVALHO et al., 2013).

2.2 Estresse hídrico na planta

O estresse hídrico está entre os mais sérios fatores que limitam o crescimento e o desenvolvimento das plantas, e em casos extremos, pode levar a planta à morte (QUIANG et al., 2000). As respostas das plantas ao estresse hídrico são complexas e envolvem mudanças adaptativas e/ou efeitos deletérios, como alterações fisiológicas e bioquímicas (LIU; BAIRD, 2003; JALEEL et al., 2009).

A fotossíntese é um dos processos metabólicos mais afetados pela restrição hídrica, sendo o fechamento dos estômatos o processo diretamente envolvido (ZIVCAK et al., 2013). Sob condições de déficit hídrico as plantas fecham os estômatos, esse processo é uma das primeiras estratégias para evitar a desidratação, minimizando a perda de água na folha (GUAN et al., 2015; MACHADO et al., 2009; GONÇALVES et al., 2010). Contudo, o fechamento estomático compromete a assimilação fotossintética do carbono, afetando o crescimento e a produtividade das culturas (SILVA et al., 2015). Medeiros et al., (2013) observaram redução de 99,6 da taxa fotossintética em cultivar sensível de cana-de-açúcar, cuja a redução afetou a biomassa das plantas estressadas.

Os pigmentos fotossintetizantes, as clorofilas *a* e *b*, e os carotenoides, responsáveis pela captação da energia luminosa também sofrem grande redução em plantas sob estresse hídrico. Em plantas submetidas à déficit hídrico normalmente ocorre decréscimo na concentração de clorofila que pode ser atribuído ao estresse oxidativo resultante da fotooxidação e degradação dos pigmentos e ao aumento da atividade da clorofilase, enzima que degrada a clorofila (CHEN et al., 2016). Segundo Chen et al., (2016) os pigmentos fotossintéticos são reduzidos, sendo esse efeito agravado pela prolongada duração de exposição ao estresse. Ferri et al. (2002) observaram que quando as plantas estão sujeitas a estresses, ocorre aumento nas concentrações de carotenóides e redução na produção de clorofila, o que causa menor absorção de energia pelas folhas e,

portanto, um aumento na refletância visível e assim a planta aparecerá amarela ou clorótica, devido ao aumento das concentrações de carotenóides.

O déficit hídrico promove muitas respostas nas plantas inclusive muitas alterações bioquímicas em nível celular. O acúmulo de solutos osmoticamente ativos em resposta às condições estressantes de baixa disponibilidade de água é um importante mecanismo desenvolvido pelas plantas (Taiz; Zeiger, 2013). Aminoácidos e carboidratos solúveis são considerados os principais solutos osmoticamente ativos, para o ajustamento osmótico (SANEOKA et al., 1995). Entre os aminoácidos que se acumulam em resposta ao estresse hídrico, encontra-se frequentemente a prolina. Este aminoácido está presente em altas concentrações nas células de plantas halófitas, e seu acúmulo em muitas plantas não halófitas certamente está envolvida com situações de estresse (QUEIROZ et al., 2008). Em decorrência da sua importância no ajuste osmótico, a prolina é a molécula mais estudada em plantas submetidas a estresses abióticos (BEZERRA et al., 2001). Os níveis de prolina nas plantas antes de sofrerem um estresse são baixos, podendo variar de 1 a 5 $\mu\text{mol. g}^{-1}$ de matéria seca em muitas espécies como, arroz, sorgo, milho, trigo e cevada. Em condições de estresse este valor pode ser de 20 a 100 vezes maior (NOGUEIRA et al., 2001).

Da mesma maneira, as enzimas antioxidantes estão envolvidas no processo de proteção das plantas contra os efeitos deletérios do estresse hídrico. A superóxido dismutase (SOD) é a primeira linha de defesa contra EROs nas células vegetais onde realizam a dismutação de O_2^{\bullet} para O_2 e H_2O_2 (MITLLER, 2002; SHARMA et al., 2012). A catalase (CAT) é uma enzima que catalisa a dismutação do H_2O_2 em água e oxigênio, encontrada nos glioxissomas e, principalmente, nos peroxissomas (MITTLER, 2002). As APXs são consideradas as enzimas mais importantes na eliminação de H_2O_2 , usando o ascorbato como doador de elétrons. A ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima localizada em todos os compartimentos celulares de produção de EROs (CARVALHO, 2008; SHARMA et al., 2012). O aumento na atividade dessas enzimas em plantas submetidas a condições de estresse pode ser fator determinante da capacidade de adaptação dessas plantas, podendo também ser identificada como um marcador bioquímico de estresse (MITLLER, 2002; SHARMA et al., 2012).

Sendo assim, a água é o fator mais importante e mais limitante a produtividade das culturas e a atual preocupação mundial com a escassez dos recursos hídricos e o seu

alto custo em determinadas situações, tem sido motivo pela busca de culturas mais tolerantes a seca e estratégias que diminuam os efeitos do estresse hídrico.

2.3 Reguladores Vegetais

Os hormônios vegetais são substâncias orgânicas responsáveis por alterações nos processos fisiológicos e morfológicos das plantas e também possuem a capacidade de influenciar nas respostas aos fatores ambientais. Atualmente existem grupos de hormônios vegetais, os conhecidos como reguladores, biorreguladores ou bioestimulantes vegetais, que estão sendo muito usados na agricultura e se tornando uma prática viável com o objetivo de aumentar a produtividade das culturas (SILVA, 2010).

Os biorreguladores vegetais são substâncias que agem aumentando o crescimento e desenvolvimento das plantas. A definição e conceito de biorreguladores de plantas ainda está evoluindo, isso devido a diversidade de substâncias que podem ser consideradas biorreguladores e pela crescente descoberta de substâncias que atuam no crescimento vegetal. O mercado global de biorreguladores vem em crescimento, apresentando cerca de 12% de aumento ao ano e poderá chegar a mais de 2.200 milhões de dolares em 2018 (CALVO et al., 2014). Em 2012, a Europa foi o maior mercado para os biorreguladores, com mais de 6,2 milhões de hectares de plantas tratados (EBIC, 2013).

A utilização de reguladores vegetais na cultura de cana-de-açúcar não é recente e sua aplicação pode levar a um aumento quantitativo e qualitativo na produção (SILVA, 2010). Segundo o autor, a aplicação de biorreguladores estimula a divisão celular que proporciona maior crescimento radicular e aumenta a absorção de água e nutrientes pela cultura. Isso favorece o aproveitamento de fertilizantes e também aumenta a tolerância à deficiência hídrica.

Resultados favoráveis com a aplicação do bioestimulante Stimulate® em cana-de-açúcar, sob deficiência hídrica, foram encontrados por Endres et al., (2006), o qual observou um aumento no crescimento da cana-de-açúcar com o uso do bioestimulante, o que proporcionou acúmulo de biomassa, manutenção taxas de fotossíntese e condutância estomática. O Stimulate® é um bioestimulante que contém três reguladores de crescimento em sua composição: 0,009% de cinetina (citocinina), 0,005% de ácido giberélico (giberelina) e 0,005% de ácido indolilbutírico (auxina) (COSTA et al., 2011).

Em razão do crescente interesse no setor de bioestimulantes vegetais e consequentemente pelo surgimento de novas substâncias promissoras, são necessários mais estudos sobre as influências dessas substâncias nas plantas cultivadas.

2.4 Triacontanol

Triacontanol (TRIA) é um hormônio vegetal encontrado naturalmente em ceras epicuticulares. Descoberto em 1977, o TRIA é um álcool primário de cadeia longa ($C_{30}H_{61}OH$), conhecido como potente promotor de crescimento em plantas (RIES et al., 1977 apud RIES, 1991; GATICA et al., 2008; NAEEM et al., 2011, 2012).

O TRIA estimula o crescimento das plantas através de alterações de muitos processos bioquímicos e isso vem aumentando o interesse em conhecer como esse hormônio realmente desempenha ações sobre esses processos na planta (RIES, 1991; CHEN et al., 2002; NAEEM et al., 2012).

O TRIA é um bioestimulante que vem sendo usado em várias culturas no mundo todo, sua ação pode aumentar o crescimento das plantas através da regulação de diferentes processos metabólicos, como a fotossíntese, fotorrespiração, a síntese de clorofila, a divisão celular, a absorção de água e nutrientes minerais, e as atividades de algumas enzimas-chave em condições normais ou sob estresse (CHEN et al., 2002; KRISHNAN; KUMARI 2008, PERVEEN et al., 2010, 2011, 2012; NAEEM et al., 2009, 2010, 2012; SINGH et al., 2012).

Por exemplo, o triacontanol atua sobre processos complexos da fotossíntese através do aumento da reação de Hill, da atividade da Rubisco, e aumento no número de cloroplastos dos fotossistemas (PS) I e II (HOUTZ et al., 1985; MOORTHY; KATHIRESAN, 1993; VERMA et al., 2011; CHEN et al., 2002). Perveen et al. (2013) observaram que a aplicação foliar de TRIA aumentou consideravelmente o conteúdo das clorofilas *a* e *b* em duas cultivares de trigo (MH-97 e S-24). Naeem et al. (2009; 2010; 2011) também verificaram efeito significativo do TRIA em parâmetros fotossintéticos sobre *Lablab purpureus* L., *Senna occidentalis* L., e *Mentha arvensis* L.

A aplicação de TRIA em vários estágios de crescimento tem aumentado a produtividade e rendimento de diversas culturas como milho, tomate e gengibre (SIVAKUMAR et al., 2002; KHAN et al., 2006; SINGH et al., 2011). A aplicação de TRIA aumentou significativamente altura, densidade foliar, número de perfilhos e massa seca da parte aérea e rizoma de plantas de gengibre (SINGH et al., 2011). Verma et al.

(2009) observaram que plantas de amendoim tratadas com TRIA apresentaram maior produção no número de flores e vagens maduras. Além disso, Naeem et al. (2009) também observaram que a pulverização foliar com o bioestimulante aumentou a área foliar, número de nódulos e massa seca da planta de Lablab (*Lablab purpureus* L.). Segundo os autores, o aumento no desenvolvimento das plantas de lablab pode ser devido ao acréscimo na absorção de nutrientes, aumento na fotossíntese e fixação de nitrogênio, a melhoria da translocação de fotoassimilados e outros metabólitos.

Por outro lado, existem alguns trabalhos que demonstram a falta de efeito estimulador de TRIA em diferentes espécies de plantas, tais como alface, trigo, aveia e soja (PERVEEN et al. 2012). Perveen et al. (2010) também não observaram efeito significativo na produção de biomassa de plantas de trigo a partir de sementes pré-tratadas com TRIA.

Ries (1991) estudando os efeitos de TRIA em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) observou a produção de um segundo mensageiro, o 9- β -L (+)-Adenosina. O 9- β -L (+)-Adenosina, batizado como TRIM, é rapidamente produzido depois da aplicação de TRIA e atua de modo semelhante. Segundo o autor mesmo a adenosina produzida a partir de plantas tratadas com TRIA sendo idêntica a adenosina produzida de plantas não tratadas, apenas a adenosina estimulada por TRIA tem efeito sobre o crescimento das plantas. Observou, também, que a forma de adenosina produzida por plantas tratadas com tria, 9- β -L (+)-Adenosina, é um enantiômero da 9- β -D (-)-Adenosina que não estimulou o crescimento das plantas mesmo em concentrações semelhantes.

Mesmo com a grande descoberta de um segundo mensageiro envolvido nos processos bioquímicos ainda é um desafio compreender a forma como ambos, TRIA e 9- β -D (+)-Adenosina, atuam no metabolismo das plantas e como TRIA provoca a produção de adenosina (NAEEM et al., 2012).

Os estudos do papel do TRIA sob estresses abióticos vem crescendo devido ao sucesso desse bioestimulante em aumentar o crescimento das plantas. O interesse dos pesquisadores é utilizar esse hormônio para reduzir os efeitos adversos do estresse nas plantas. Por exemplo, vários estudos vem observando os efeitos positivos da aplicação de TRIA em plantas submetidas a diferentes condições de estresses (MUTHUCHELIAN et al., 2001, 2003; BOROWSKI; BLAMOWSKI, 2009; KILIÇ et al., 2010).

Aziz et al. (2013) estudaram os efeitos da aplicação foliar de triacontanol em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) sob estresse salino e observaram aumento acentuado da parte aérea, massa e comprimentos das raízes, taxa fotossintética,

transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água (WUE) tanto sob condição salina como não-salina. Perveen et al. (2013), também, observaram que a aplicação foliar de TRIA em diferentes estágios de crescimento das plantas de trigo reduziu os efeitos negativos do estresse. Segundo os autores, o maior crescimento das plantas sob estresse pode ser devido principalmente ao aumento da fotossíntese após a aplicação foliar de TRIA.

De fato, o triacontanol aumenta muitos processos morfofisiológicos nas plantas, mas tais respostas estão relacionadas com fatores importantes como idade das plantas, espécies estudada, local de aplicação e concentração do TRIA e, sobretudo, as condições ambientais (PERVEEN et al., 2013; NAEEM et al., 2012).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEZERRA, J. S.; WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Crescimento de calos embriogênicos de milho submetidos ao estresse salino. **Scientia Agricola**, v.58, n.2, p.259-263, 2001.
- BOROWSKI, E.; BLAMOWSKI, Z. K. The effects of triacontanol 'TRIA' and Asahi SL on the development and metabolic activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants treated with chilling. **Horticulturae**, v.21, n.1, p.39-48, 2009.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant Soil**, v.383 p.3-41, 2014.
- CAPUTO, M. M.; SILVA, M. A. D.; BEAUCLAIR, E. G. F. D.; GAVA, G. J. C. D. Acúmulo de sacarose, produtividade e florescimento de cana-de-açúcar sob reguladores vegetais. **Interciencia**, v.32, n.12, p.834-840, 2007.
- CARVALHO M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, v.3, p.156-165, 2008.
- CARVALHO, L. C.; BUENO, R. C. O. F.; CARVALHO, M. C.; FAVORETO, A. L.; GODOY, A. F. Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.9, n.16, p.530-543, 2013.
- CESNIK, R.; MIOCQUE, J. Melhoria da cana-de-açúcar: marco sucro-alcooleiro no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente**, 2004.
- CHEN, D.; WANG, S.; CAO B.; CAO, D.; LENG, G.; LI, H.; YIN, L.; SHAN, L.; DENG, X. Genotypic variation in growth and physiological response to drought stress and re-watering reveals the critical role of recovery in drought adaptation in maize seedlings. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-15, 2016.
- CHEN, X.; YUAN, H.; CHEN, R.; ZHU, L.; DU, B.; WENG, Q.; HE, G. Isolation and characterization of triacontanol-regulated genes in rice (*Oryza sativa* L.): possible role of triacontanol as plant growth stimulator. **Plant Cell Physiology**, v.43, p.869-876, 2002.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-açúcar**. v.4, safra 2017/18, n.1, p.1-57, 2017.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-açúcar**. v.2, safra 2015/16, n.1, p.33. 2015.
- COSTA, N. L.; DAROS, E.; DE MORAES, A. Utilização de bioestimulantes na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **PUBVET**, v.5, n.22, 2011.
- DANIELS, J.; ROACH, B.T. Taxonomy and evolution. In Heinz, D. J. (ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. Elsevier, p.7-84, 1987.

EBIC (European Biostimulants Industry Council) 2013. Economic overview of the biostimulants sector in Europe, 17 April 2013. Disponível em: <http://www.biostimulants.eu/wpcontent/uploads/2013/04/Biostimulant_economics_17_April2013.pdf>. Acesso em: 12 de agosto de 2015.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 28 de maio de 2018.

ENDRES, L.; DE LINS WANDERLEY FILHO, H. C.; CLEMENTE, P. R. A. I.; BEZERRA, B. K. L.; FERREIRA, V. M. Root-promoting substances enhance Sugarcanes drought tolerance. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.52, p.5162-5170, 2016.

GATICA, A. M.; ARRIETA, G.; ESPINOZA, A. M. Direct somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. cvs. caturra and catuaí: effect of triacontanol, light condition, and medium consistency. **Agronomía Costarricense**, v.32, n.1, p.139-147, 2008.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.4, p.378-386, 2010.

GUAN, X. K.; SONG, L.; WANG, T. C.; TURNER, N. C.; LI, F. M. Effect of Drought on the Gas Exchange, Chlorophyll Fluorescence and Yield of Six Different-Era Spring Wheat Cultivars. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.201, p.253-266, 2015.

HOLANDA, L. A.; SANTOS, C. M.; NETO, G. D. S.; DE PÁDUA SOUSA, A.; DE ALMEIDA SILVA, M. Variáveis morfológicas da cana-de-açúcar em função do regime hídrico durante o desenvolvimento inicial. **Irriga**, v.19, n.4, p.573-584, 2015.

HOUTZ, R. L.; RIES, S. K.; TOLBERT, N. E. Effect of triacontanol on *Chlamydomonas* I. Stimulation of growth and photosynthetic CO₂ assimilation. **Plant Physiology**, v.79, p.357-364, 1985.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agricultural Biology**, v.11, n.1, p.100-105, 2009.

KHAN, M. M. A.; MUJIBUR-RAHMAN, M.; NAEEM, M.; MOHAMMAD, F.; SIDDIQUI, M. H.; KHAN, M. N. Triacontanol-induced changes in the growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v.5, p.1492-1499, 2006.

KILIÇ, N. K.; DUYGU, E.; DÖNMEZ, G. Triacontanol hormone stimulates population, growth and Brilliant Blue R dye removal by common duckweed from culture media. **Journal of Hazardous Materials**, v.182, p.525-530, 2010.

KRISHNAN, R. R.; KUMARI, B. D. R. Effect of n-triacontanol on the growth of salt stressed soyabean plants. **Journal of Bioscience**, v.19, p.53-56, 2008.

- LIU, X.; BAIRD, W. V. Differential expression of genes regulated in response to drought or salinity stress in sunflower. **Crop Science**, v.43, p.678-687, 2003.
- MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. de A. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1575-1582, 2009.
- MARTINS, M. B. G.; CASTRO, P. R. C. Efeitos de giberelina e ethephon na anatomia de plantas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.10, p.1855-1863, 1999.
- MEDEIROS, D. B.; SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; TEIXEIRA, M. M.; BUCKERIDGE, M. S. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v.25, n.3, p.213-222, 2013.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.
- MOORTHY, P.; KATHIRESAN, K. Physiological responses of a mangrove seedling to triacontanol. **Biologia Plantarum**, v.35, p.577-581, 1993.
- MUTHUCHELIAN, K.; BERTAMINI, M.; NEDUNCHEZHIAN, N. Triacontanol can protect *Erythrina variegata* from cadmium toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v.158, p.1487-1490, 2001.
- MUTHUCHELIAN, K.; VELAYUTHAM, M.; NEDUNCHEZHIAN, N. Ameliorating effect of triacontanol on acidic mist-treated *Erythrina variegata* seedlings: Changes in growth and photosynthetic activities. **Plant Science**, v.165, p.1253-1259, 2003.
- NAEEM, M.; KHAN, M. M. A.; SIDDIQUI, M. H. Triacontanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L.). **Scientia Horticulturae**, v.121, p.389-396, 2009.
- NAEEM, M.; IDREES, M.; AFTAB, T.; KHAN, M. M. A. Changes in photosynthesis, enzyme activities and production of anthraquinone and sennoside content of coffee senna (*Senna occidentalis* L.) by triacontanol. **International Journal Plant Developmental Biology**, v.4, p.53-59, 2010.
- NAEEM, M.; KHAN, M. M. A.; IDREES, M.; AFTAB, T. Triacontanol-mediated regulation of growth and other physiological attributes, active constituents and yield of *Mentha arvensis* L. **Plant Growth Regulation**, v.65, p.195-206, 2011.
- NAEEM, M.; KHAN, M. M. A. Triacontanol: a potent plant growth regulator in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, v.7, n.2, p.129-142, 2012.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; NETO, E. B. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras

submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.75-87, 2001.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Influence of foliar-applied triacontanol on growth, gas exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence at different growth stages in wheat under saline conditions. **Photosynthetica**, v.51, n.4, p.541-551, 2013.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Is pre-sowing seed treatment with triacontanol effective in improving some physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress? **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v.85, p.41-48, 2012.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Modulation in activities of antioxidant enzymes in salt stressed and non-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants raised from seed treated with triacontanol. **Pakistan Journal Botany**, v.43, p.2463-2468, 2011.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Regulation in gas exchange and quantum yield of photosystem II (PSII) in salts tressed and non-stressed wheat plants raised from seed treated with triacontanol. **Pakistan Journal Botany**, v.42, p.3073-3081, 2010.

PRABU, G.; KAWAR, P. G.; PAGARIYA, M. C.; PRASAD, D. T. Identification of water deficit stress upregulated genes in sugarcane. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.29, p.291-304, 2011.

QUEIROZ, R. J. B.; SANTOS, D. M. M.; CARLIN, S. D.; MARIN, A.; BANZATTO, D. A.; CAZETTA, J. O. Osmoprotetores em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica no solo. **Científica**, v.36, n.2, p.107-115, 2008.

QUIANG, L.; ZHAO, N.; YAMAGUCH-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulatory role of DREB transcription factors in plant drought, salt and cold tolerance. **Chinese Science Bulletin**, v.45, n.11, p.970-975, 2000.

RIES, S. Triacontanol and its second messenger 9- β -L(+)-adenosine as plant growth substances. **Plant Physiol.** v.95, p.986-989, 1991.

SANEOKA, H.; NAGASAKA, C.; HAHN, D. T.; YANG, W. J.; PREMACHANDRA, G. S.; JOLY, R. J.; RHODES, D. Salt tolerance of glycinebetaine-deficient and-containing maize lines. **Plant Physiology**, v.107, p.631-638, 1995.

SILVA, M. A. Biorreguladores: nova tecnologia para maior produtividade e longevidade do canavial. **Pesquisa & Tecnologia**, v.7, n.2, 2010.

SILVA, M. A.; CATO, S. C.; COSTA, A. G. F. Produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos. **Ciência Rural**, v.40, n.4, p.774-780, 2010.

SILVA, K. I.; SALES, C. R. G.; MARCHIORIA, P. E. H.; SILVEIRA, N. M.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Short-term physiological changes in roots and leaves of sugarcane varieties exposed to H₂O₂ in root medium. **Journal of Plant Physiology**, v.177, p. 93-99, 2015.

SINGH, M.; KHAN, M. M. A.; NAEEM, M. Augmentation of nutraceuticals, productivity and quality of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) through triacontanol application. **Plant Biosystem**, v.146, p.106-113, 2011.

SIVAKUMAR, R.; PATHMANABAN, G.; KALARANI, M. K.; VANANGAMUDI, M.; SRINIVASAN, P. S. Effect of foliar application of growth regulators on biochemical attributes and grain yield in pearl millet. **Indian Journal of Plant Physiology**, v.7, p.79-82, 2002.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.10, 2007.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, p.1-26, 2012.

SUGUITANI, C.; MATSUOKA, S. Efeitos do fósforo nas características industriais e na produtividade agrícola em cana-de-açúcar (cana-planta) cultivada em duas regiões do estado de São Paulo. In **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, v.28, p.119, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p

VERMA, A.; MALIK, C. P.; GUPTA, V. K.; BAJAJ, B. K. Effects of in vitro triacontanol on growth, antioxidant enzymes, and photosynthetic characteristics in *Arachis hypogaea* L. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.23, p.271-277, 2011.

VERMA, A.; MALIK, C. P.; GUPTA, V. K.; SINSINWAR, Y. K. Response of groundnut varieties to plant growth regulator (BAP) to induce direct organogenesis. **World Journal Agricultural Sciences**, v.5, n.3, p.313-317, 2009.

WILLADINO, L.; OLIVEIRA FILHO, R. A.; SILVA JUNIOR, E. A.; GOUVEIA NETO, A.; CAMARA, T. R. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.2, p.417-422, 2011.

WORDATLAS. **Top Sugarcane Producing Countries**. Disponível em: <<http://www.worldatlas.com/articles/top-sugarcane-producing-countries.html>>. Acesso em: 28 de dezembro de 2016.

ZIVCAK, M.; BRESTIC, M.; BALATOVA, Z.; DREVENAKOVA, P.; OLISOVSKA, K.; KALAJI, H. M.; YANG, X.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Photosynthetic electron transport and specific photoprotective responses in wheat leaves under drought stress. **Photosynthesis Research**, v.117, p.529-546, 2013.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO FOLIAR DE TRIACONTANOL NO CRESCIMENTO E MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA

RESUMO

A cana-de-açúcar é uma cultura de importância econômica global, usada na produção de açúcar e bioetanol. A deficiência hídrica é um dos principais fatores que limitam produtividade dessa cultura em todo o mundo. A aplicação foliar do bioestimulante triacontanol (TRIA) tem sido usada em diferentes culturas para reduzir os efeitos adversos de estresses, contudo, não existem informações sobre o efeito do TRIA em cana-de-açúcar. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do TRIA sobre o crescimento e tolerância à seca da cana-de-açúcar. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação com a cultivar RB92579. O delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 4x2: quatro doses de TRIA (0, 10, 40 e 160 μM) e dois regimes hídricos (irrigado e estresse hídrico), com cinco repetições. As aplicações do TRIA na parte aérea da planta ocorreram aos 30 e 60 dias após o plantio (DAP). As plantas foram irrigadas, mantendo o solo próximo à capacidade de campo, até os 120 DAP, quando foi suspensa irrigação por seis dias, seguido de três dias de reidratação. As avaliações morfológicas ocorreram durante o experimento e as fisiológicas foram realizadas ao longo do estresse hídrico e reidratação. A aplicação foliar de TRIA promoveu aumento na altura, área foliar, massa seca do colmo e total e do teor de clorofila em plantas irrigadas. As plantas que receberam a dose de 160 μM de triacontanol (TRIA) apresentaram melhor crescimento, com o aumento na altura, número de folhas, área foliar massa seca do colmo, além de promover o aumento no teor de clorofilas. Com a imposição da deficiência hídrica todas as plantas, independentes das doses crescentes de TRIA, apresentaram diminuição do potencial hídrico da folha, teor relativo de água, condutância estomática, transpiração, fotossíntese e eficiência do uso da água, além disso, as plantas estressadas apresentaram redução na eficiência fotoquímica do fotossistema II representada pela relação F_v/F_m e ΦPSII e teor de clorofilas. Diante disso, pode-se evidenciar que a aplicação foliar do TRIA em folha de cana-de-açúcar não amenizou os danos causados pelo déficit hídrico.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. tolerância a seca. bioestimulante. clorofila. biomassa.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma cultura de importância econômica no mundo, sendo considerada uma das maiores culturas agrícolas do Brasil, utilizada como matéria-prima para produção de açúcar e etanol, um biocombustível renovável (SILVA et al., 2010; WACLAWOVSKY et al., 2010).

O estresse hídrico é responsável por limitar o crescimento, reduzindo a produtividade de grandes culturas como a cana-de-açúcar (ZHAO; LI, 2015). Essa restrição se dá principalmente pela redução da capacidade fotossintética, eficiência do uso da água e o baixo potencial hídrico na planta sob condições de seca (SILVA et al., 2013), o que promove a redução da altura, área foliar e biomassa em cana-de-açúcar (ENDRES et al., 2018).

Sob condições edafoclimáticas desfavoráveis os produtores escolhem genótipos de cana-de-açúcar mais tolerantes à seca e, ao mesmo tempo, vêm buscando soluções práticas que diminuam os efeitos do estresse hídrico. Além da deficiência hídrica, fatores endógenos como os hormônios vegetais, também influenciam o crescimento e desenvolvimento em cana-de-açúcar (ENDRES et al., 2016). Estudos evidenciam que o uso de reguladores de crescimento e bioestimulantes favorecem o desenvolvimento voltado para a maior produção e melhor qualidade final em cana-de-açúcar (CAPUTO et al., 2007; SILVA et al., 2010; COSTA et al., 2011), o que pode ser muito importante em condições ambientais de seca (COSTA et al., 2011).

O triacontanol (TRIA) é um regulador de crescimento natural encontrado nas ceras epicuticulares da maioria dos vegetais, um álcool primário $C_{30}H_{62}O$ também conhecido como álcool melissílico (GATICA et al., 2008; NAEEM et al., 2012). A aplicação foliar do triacontanol em vários estágios de crescimento têm aumentado a produtividade final de diferentes culturas como milho, tomate, gengibre e trigo (KHAN et al., 2006; SINGH et al., 2012; NAEEM et al., 2012; PERVEEN et al., 2014). Além disso, estudos do papel do TRIA sob estresses abióticos vêm crescendo devido ao sucesso desse bioestimulante em aumentar a tolerância ao estresse hídrico em milho (PERVEEN et al., 2016) e salino em culturas de trigo (PERVEEN et al., 2013), canola (SHAHBAZ et al., 2013) e milho (ERTANI et al., 2013; PERVEEN et al., 2017), onde plantas sob estresse apresentaram aumento no teor de clorofila, taxa fotossintética e eficiência do uso da água.

Apesar do TRIA ter sido usado em várias culturas para mitigar efeitos de estresse (SHAHBAZ et al., 2013; ERTANI et al., 2013; PERVEEN et al., 2016; PERVEEN et al., 2017), esse bioestimulante ainda não foi testado em cana-de-açúcar. A hipótese do trabalho é que o TRIA pode promover o crescimento em cana-de-açúcar através dos diferentes processos metabólicos, tais como fotossíntese e síntese de clorofila, resultando em aumento da biomassa sob deficiência hídrica. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do TRIA sobre o crescimento e tolerância à seca em cana-de-açúcar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e condições experimentais

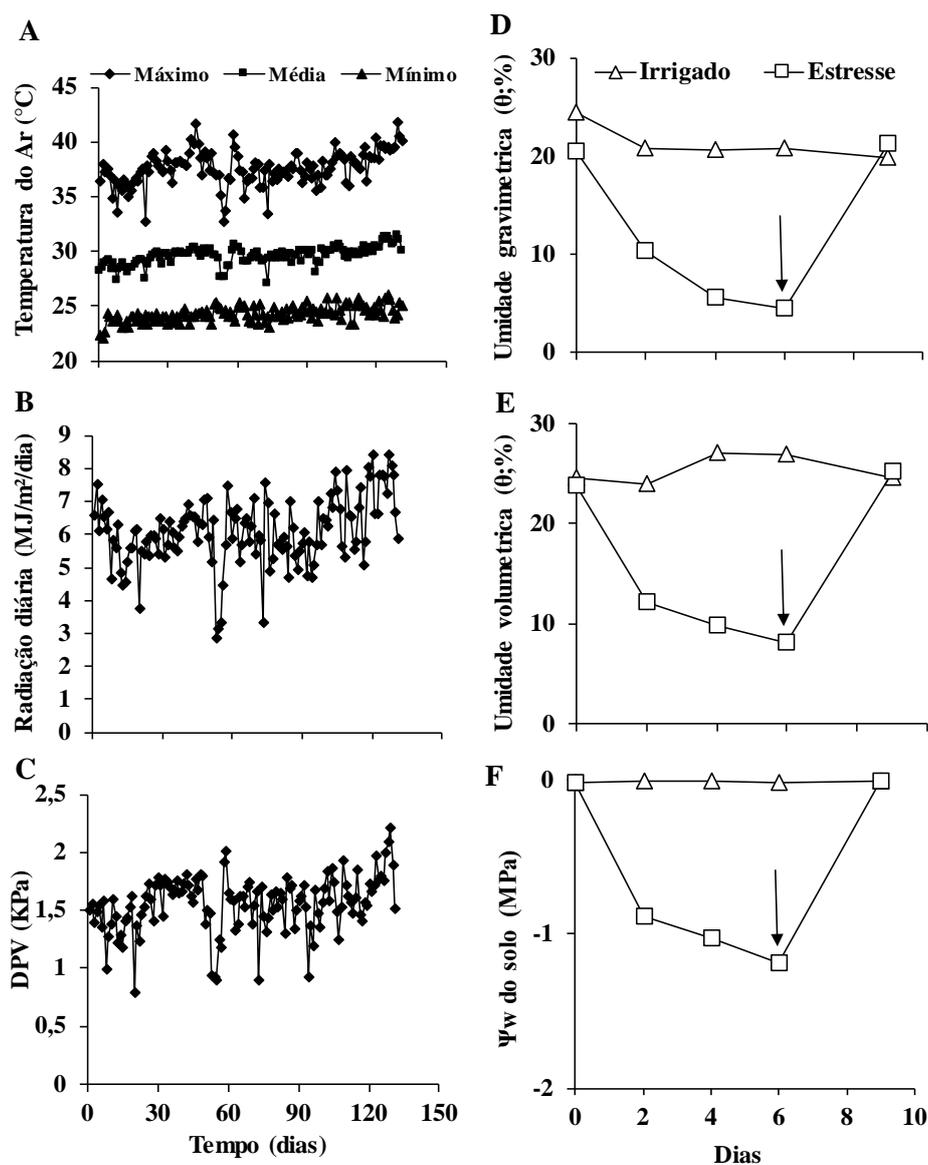
O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada a 09°28'02"S; 35°49'43"W e 127 m de altitude. No experimento foi utilizada a cultivar RB92579. As plantas foram obtidas por reprodução assexuada, utilizando três toletes com uma gema, os quais foram cultivados em vasos de 20 litros. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2 (doses de TRIA x regimes hídricos) com cinco repetição. As doses de TRIA foram (0, 10, 40 e 160 μ M), aplicadas via foliar. Os regimes foram plantas irrigadas (controle) e plantas sob estresse hídrico e posterior reidratação das plantas sob seca.

As aplicações de TRIA na parte aérea ocorreram aos 30 e 60 dias após o plantio (DAP), com volume de aplicação de 10 mL por planta, nas diferentes concentrações conforme os tratamentos. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo até os 120 DAP, quando foi suspensa a irrigação, que durou seis dias, observando aparente murcha das folhas e diminuição da taxa fotossintética, seguido de reidratação por três dias, totalizando 129 DAP.

As condições ambientais durante o período experimental foram monitoradas por uma estação meteorológica automática modelo WS - GP1 (DELTA-T Devices, Cambridge - England), localizada dentro da casa de vegetação, registrando: temperatura ($^{\circ}$ C), umidade relativa do ar (%) a cada 5 minutos e radiação solar ($\text{MJ.m}^2.\text{dia}$) a cada 15 segundos e a média armazenada a cada 15 min em datalog. Com base nos dados de umidade e temperatura foi calculado o déficit de pressão de vapor (DPV) do ar (Figura 1).

Durante todo o período de estresse hídrico foi monitorado a umidade do solo, à profundidade de 5 cm, utilizando-se um sensor de umidade modelo SM200 acoplado a um medidor de umidade modelo HH2 e potencial hídrico do solo por meio da coleta de amostra de solo a 5 cm de profundidade e quantificado no equipamento WP4C da Decagon Device (Figura 1).

Figura 1 - Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e déficit de pressão de vapor, DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade gravimétrica do solo (D), umidade volumétrica do solo (E) e potencial hídrico do solo, Ψ_w (F) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta \rightarrow indica o estresse máximo.



2.2. Análises morfológicas

As variáveis altura da planta, diâmetro do colmo, número de folhas verdes, número de perfilhos e área foliar (AF) foram quantificados após 54 DAP (dias após o plantio), quando iniciou o aparecimento dos colmos nas plantas, em intervalos de 15 dias até os 120 DAP. A AF foi determinada por meio da contagem do número de folhas verdes (folha totalmente expandida com o mínimo de 20% de área verde, contada a partir da folha +1) e pelas medições das folhas +3, sendo obtidos o comprimento e a largura da folha na porção mediana: $AF = C \times L \times 0,75 \times (N + 2)$, em que C é o comprimento da folha +3, L é a largura da folha +3, 0,75 é o fator de correção para área foliar da cultura, e N é o número de folhas abertas com pelo menos 20% de área verde pelo método descrito por Hermann; Câmara (1999).

2.3. Análises fisiológicas

As avaliações fisiológicas foram realizadas em duas épocas: durante o estresse máximo, que ocorreu após seis dias de restrição hídrica, e após reidratação por três dias.

As medidas de trocas gasosas e atividade fotoquímica foram realizadas na folha +1 nos horários entre 8:00 e 10:00 da manhã e baseou-se na classificação de Van Dillewijn (1952). A taxa de fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), foram quantificadas com um analisador portátil de CO₂ de infravermelho modelo Li-6400XT (Infra Red Gas Analyser – IRGA, Licor, EUA). A partir dos valores de A e E foram calculados a relação eficiência instantânea do uso da água (A/E).

A máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) foi determinada por meio de um fluorômetro portátil de luz modulada (PAM 2500, WALZ) após adaptar as folhas ao escuro por 30 minutos, utilizando-se cliques foliares (MAXWELL; JOHNSON (2000) às 12h. O rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}) foi determinado às 10:00 h sob luz ambiente (BAKER, 2008).

O conteúdo de clorofila total (Cl total) foi realizado de acordo com método descrito por Lichtenthaler (1987), utilizando 5ml de acetona a 80% com 6 discos de 0,6 cm de diâmetro de folha frescas, acondicionados ao abrigo da luz a 4 °C durante 72hs. Posteriormente, foram feitas as leituras de absorvância dos extratos a 480, 645, 663 nm de comprimento de onda, em espectrofotômetro. O teor relativo de água na folha (TRA) foi realizado através do uso de dez discos de folhas de 0,6 cm de diâmetro retirados das

folhas +1. O TRA foi calculado com obtenção da massa fresca (Mf), massa túrgida (Mt) e massa seca (Ms). Em seguida, os valores foram substituídos na fórmula: $TRA = [(Mf - Ms) \times (Mt - Ms)^{-1}] \times 100$, conforme Barrs; Weatherley (1962).

O potencial hídrico foi quantificado na folha +2 nos horários de antemanhã, entre 4:30 e 5:30 h e às 12h usando uma câmara de pressão Scholander (Soil Moisture Equipment, Santa Bárbara, CA, EUA).

As plantas foram coletadas ao final do experimento (129 DAP) e separadas em folhas, colmos e raízes e secas em estufa com circulação de ar forçada a 65°C, até peso constante, para obtenção da massa seca de folhas, raízes, colmos e total.

2.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F, nas variáveis fisiológicas foram realizadas análise de regressão polinomial para as doses de TRIA e os regimes hídricos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $p < 0,05$ utilizando-se o programa estatístico computacional Sisvar 5.6.

3. RESULTADOS

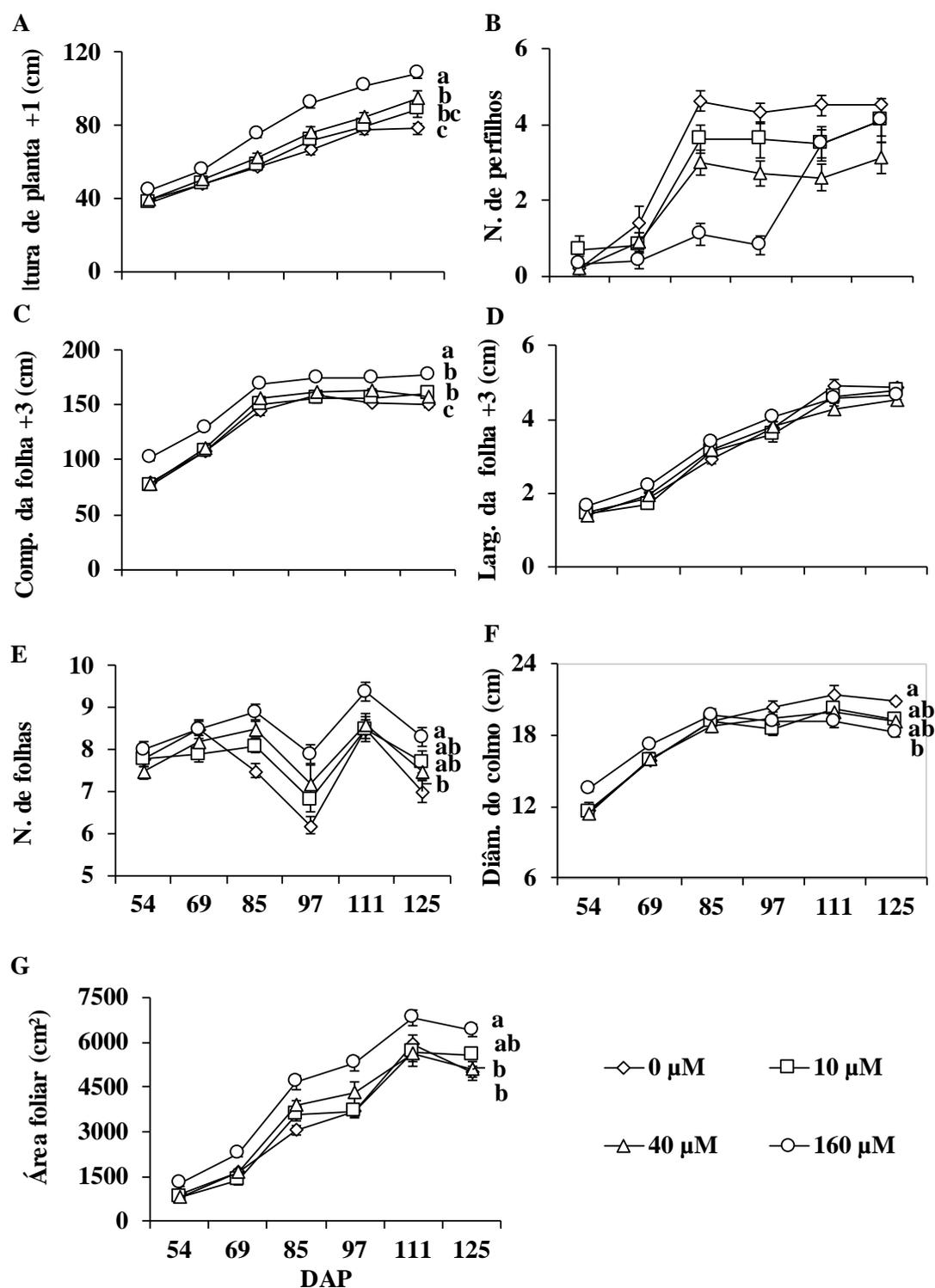
A aplicação foliar do triacontanol (TRIA) em cana-de-açúcar influenciaram de forma positiva o crescimento em plantas de cana-de-açúcar irrigadas (Tabela 1). As plantas que receberam a dose de 160 μM de (TRIA) apresentaram melhor crescimento, com o aumento na altura, número de folhas e área foliar em relação as outras doses sob condições de irrigação (Figura 2 A, E e G). Com 125 dias após plantio, esse aumento foi de 34,5% na altura, 18,6 % número de folha e 28,6% na área foliar quando comparado às plantas que não receberam TRIA (Figura 2 A, E e G). O TRIA promoveu redução do perfilhamento em cana-de-açúcar em todas as doses (Figura 2 B), destacando-se a dose TRIA de 160 μM que promoveu maiores reduções no número de perfilhos (Figura 2 B), com efeito durador próximo de 40 dias após aplicação.

Tabela 1- Análise de variância da altura de plantas (AP), número de perfilhos (NP) comprimento da folha (CF), largura da folha (LF), número de folhas (NF), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), massa seca de folhas (MSF), massa seca do colmo (MSC) massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM).

Tratamentos	AP	NP	CF	LF	NF	DC
Triacontanol (TRIA)	14,8**	1,9 ns	105,3**	1,1ns	5,2**	5,8**
Erro	27	27	27	27	27	27
CV (%)	11,1	35,1	2,2	9,6	9,8	7,1
	AF	MSF	MSC	MSR	MST	
Triacontanol (TRIA)	8,4**	41,4**	335,4**	264,1**	1186,9**	
Erro	27	27	27	27	27	
CV (%)	12,8	2,6	3,33	4,1	2,6	

C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; *: significativo ($P>0,05$); **: significativo ($P<0,01$).

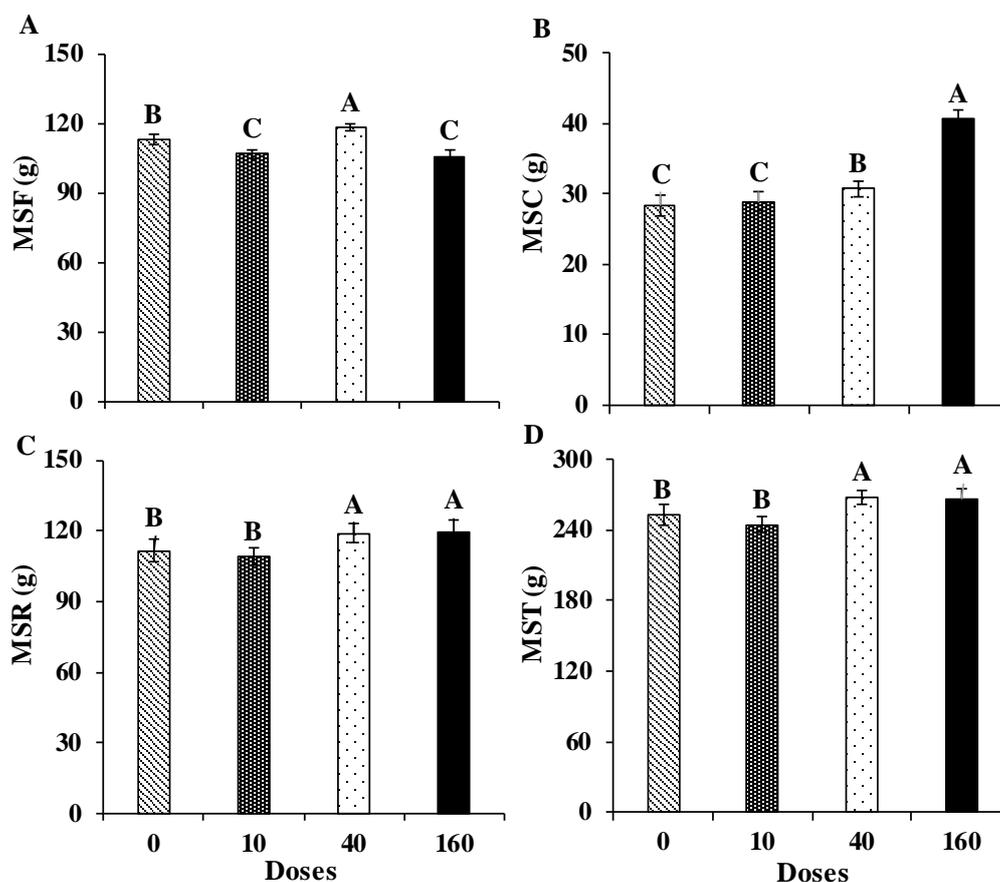
Figura 2 - Altura da planta (A), número de perfilhos (B), número de folhas (E), diâmetro do colmo (D) e área foliar (E) de plantas de cana-de-açúcar irrigadas, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de diferentes doses de TRIA (0, 10, 40 e 160 μM). Cada ponto indica o valor médio de cinco repetições e barras indicam erro padrão.



A massa seca foliar foi 4,4% maior na dose de 40 μM , quando comparada a dose 0 μM (Figura 3 A). A dose de TRIA de 160 μM promoveu aumento na massa seca de colmo, com acréscimo de 36%, quando comparada a dose 0 μM (Figura 3 B). A massa

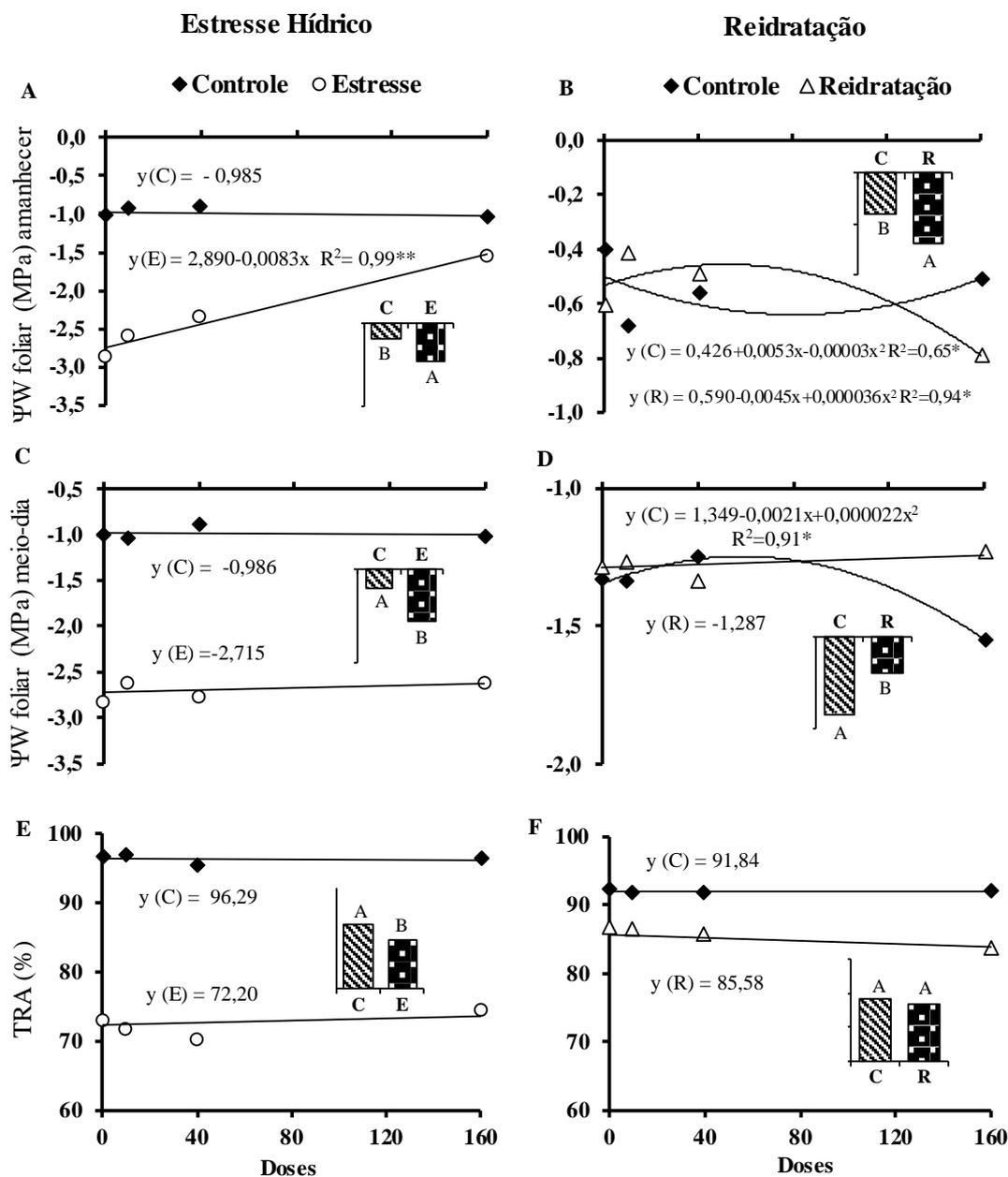
seca de raízes e massa seca total foram maiores nas plantas que receberam as maiores doses de TRIA de 40 μM e 160 μM com o aumento médio de 5,16% e 5,9% respectivamente (Figura 3C e D).

Figura 3 - Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do colmo (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Com a imposição da deficiência hídrica todas as plantas apresentaram diminuição do potencial hídrico da folha (Ψ_w) (Figura 4 C) e teor relativo de água (Figura 4 E) de forma semelhante, independente da aplicação de TRIA. As plantas estressadas apresentaram valores de Ψ_w próximos de -2,7 MPa e a redução média do TRA foi de 20% (Figura 4 A e E). Após a reidratação as plantas recuperaram por completo seu status hídrico (Figura D e F).

Figura 4 - Potencial hídrico foliar na antemanhã, Ψ_w (A e B), potencial hídrico foliar às 12h, Ψ_w (C e D) e teor relativo de água na folha (TRA) (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



A deficiência hídrica em cana-de-açúcar influenciou as trocas gasosas nas as plantas tratadas ou não com TRIA (Figura 5, Tabela 2). Todas as plantas apresentaram redução de forma semelhante na condutância estomática, transpiração, fotossíntese e eficiência do uso da água e sob condições de seca (Figura 5), não observando efeito das doses nessas variáveis.

Tabela 2- Análise de variância dos atributos fisiológicos: fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), Eficiência instatânea do uso da água (A/E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), eficiência quântica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em cana-de-açúcar pré-tratadas com triacontanol e submetida ao estresse hídrico, com dois períodos de avaliação, seis dias de deficiência hídrica e posterior reidratação por três dias.

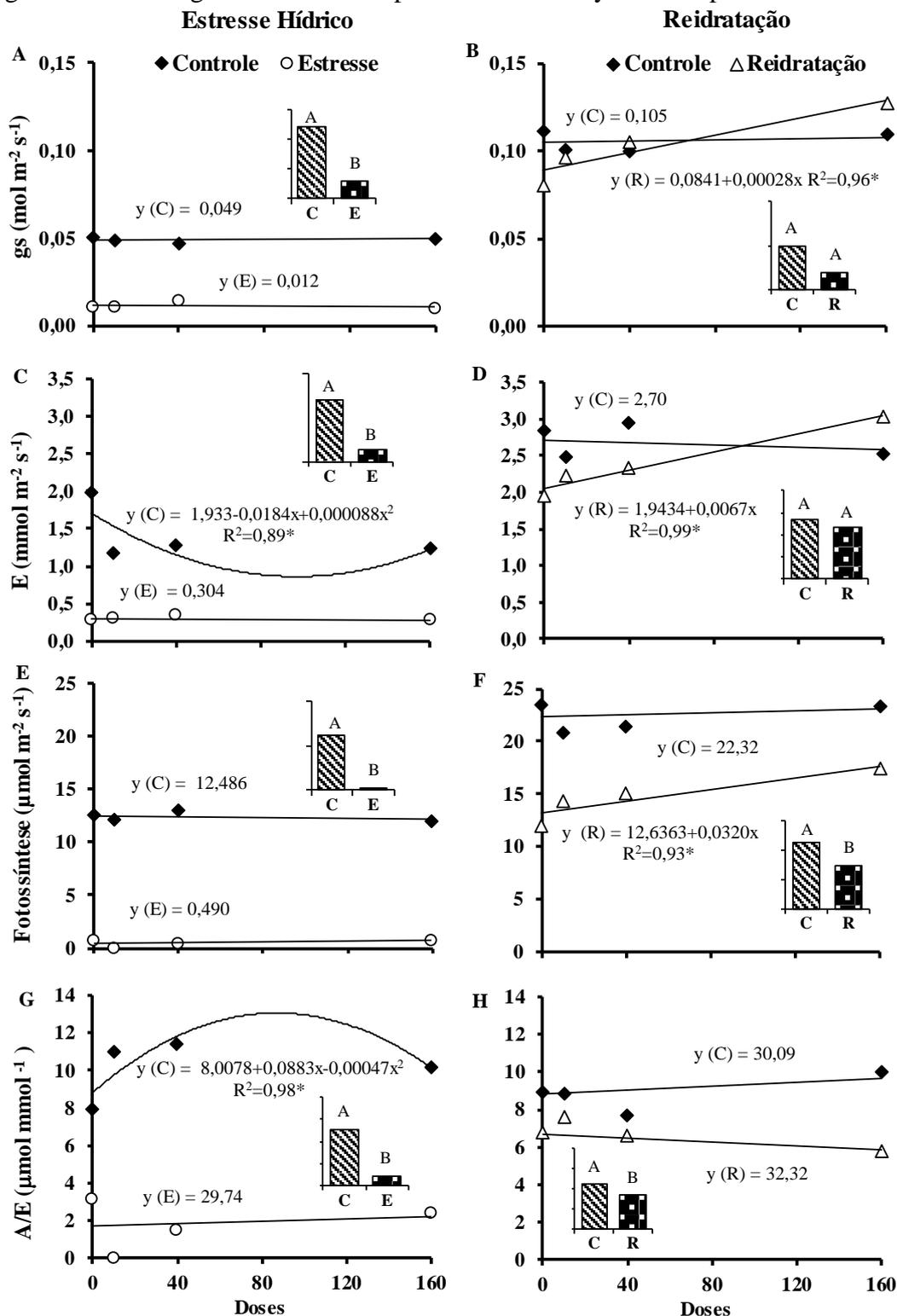
Tratamentos	A	gs	E	A/E	Fv/Fm	Φ_{PSII}	Cl total
Estresse hídrico							
Triacontanol (TRIA)	0,38ns	0,03 ns	1,46ns	0,34 ns	0,41ns	5,79**	6,49**
Regime hídrico (R)	576,7**	157,2**	53,7**	101,2**	220,9**	1935,3,1**	251,6**
TRIA x R	0,29 ns	0,31 ns	1,65 ns	2,72 ns	0,54ns	2,67ns	0,32ns
Erro	28	28	28	28	28	28	28
CV (%)	24,3	30,7	55,66	44,3	6,67	6,96	13,87
Reidratação							
Triacontanol (TRIA)	1,72 ns	0,79 ns	0,65 ns	0,40 ns	0,34 ns	1,2 ns	2,8*
Regime hídrico (R)	58,8**	0,09 ns	1,64 ns	9,1**	0,002**	47,0**	138,5**
TRIA x R	1,78 ns	0,86 ns	1,44 ns	1,04 ns	1,02 ns	2,08 ns	2,21 ns
Erro	28	28	28	28	28	28	28
CV (%)	16,9	33,6	31,2	29,2	2,5	18,77	12,8

C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; *: significativo ($P > 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$).

Entre as plantas tratadas com a dose de TRIA de 160 μM sob reidratação foi observado aumento nos valores de condutância estomática, transpiração e fotossíntese quando comparado a dose de 0 μM (Figura 5 B, D e F).

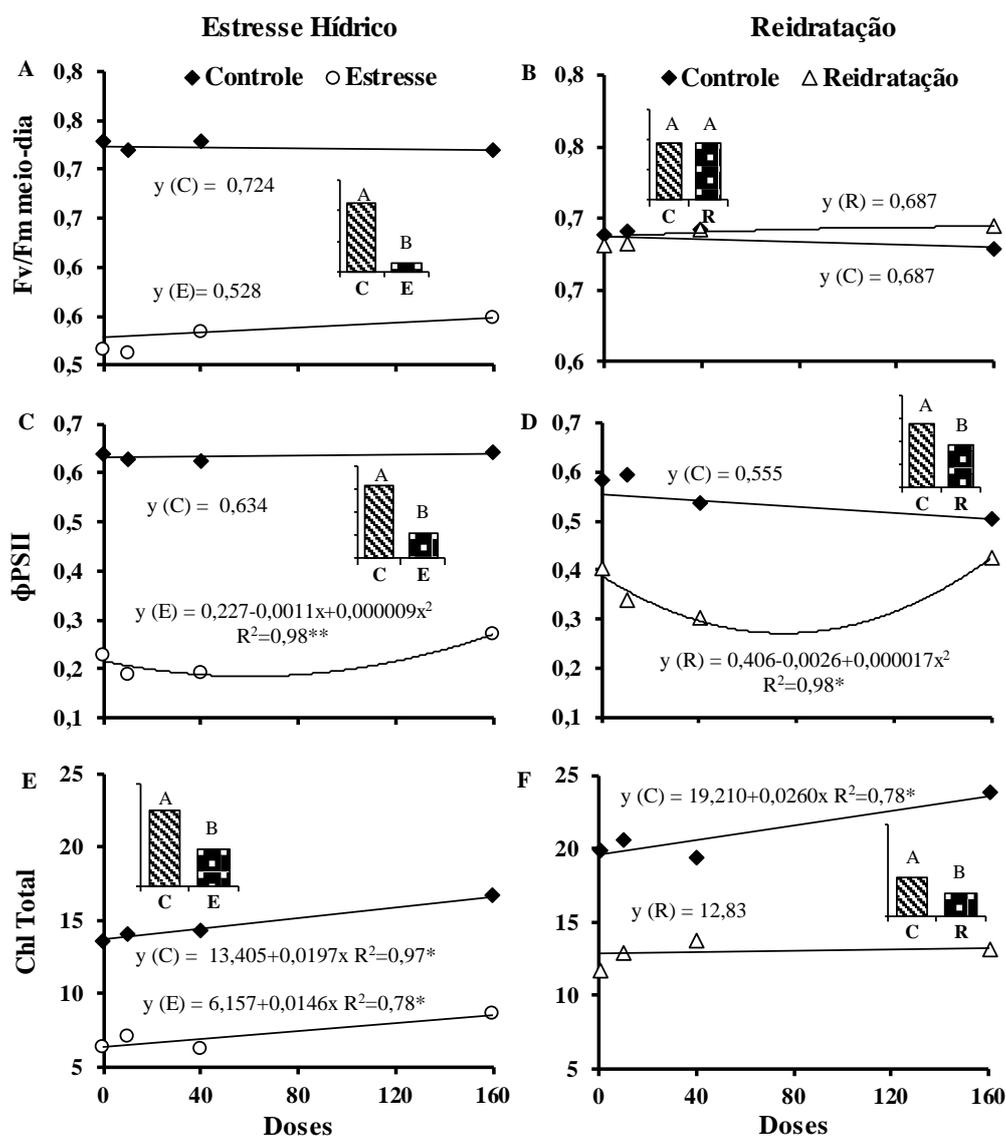
O estresse hídrico ocasionou redução na relação Fv/Fm em todas as plantas tratadas ou não com TRIA com valores abaixo de 0,6 (Figura 6 A). O rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}) também reduziu em plantas sob estresse hídrico, verificou-se menor redução de Φ_{PSII} de 21% nas plantas com maior dose de TRIA de 160 μM . Após a reidratação, todas as plantas apresentaram recuperação de Fv/Fm (Figura 5 A) e Φ_{PSII} (Figura 6 D), independente da aplicação de TRIA.

Figura 5 - Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D); taxa totossintética (E e F) e eficiência instantânea do uso da água (A/E) (G e H) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



O teor de clorofila foi maior em plantas hidratadas que receberam a 160 μM de TRIA, com acréscimo 23% quando comparado a dose 0 μM (Figura 6E). Em plantas sob estresse hídrico, pode-se observar que a aplicação da maior dose de TRIA proporcionou menor degradação de clorofila em relação às outras doses (Figura 6 E). Após reidratação, todas as plantas recuperaram parcialmente o teor de clorofila total de forma semelhante (Figura 6 F).

Figura 6 - Relação Fv/Fm ao meio dia (A e B), eficiência quântica efetiva do fotossistema II, Φ_{PSII} (C e D) e clorofila total (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



4. DISCUSSÃO

As plantas de cana-de-açúcar apresentaram efeito positivo no crescimento, aumento no alongamento dos colmos, no número de folhas e na área foliar em plantas irrigadas com aplicação de triacontanol (TRIA). Perveen et al. (2017) também verificaram aumento da parte aérea e área foliar de plantas de milho pulverizadas com TRIA sob regimes normais e salino. Outros estudos observaram a eficácia do TRIA no aumento da altura da planta e área foliar, em várias culturas quando irrigadas, como tomate (KHAN et al., 2009), gengibre (SINGH et al., 2012) e milho (PERVEEN et al., 2016). O aumento do crescimento mediante aplicações de TRIA, pode estar relacionado com a modulação de enzimas envolvidas em processo de crescimento (RIES et al., 1990; SINGH et al., 2012) e sua interação com outros hormônios, como citocininas e ácido giberélico, para regular o crescimento e processos metabólicos como alongamento celular e aumento da divisão celular (AFAB et al., 2010; PERVEEN et al., 2014).

O TRIA promoveu maior redução no número de perfilhos na cana com a maior dose (160 μ M), porém, esse efeito foi temporário com duração de 40 dias após aplicação, o que deve ter induzindo a planta a usar sua energia no desenvolvimento da planta principal. O processo de perfilhamento é regulado por auxina, o qual exerce dupla função: no alongamento do colmo e inibição do desenvolvimento de gemas laterais (JADOSKI et al., 2010). A inibição do perfilhamento nas plantas com maiores doses de TRIA observada neste estudo, pode indicar que esse regulador de crescimento agiu em interação com a auxina, inibido a emergência das gemas laterais através da dominância apical, já que o TRIA foi aplicado apenas na planta principal do vaso. Outro estudo também relata que a interação do TRIA com auxina podem influenciar na regulação do crescimento do vegetal (GATICA et al., 2008; ERTANI et al., 2013).

O TRIA promoveu aumento na massa seca de colmo e massa seca total em plantas que receberam a maior dose, o que está de acordo com outros estudos que demonstram que a aplicação de TRIA aumentou a massa seca de plantas como girassol (AZIZ et al., 2013), arroz (LI et al., 2016) e milho (PERVEEN et al., 2017). De acordo com Reis; Wert (1992), o TRIA é rapidamente transcolado por toda a planta causando um grande número de eventos metabólicos e, assim, resultando em aumento significativo no crescimento e matéria seca da planta.

O potencial hídrico e o teor relativo de água na folha reduziram de forma semelhante em todas as plantas com ou sem TRIA, o que confirma que a cana-de-açúcar

estava sob estresse hídrico severo, o que evidencia que o TRIA não agiu na manutenção do status hídrico da planta, o que influenciou na redução das trocas gasosas nas plantas estressadas. Outros estudos também demonstram que redução do teor relativo de água e potencial hídrico foliar em cana-de-açúcar sob estresse hídrico são responsáveis por vários danos no aparato fotossintético e trocas gasosas (SMIT; SINGELS, 2006; SILVA et al., 2013).

Nesse estudo a cana-de-açúcar sob estresse hídrico apresentou fechamento estomático e redução da transpiração e fotossíntese de forma semelhante, independente das doses de TRIA. O fechamento estomático é uma estratégia da cana-de-açúcar para diminuir a perda de água pela transpiração, na tentativa de manter a atividade fotossintética na planta sob deficiência hídrica (GONÇALVES et al., 2010; SANTOS et al., 2015). Assim, o TRIA não promoveu a manutenção das taxas fotossintéticas em cana-de-açúcar sob condições de estresse. Por outro lado, estudos com girassol (AZIZ et al., 2013), canola (SHAHBAZ et al., 2013) e trigo (PERVEEN et al., 2013) sob estresse salino relataram que a aplicação do TRIA resultou no aumento da taxa de assimilação de CO_2 e condutância estomática sob condições salina e não salina.

A eficiência fotoquímica do fotossistema II representada pela relação F_v/F_m e $\Phi PSII$ também foram reduzidas em plantas com ou sem TRIA em resposta ao estresse, o que sugere que a aplicação foliar do TRIA não contribuiu para evitar danos no aparato fotoquímico. A deficiência hídrica e altas irradiâncias podem resultar na inibição regulatória ou dano do aparato fotossintético, uma vez que, quando a fotossíntese está limitada, seja por limitação do suprimento de CO_2 , seja por inibição direta do transporte de elétrons, o excesso de excitação poderá causar fotodanos ao PSII, além de gerar espécies reativas de O_2 , o que causa grave estresse oxidativo com danos na célula vegetal (LONG et al., 1994; ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). Estudos em outras culturas como girassol (AZIZ et al., 2013) e trigo (PERVEEN et al., 2013) também não foram verificados efeito do TRIA na variação de F_v/F_m sob estresse salino.

Após a aplicação foliar do TRIA na maior dose (160 μM) foi evidenciado o acúmulo de clorofilas nas plantas irrigadas. Outros trabalhos também reforçam a atuação positiva do TRIA no aumento do teor de clorofila em plantas sob condições normais de hidratação, como amendoim (VERMA et al., 2011), trigo (PERVEEN et al., 2013), arroz (LI et al., 2016) e milho (PERVEEN et al., 2017). Segundo Chen et al. (2003) esse aumento presumivelmente deve ser atribuído a um aumento no número e tamanho dos cloroplastos induzidos pelo efeito do TRIA.

A deficiência hídrica causou a degradação de clorofilas nas plantas de modo geral, sendo as menores reduções nas plantas que receberam a maior dose de TRIA, tal fato se deve ao TRIA ter contribuído com a maior produção de clorofila nessas plantas antes de serem estressadas. A degradação da clorofila é uma das consequências ao estresse que pode ser o resultado da fotoinibição e diminuição da eficiência fotossintética entre outros processos celulares como a divisão e expansão celulares (LONG et al., 1994; DHANAPACKIAM; ILYAS, 2010). Em estudos com aplicação foliar de TRIA em milho sob estresse hídrico (PERVEEN et al., 2016) e canola sob estresse salino (SHAHBAZ et al., 2013), os autores observaram que as plantas que receberam TRIA aumentaram o teor de clorofila em ambas as condições com e sem estresse.

5. CONCLUSÕES

A aplicação de TRIA na dose 160 μ M contribuiu com o crescimento em cana-de-açúcar, ocasionando aumento na altura da planta, número de folhas, área foliar e massa seca do colmo em plantas irrigadas.

O efeito do TRIA, na dose 160 μ M, em cana-de-açúcar ocasionou redução do perfilhamento temporário e aumento da produção de clorofilas em plantas hidratadas.

A aplicação foliar do TRIA em de cana-de-açúcar não amenizou os danos causados pelo déficit hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFTAB, T.; KHAN, M. M. A.; IDREES, M.; NAEEM, M.; SINGH, M.; RAM, M. Stimulation of crop productivity, photosynthesis and artemisinin production in *Artemisia annua* L. by triacontanol and gibberellic acid application. **Journal Plant Interactions**, v.4, p.273–281, 2010.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Revisão, Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, n.4, p.463-472, 2009.

AZIZ, R.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Influence of foliar application of triacontanol on growth attributes, gas Exchange and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under saline stress. **Pakistan Journal of Botany**, v.45, n.6, p.1913-1918. 2013.

BAKER N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.89-113, 2008.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.15, p.413-428, 1962.

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

CHEN, X.; YUAN, H.; CHEN, R.; ZHU, L.; HE, G. Biochemical and photochemical changes in response to triacontanol in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Growth Regulation**, v.40, n.3, p.249–256, 2003.

COSTA, N. L.; DAROS, E.; MORAES, A. Utilização de bioestimulantes na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **PUBVET**, v.5, n.22, 2011.

DHANAPACKIAM, S.; ILYAS, M. H. M. Effect of salinity on chlorophyll and carbohydrate contents of *Sesbania grandiflora* seedlings. **Indian Journal of Science Technology**, v.3, p.64-66, 2010.

ENDRES, L.; SANTOS, C. M.; SOUZA, G. V, MENOSSI, M.; SANTOS, J. C. M. Morphological changes recorded in different phenophases of sugarcane plants subjected to water stress in tropical field conditions. **Australian Journal of Crop Science**, v.12, n.7, p.1041, 2018.

ENDRES, L.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; CLEMENTE, P. R. A. I.; BEZERRA, B. K. L.; FERREIRA, V. M. Root-promoting substances enhance Sugarcanes drought tolerance. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.52, p.5162-5170, 2016.

ERTANI, A.; SCHIAVON, M.; MUSCOLO, A.; NARDI, S. Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. **Plant and Soil**, v.364, n.1-2, p.145-158, 2013.

GATICA, A. M.; ARRIETA, G.; ESPINOZA, A. M. Direct somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. cvs. caturra and catuaí: effect of triacontanol, light condition, and medium consistency. **Agronomía Costarricense**, v.32, n.1, p.139-147, 2008.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. D. G. Gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence of sugarcane varieties submitted to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**. v.14, n.4. 2010.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar da cana-de-açúcar. **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.17, p.32-34. 1999.

JADOSKI, C. J.; TOPPA, B. E. V.; JULIANETTI, A.; HULSBOF, T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Physiology development in the vegetative stage of sugarcane. **Pesquisa aplicada & agrotecnologia**, v.3, n.2, 2010.

KHAN, M. M. A.; BHARDWAJ, G.; NAEEM, M.; MOHAMMAD, F.; SINGH, M.; NASIR, S.; IDREES, M. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to application of potassium and triacontanol. **ISHS Acta Horticulturae**, v.823, p.199-208, 2009.

KHAN, M. M. A.; MUJIBUR-RAHMAN, M.; NAEEM, M.; MOHAMMAD, F.; SIDDIQUI, M. H.; KHAN, M. N. Triacontanol-induced changes in the growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Electronic Journal of Environmental Agricultural Food Chemistry**, v.5, p.1492-1499, 2006.

LI, X.; ZHONG, Q.; LI, Y.; LI, G.; DING, Y.; WANG, S.; CHEN, L. Triacontanol reduces transplanting shock in machine-transplanted rice by improving the growth and antioxidant systems. **Frontiers Plant Science**, v.7, p.872, 2016.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). **Methods in enzymology**. London: Academic Press, p.350-381, 1987.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.45, p.633-662, 1994.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.659-668, 2000.

NAEEM, M.; KHAN, M. M. A. Triacontanol: a potent plant growth regulator in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, v.7, n.2, p.129-142, 2012.

PERVEEN, S.; IQBAL, M.; PARVEEN, A.; AKRAM, M. S.; SHAHBAZ, M.; AKBER, S.; MEHBOOB, A. Exogenous triacontanol-mediated increase in phenolics, proline, activity of nitrate reductase, and shoot k^+ confers salt tolerance in maize (*Zea mays* L.). **Brazilian Journal of Botany**, v.40, n.1, p.1-11, 2017.

PERVEEN, S.; IQBAL, M.; NAWAZ, A.; PARVEEN, A.; MAHMOOD, S. Induction of drought tolerance in *Zea mays* L. by foliar application of triacontanol. **Pakistan Journal of Botany**, v.48, n3, p.907-915, 2016.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Influence of foliar-applied triacontanol on growth, gas exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence at different growth stages in wheat under saline conditions. **Photosynthetica**, v.51, n.4, p.541-551, 2013.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Triacontanol-induced changes in growth, yield, leaf water relations, oxidative defense system, minerals, and some key osmoprotectants in *Triticum aestivum* under saline conditions. **Turkish Journal of Botany**, v.38, p.896-913, 2014.

RIES, S. Triacontanol and its second messenger 9- β -L(+)-adenosine as plant growth substances. **Plant Physiology**, v.95, p.986-989, 1991.

RIES, S.; WERT V. Response of maize and rice to 9- β -L(+)-adenosine applied under different environmental conditions. **Plant growth regulation**, v.11, n.1, p.69-74, 1992.

SANTOS, C. M.; SILVA, M. A.; LIMA, G. P. P.; BORTOLHEIRO, F. P. A. P.; BRUNELLI, M. C.; HOLANDA, L. A.; OLIVER, R. Physiological changes associated with antioxidant enzymes in response to sugarcane tolerance to water deficit and rehydration. **Sugar Tech**, v.17, n.3, p.291-304, 2015.

SHAHBAZ, M.; NOREEN, N.; PERVEEN, S. Triacontanol modulates photosynthesis and osmoprotectants in canola (*Brassica napus* L.) under saline stress. **Journal of Plant Interactions**, v.8, p.350-359, 2013.

SILVA, M. A.; CATO, S. C.; COSTA, A. G. F. Produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos. **Ciência Rural**, v.40, n.4, p.774-780, 2010.

SILVA, M. D. A.; JIFON, J. L.; SANTOS, C. M. D.; JADOSKI, C. J.; SILVA, J. A. G. D. Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.56, p.735-748, 2013.

SINGH, M.; KHAN, M. M. A.; NAEEM, M. Augmentation of nutraceuticals, productivity and quality of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) through triacontanol application. **Plant Biosystem**, v.146, p.106-113, 2012.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v.98, p.91-97, 2006.

VAN DILLEWIJN C. Botany of sugarcane. **Chronica Botanica**, 1952.

VERMA, A.; MALIK, C. P.; GUPTA, V. K.; BAJAJ, B. K. Effects of in vitro triacontanol on growth, antioxidant enzymes, and photosynthetic characteristics in *Arachis hypogaea* L. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.23, n.4, p.271-277, 2011.

WACLAWOVSKY, A. J.; SATO, P. M.; LEMBKE, C. G.; MOORE, P. H.; SOUZA, G. M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v.8, p.1-14, 2010.

ZHAO, D.; LI Y-R. Climate Change and Sugarcane Production: Potential Impact and Mitigation Strategies. **International Journal of Agronomy**, v. 2015, p.1-10, 2015.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO FOLIAR DO TRIACONTANOL NA REGULAÇÃO DE OSMOPROTETORES E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM CANA-DE-AÇÚCAR SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA

RESUMO

A aplicação foliar do triacontanol (TRIA) tem sido realizada em várias culturas para minimizar os efeitos adversos das tensões abióticas. Porém, pouco ainda se sabe sobre a ação do TRIA em plantas sob estresse hídrico, a exemplo da cana-de-açúcar. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de TRIA na regulação de osmoprotetores e atividade de enzimas antioxidante em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica e reidratação. Foi utilizada para esse estudo a cultivar RB92579. O delineamento foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2: com quatro doses do bioestimulante triacontanol, nas concentrações 0, 10, 40 e 160 μM , e duas condições de regime hídrico (irrigado e estresse), com cinco repetições. Foram determinados prolina, aminoácidos totais, açúcares solúveis totais e peroxidação de lipídios (MDA) e além das atividades das enzimas antioxidantes: superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). As plantas sob estresse hídrico apresentaram, de modo geral, aumento dos osmorreguladores e na atividade da enzima APX e MDA. As plantas que receberam maior dose de TRIA mostraram aumento no teor de açúcares, já as concentrações de prolina e aminoácidos não variaram com o aumento das doses de TRIA em plantas estressadas, o que indica que as plantas desidrataram de forma semelhante independente das doses de TRIA. Sob estresse hídrico a atividade das enzimas antioxidantes CAT e APX em cana-de-açúcar não alteraram devido a presença de TRIA, porém pôde-se observar menores atividade de SOD e peroxidação de lipídeos nas plantas estressadas que receberam 160 μM de TRIA, o que sugere que a aplicação foliar de TRIA na maior dose de 160 μM minimizou os efeitos adversos do estresse oxidativo da planta causados pelo estresse hídrico.

Palavra Chave: *Saccharum* spp. Bioestimulante. Estresse oxidativo.

1. INTRODUÇÃO

O impacto da seca sobre a produção agrícola é contínuo e crescente, tornando-se o fator mais importante da limitação do crescimento e reduzindo produtividade de grandes culturas como a cana-de-açúcar (ZHAO; LI, 2015). A cana-de-açúcar é uma importante cultura, em nível mundial, que contribui para a produção de cerca 60% do açúcar em todo o mundo e a sua biomassa é também utilizada para a produção do bioetanol. É cultivada em regiões tropicais e subtropicais de mais de 90 países, sendo o Brasil o maior produtor mundial, seguido da Índia (ZHAO; LI, 2015).

De modo geral, entre os mecanismos adaptativos de tolerância à deficiência hídrica em cana-de-açúcar, estão o controle estomático, maior capacidade fotossintética (SILVA et al., 2013), manutenção do status hídrico da planta por meio de ajustes osmóticos (QUEIROZ et al., 2011; PATADE et al., 2011), aumento de atividade de enzimas antioxidantes (CIA et al., 2012), além de alterações nas células, órgãos e na estrutura da planta como um todo, que conduzem as plantas a economizar água para uso em períodos posteriores.

Dentre as alterações metabólicas sob deficiência hídrica, destaca-se o acúmulo de solutos orgânicos, como a prolina, a qual atua como mediador do ajustamento osmótico, na integridade e proteção da membrana plasmática, como fonte de carbono e nitrogênio (HEMAPRABHA et al., 2013). Outros estudos também registram o acúmulo de açúcares solúveis e glicina betaína em cana-de-açúcar sob estresse (QUEIROZ et al., 2011; PATADE et al., 2011). Tais solutos podem ter grande acumulação em condições de baixo potencial hídrico, protegendo células contra a desidratação através do ajustamento osmótico (SANTOS et al., 2015).

Além disso, sob condições de deficiência hídrica e alta luminosidade as plantas sofrem distúrbio em função do excesso de elétrons nos sistemas de transporte dos tilacóides e dos fotossistemas, o que causa uma sobre-excitação dos centros de reação dos Fotossistemas II e I, elevando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos cloroplastos (CARVALHO et al., 2008). Para proteger-se dos efeitos prejudiciais das EROs produzidos durante o estresse oxidativo, as plantas desenvolveram um complexo mecanismo de defesa antioxidante, constituído por enzimas e metabólitos antioxidantes.

Destacam-se entre as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) bastante sensíveis às condições de estresse abiótico, servindo como indicadores do estresse (SHARMA et al., 2012). Estudos com

cana-de-açúcar vêm utilizando as respostas das enzimas antioxidantes para melhor compreensão sobre o desempenho da sua capacidade de defesa contra o estresse oxidativo como os induzidos por deficiência hídrica (CIA et al., 2012; HEMAPRABHA et al., 2013; SANTOS et al., 2015).

O uso exógeno de bioestimulantes na proteção da planta contra os estresses abióticos vem sendo indicado como uma nova alternativa em prática agrícola. A exemplo do triacontanol (TRIA), um regulador de crescimento natural encontrado em ceras epicuticulares, conhecido por aumentar a eficiência fisiológica no crescimento e produtividade de diferentes culturas, tais como tomate, arroz e milho (NAEEM et al., 2012).

A aplicação foliar do TRIA tem sido usada em várias culturas para melhorar os efeitos adversos das tensões abióticas, como o estresse salino, através de processos bioquímicos e fisiológicos. Em plantas de girassol, sob estresse salino, a aplicação foliar do TRIA melhorou o desempenho de atividade de enzimas antioxidantes e solutos como prolina e glicina (AZIZ; SHAHBAZ, 2015). Em trigo, Perveen et al. (2014) observaram que plantas sob estresse salino que receberam TRIA diminuíram o estresse oxidativo com aumento da atividade da enzima antioxidante e redução na degradação de lipídios. Em canola, sob estresse salino, o uso do TRIA induziu o aumento no acúmulo de prolina e glicina betaína (SHAHBAZ et al., 2013). Esses estudos indicam que a aplicação exógena do TRIA contribui na manutenção do metabolismo interno das plantas sob estresse salino, reduzindo os danos celulares nas plantas e contribuindo com o crescimento da planta.

Porém, pouco ainda se sabe sobre a ação do TRIA em plantas sob estresse hídrico, a exemplo da cana-de-açúcar. O que torna esse estudo de grande relevância devido a necessidade de se elucidar o possível papel do regulador TRIA nos processos bioquímicos em cana-de-açúcar sob condições de seca. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de triacontanol na regulação de osmoprotetores e na atividade de enzimas antioxidantes em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica e reidratação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e condições experimentais

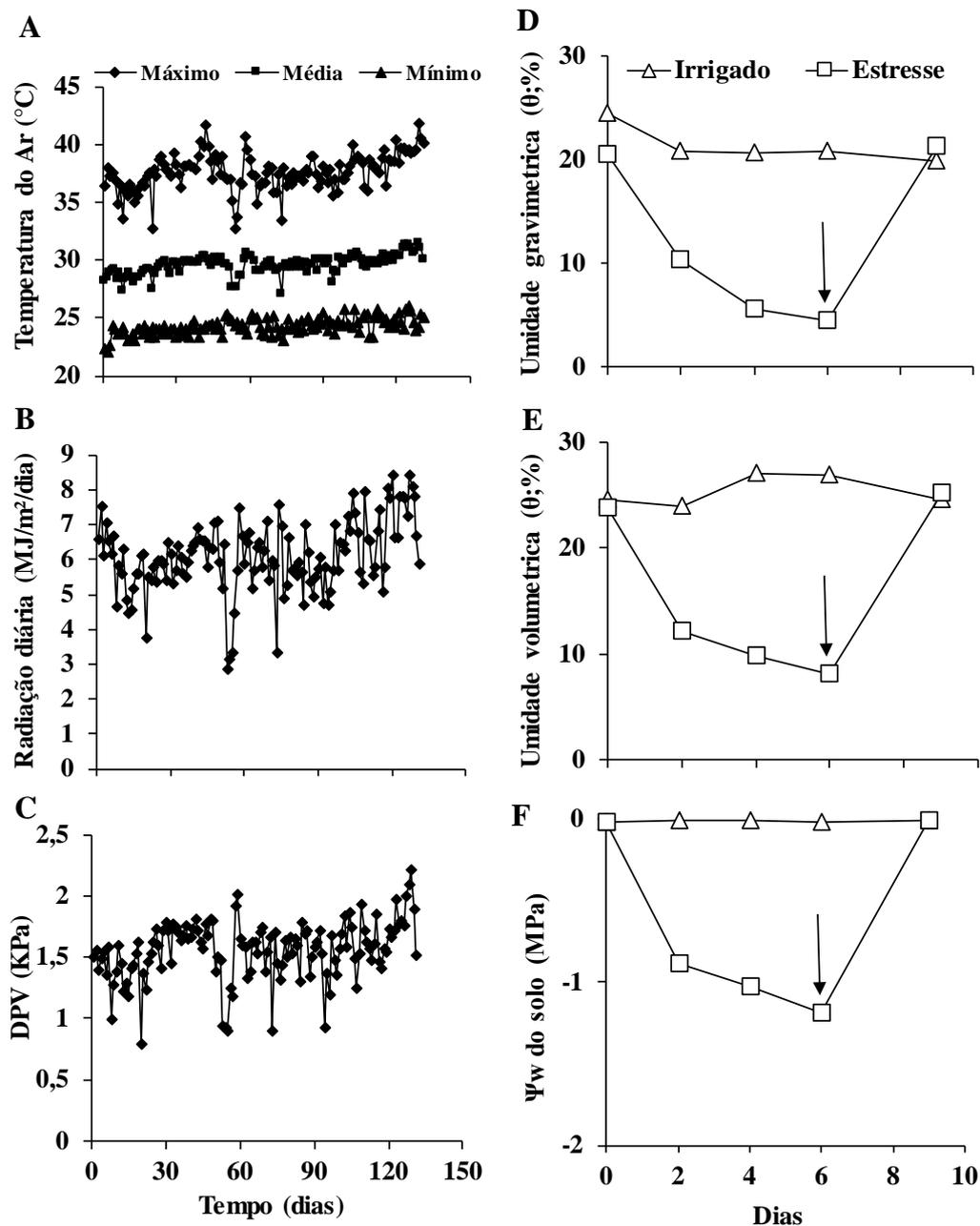
O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada a 09°28'02"S; 35°49'43"W e 127 m de altitude. No experimento foi utilizada a cultivar RB92579. As plantas foram obtidas por reprodução assexuada, utilizando três toletes com uma gema, os quais foram cultivados em vasos de 20 litros. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2 (doses de TRIA x regimes hídricos) com cinco repetição. As doses de TRIA foram de 0, 10, 40 e 160 μM , aplicadas via foliar. Os regimes foram plantas irrigadas (controle) e plantas sob estresse hídrico e posterior reidratação das plantas sob seca.

As aplicações de TRIA na parte aérea ocorreram aos 30 e 60 dias após o plantio (DAP), com volume de aplicação de 10 mL por planta, nas diferentes concentrações conforme os tratamentos. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo até os 120 DAP, quando foi suspensa a irrigação, que durou seis dias, observando aparente murcha das folhas e diminuição da taxa fotossintética, sintomas visíveis de estresse, seguido de reidratação por três dias, totalizando 129 DAP.

As condições ambientais durante o período experimental foram monitoradas por uma estação meteorológica automática modelo WS - GP1 (DELTA-T Devices, Cambridge - England), localizada dentro da casa de vegetação, registrando: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%) a cada 5 minutos e radiação solar ($\text{MJ.m}^2.\text{dia}$) a cada 15 segundos e a média armazenada a cada 15 min em datalog. Com base nos dados de umidade e temperatura foi calculado o déficit de pressão de vapor (DPV) do ar (Figura 1).

Durante todo o período de estresse hídrico, a umidade do solo foi monitorada, à profundidade de 5 cm, utilizando-se um sensor de umidade modelo SM200 acoplado a um medidor de umidade modelo HH2 e potencial hídrico do solo por meio da coleta de amostra de solo a 5 cm de profundidade, quantificado no equipamento WP4C da Decagon Device (Figura 1).

Figura 1- Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e déficit de pressão de vapor, DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade gravimétrica do solo (D), umidade volumétrica do solo (E) e potencial hídrico do solo, Ψ_w (F) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta \rightarrow indica o estresse máximo.



As coletas de materiais vegetal para bioquímica foram realizadas em duas épocas, durante o estresse, primeira coleta considerando que as plantas apresentavam potencial hídrico médio de $-1,0$ MPa para plantas irrigadas e $-2,5$ MPa para plantas estressadas e segunda coleta quando as plantas foram reidratadas e seus respectivos controles, as

plantas irrigadas. As amostras foliares foram coletadas da folha +1 e congeladas em nitrogênio líquido, armazenadas em freezer a -80°C , para a realização posterior das análises bioquímicas no laboratório de Fisiologia Vegetal CECA-UFAL.

2.2. Osmorreguladores

O material vegetal para determinação dos osmorreguladores foi liofilizado, macerado e armazenado em *ultrafreezer* a -80°C , para posterior avaliação dos teores de prolina, aminoácidos totais e carboidratos solúveis.

2.2.1. Determinação de Aminoácidos

A concentração de aminoácidos totais foi determinada pelo método de Yemm; Cocking (1955). Os extratos foram obtidos através de amostras de tecido foliar maceradas com 2 mL de tampão Na-K-fosfato 0,01 M (pH 7,6). Para reação foram adicionados: extrato, tampão citrato de sódio, ninhidrina a 5% e KCN. Em seguida, foram deixados em banho-maria a 100°C durante 20 min. Após resfriamento foi adicionado etanol a 60% para fixar a cor violeta. A quantificação de aminoácido foi determinada pela absorbância de 570 nm. Como padrão foi utilizado um pool de aminoácidos e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$.

2.2.2. Determinação de Prolina

A determinação de prolina foi feita pelo método descrito por Bates et al. (1973), através da reação com a solução de ninhidrina ácida. O extrato foi obtido pela adição de 8 mL de ácido sulfossalicílico, a 3%, em cerca de 100 mg de material vegetal liofilizado. Para a reação foram adicionados 1 mL de extrato, 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial, colocando a mistura em banho-maria a 100°C , durante 1 h, paralisando-se a reação em banho de gelo. Após, foi adicionado 2 mL de tolueno à mistura de reação, seguida de agitação vigorosa. Com a formação da mistura bifásica, a fase superior foi coletada para a quantificação de prolina através de medidas de absorbância em 520 nm. Para estabelecer a curva padrão, foi utilizada prolina pura e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$.

2.2.3. Determinação de Carboidratos

Os carboidratos solúveis foram determinados pelo método descrito por Dubois et al. (1956). Os extratos foram obtidos a partir de amostras de 2 mg do tecido foliar liofilizado com 4 mL de água destilada. Para reação foram adicionados: extrato, fenol a 5% e 5 ml de ácido sulfúrico. A solução foi agitada vigorosamente e permaneceu em repouso por 20 min para resfriamento. A quantificação foi feita na absorvância de 490 nm. Utilizou-se como padrão a D (+) glicose anidra e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}\text{MS}$.

2.3. Atividade de enzimas antioxidantes

2.3.1. Superóxido dismutase (SOD)

A determinação da atividade da SOD foi realizada segundo o método Giannopolitis; Ries (1977) com modificações. O extrato foi obtido através de 0,1 g de tecido foliar. Foram adicionados 50 μL do extrato enzimático a 2950 μL do meio de reação composto por: tampão de fosfato de potássio 300 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 100 mM, cloreto de azul de nitroblutetrazólio NBT 75 μM , e riboflavina 2 μM . A amostra de referência foi utilizada apenas o meio de reação sem adição de extrato vegetal. A amostra mais o meio de reação foram iluminados com lâmpada fluorescente de 15 W por 3 minutos, e posteriormente, realizada a absorvância a 560 nm em espectrofotômetro. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições do ensaio, e expressas em unidade mg^{-1} de proteína.

2.3.2. Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada segundo a metodologia adotado por Havir et al. (1987), com modificações. O extrato dessa enzima foi obtido a partir de 0,1 g de tecido foliar fresco, realizada com o meio de reação contendo 300 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,5), 2 mM de EDTA e 20 mM de ácido ascórbico com adição de 0,1 g de polivinilpirrolidona (PVPP), perfazendo um volume final de 2000 μL . A reação foi iniciada após a adição de 50 μL do extrato enzimático adicionados a 334 μL de fosfato de

potássio 300 mM (pH 7,5), 250 μ L de peróxido de hidrogênio 12,5 mM e 1366 μ L de água destilada mantidos a 30°C. A atividade da enzima foi determinada em espectrofotômetro, pela redução da absorbância a 240 nm, por um minuto, monitorado pelo decréscimo da concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A unidade da atividade da CAT foi definida como a degradação de 1 μ M de H₂O₂ durante um minuto. O coeficiente de extinção utilizado nos cálculos para esta enzima foi 36 mM⁻¹ cm⁻¹, e expressa como unidade mg⁻¹ de proteína.

2.3.3. Ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da APX foi determinada segundo a metodologia adotada de Nakano; Asada (1981) com modificações. O extrato foi obtido a partir de 100 mg de material foliar fresco, e adicionados em 2 mL do tampão de extração contendo 50 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,5); 2 mM de EDTA; 20 mM de Ascorbato de Sódio; Triton X 100 à 0,1%; 0,1 g de polivinilpirrolidona (PVP), perfazendo um volume final de 2000 μ L. Para a medida de atividade, foi utilizado 50 μ L de extrato adicionado a 334 μ L de tampão fosfato de potássio 300 mM (pH 7,5), 20 μ L de ascorbato de sódio 50 mM, 20 μ L de peróxido de hidrogênio 10 mM e 1576 μ L de água destilada. A atividade da enzima foi determinada pelo acompanhamento decréscimo da concentração de ascorbato de sódio, durante um minuto. A reação oxidativa foi monitorada em espectrofotômetro a 290 nm. Os cálculos foram feitos com o coeficiente de extinção 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹. Os valores foram expressos em unidade mg⁻¹ de proteína.

2.3.4. Malondialdeído (MDA)

O nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares foram medidos em termos do conteúdo de malondialdeído (MDA), segundo método descrito por Dhindsa et al. (1981) com modificações. Foi macerado cerca de 0,1 g com 2000 μ L de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. O homogeneizado foi centrifugado a 10000 g por 10 minutos a 4°C. Alíquotas de 300 μ L do sobrenadante foram adicionadas a 1700 μ L do meio de reação composto por ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) e TCA 10% (m/v), e incubados a 90 °C por 60 minutos com interrupção da reação pelo rápido resfriamento em banho de gelo. Os extratos foram novamente centrifugados sob mesma rotação para clareamento e ausência de interferentes. O MDA foi determinado através da leitura de

absorbância em 530 nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $155 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$. A peroxidação de lipídeos através da quantificação de MDA foi expressa em $\text{nmol g}^{-1} \text{MF}$.

2.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F, nas variáveis bioquímicas foram realizadas análise de regressão polinomial para as doses de TRIA e os regimes hídricos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $p < 0,05$ utilizando-se o programa estatístico computacional Sisvar 5.6.

3. RESULTADOS

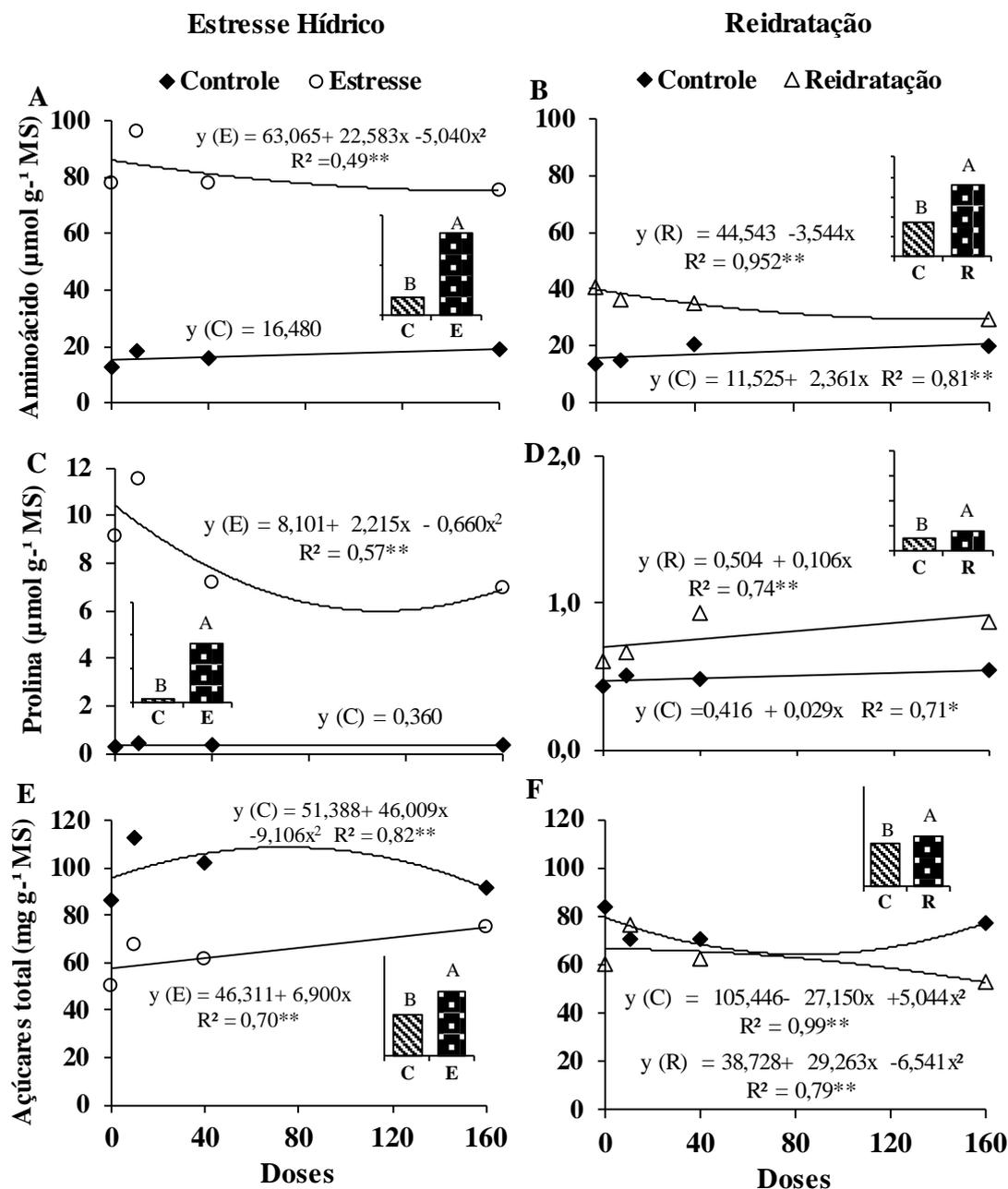
Todas as variáveis bioquímicas diferiram nos tratamentos (Tabela 1). As plantas sob estresse hídrico apresentaram aumento dos osmorreguladores. As plantas submetidas a deficiência hídrica apresentaram maiores teores de aminoácidos em relação as plantas irrigadas (Figura 1A). Observou-se que não houve efeito das doses crescente do TRIA na produção de aminoácidos nas plantas irrigadas (Figura 1A).

Tabela 1- Análise de variância dos atributos bioquímicos: aminoácidos (AA), prolina (Pro), açúcares solúveis totais (CARB), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) ascorbato Peroxidase (APX) e malondialdeído (MDA) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μ M) e submetida ao estresse hídrico, com dois períodos de avaliação, seis dias de deficiência hídrica e posterior reidratação por três dias.

Tratamentos	AA	Pro	CARB	SOD	CAT	APX	MDA
Estresse hídrico							
Regime hídrico (R)	728,5***	2004,7***	166,1***	4,7*	0,016ns	35,5***	27,9***
Triacontanol (TRIA)	5,1**	32,5***	11,8***	6,0**	3,3*	1,4 ns	4,3*
R x TRIA	3,5*	31,7***	5,4**	5,7 **	3,1*	2,5 ns	16,4***
Erro	35	35	35	35	35	35	35
CV (%)	17,1	14,2	11,5	23,2	13,9	17	14,3
Reidratação							
Regime hídrico (R)	376,5***	175,9***	31,5***	83,8***	17,4**	18,4***	2,0 ns
Triacontanol (TRIA)	2,40 ns	19,3***	3,2*	8,9**	7,6**	6,5**	2,1 ns
R x TRIA	16,5***	11,3***	10,4***	16,5***	7,1**	7,3**	0,15 ns
Erro	35	35	35	35	35	35	35
CV (%)	12,3	11,6	11,2	11,26	15,6	12,8	17,7

C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; *: significativo ($P > 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$); ***: significativo ($P > 0,001$).

Figura 2- Concentrações de Aminoácidos (A e B), prolina (C e D) e açúcares solúveis totais (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Nas plantas estressadas que receberam aplicação 10 μM de TRIA mostraram um aumento na concentração de aminoácidos de 23,11% se comparadas com as plantas que receberam a dose de 0 μM (Figura 1 A). Na reidratação as plantas tratadas com a dose

TRIA de 160 μM apresentaram maiores reduções de 27,70% em relação às plantas que receberam a dose 0 μM (Figura 1 B).

A concentração de prolina, de modo geral, foi maior nas plantas sob estresse hídrico que nas irrigadas, independente dos tratamentos de TRIA (Figura 1 C). Sob estresse hídrico a concentração de prolina aumentou nas plantas com dose de 10 μM com acréscimo de 26,08% em relação a dose de 0 μM (Figura 1 C). As plantas que receberam a dose de 160 μM , apresentaram redução na concentração de prolina de 23,87% em relação à dose de 0 μM . Após a reidratação, todas as plantas reduziram a concentração de prolina (Figura 1 D).

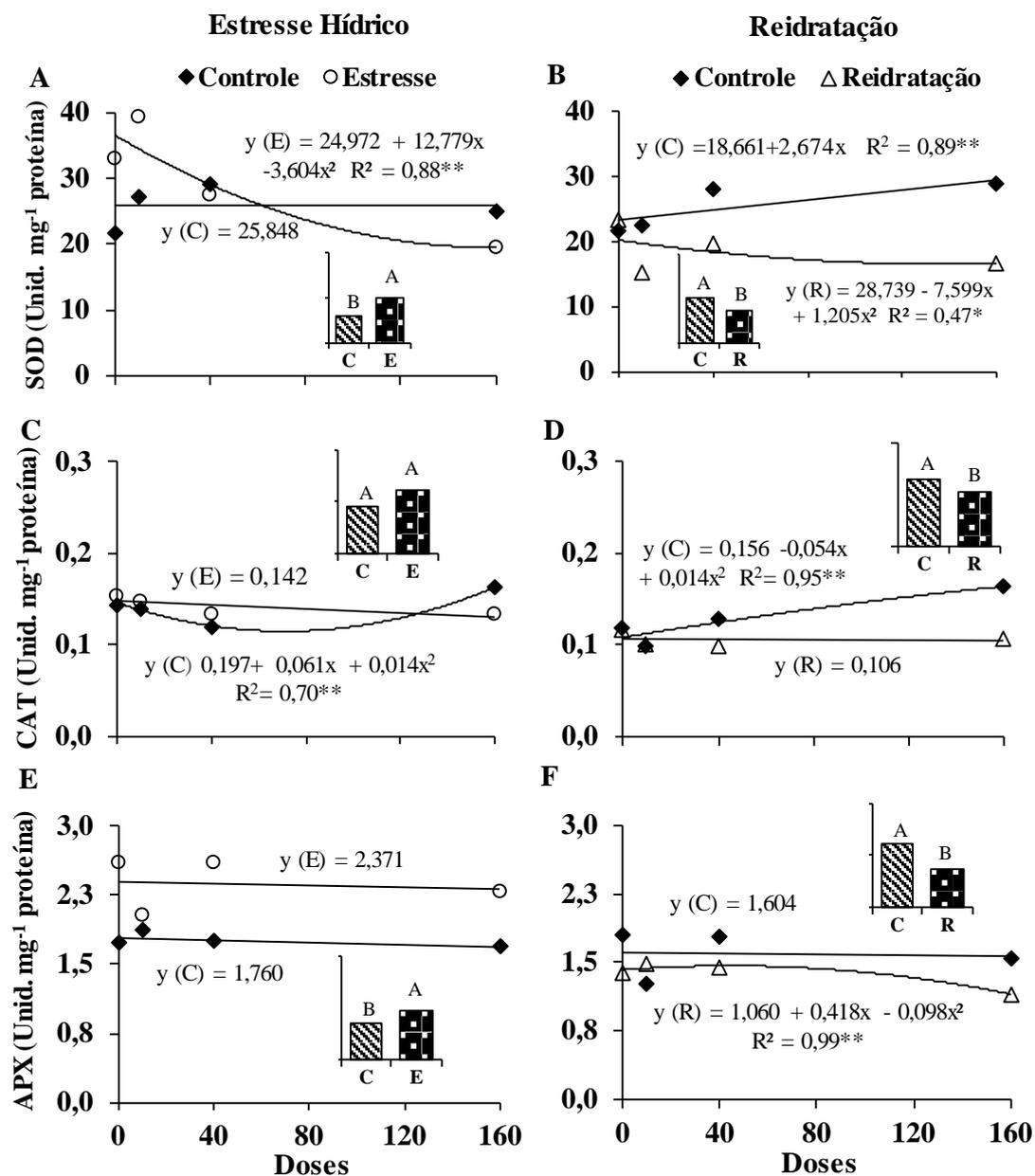
Observou-se maior acréscimo na concentração dos açúcares solúveis em plantas irrigadas que receberam TRIA (Figura 1 E). Nas plantas estressadas, a aplicação de TRIA apresentou um efeito entre as doses, de modo que a dose 10 μM e 160 μM apresentaram maiores incrementos de açúcares de 34% e 50,26% respectivamente (Figura 1 E). Após a reidratação, as plantas que receberam a dose de 10 μM mantiveram elevada concentração de açúcares, ao contrário foi observado na maior dose de 160 μM de TRIA, onde as plantas apresentaram uma redução de 29,49% na concentração de açúcares solúveis totais (Figura 1 F).

As atividades de enzimas antioxidantes das plantas de cana-de-açúcar exibiram diferentes resultados (Tabela 1). As plantas estressadas tratadas com TRIA apresentaram decréscimo na atividade da enzima SOD com o aumento das doses, sendo essa redução mais expressiva na dose de 160 μM de 40,77% quando comparado a dose 0 μM (Figura 2 A). Já as plantas que receberam a dose 10 μM tiveram aumento na taxa de SOD de 19,68% (Figura 2 A).

A atividade de enzima CAT nas plantas de cana-de-açúcar apresentou comportamento semelhante, independente da dose de TRIA aplicadas nas plantas sob condição de estresse e reidratação (Figura 2 C e D). Porém, nas plantas irrigadas tratadas com a maior dose de 160 μM observou-se aumento na atividade da CAT de 13,33% em relação à dose 0 μM na reidratação (Figura 2 D).

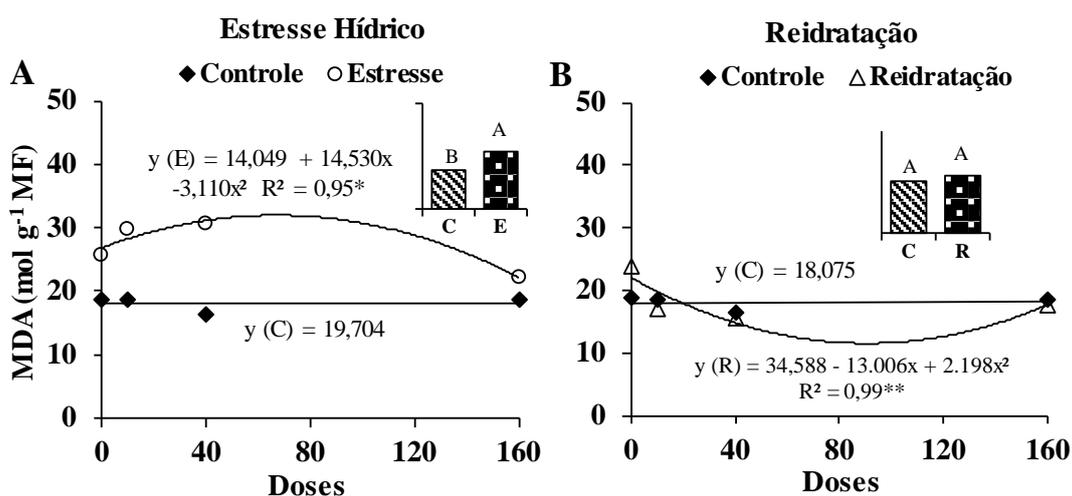
Nas plantas submetidas ao estresse hídrico, a atividade da enzima APX foi maior, de modo geral, com acréscimo médio de 11,62% em relação ao controle (Figura 2 E). Porém, não foi observado variação da enzima APX nas plantas tratadas com doses de TRIA sob estresse hídrico (Figura 2 E).

Figura 3- Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A e B), catalase (CAT) (C e D) e ascorbato peroxidase (APX) (E e F) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Na peroxidação de lipídeos observou-se aumento do MDA nas menores doses em plantas estressadas (Figura 4A). A peroxidação de lipídeos foi menor nas plantas que receberam a dose 160 μM , com redução de 40,15% quando comparado a dose 0 μM (Figura 4A). Nas plantas reidratadas apresentaram redução nas taxas do MDA independente das doses (Figura 4B).

Figura 4- Peroxidação de lipídeos (MDA) (A e B) das plantas de cana-de-açúcar, cultivar RB92579, submetidas a aplicação foliar de TRIA nas doses (0, 10, 40 e 160 μM) nas condições de controle, estresse e reidratação. Gráficos de barra representam médias gerais nas condições controle, estresse e reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



4. DISCUSSÃO

A cana-de-açúcar apresentou aumento nos teores de aminoácido sob estresse hídrico, o que evidencia o estresse na planta. De acordo com Brito et al. (2008), a deficiência hídrica em cana-de-açúcar afeta intensamente o metabolismo do nitrogênio nas plantas, o que acarreta diminuição na síntese de proteínas e aumento nos níveis de aminoácidos. Além disso, os aminoácidos livres podem ser componentes importantes no ajustamento osmótico do ambiente celular de plantas sob condições déficit hídrico (RHEIN et al., 2011).

As doses de TRIA não interferiram nos teores de aminoácidos das plantas estressadas. Em estudo com cultivares de milho tratadas com TRIA, Perveen et al. (2016), não encontraram alteração nos teores de aminoácidos em plantas com e sem estresse. Curiosamente, no presente estudo, as plantas reidratadas e tratadas com a maior dose de TRIA apresentaram menores concentrações de aminoácidos, o que pode indicar que essas plantas que receberam a maior dose apresentaram uma melhor recuperação ao estresse hídrico. Segundo Perveen et al. (2016), os aminoácidos podem ser utilizados para a síntese ou reparação de macromoléculas em plantas tratadas com TRIA.

O estresse hídrico causou o aumento da concentração de prolina nas plantas de cana-de-açúcar. O acúmulo desse osmorregulador pode ocorrer em consequência da maior desidratação nessas plantas. A prolina atua como um osmorregulador importante para processos de ajustamento osmótico, onde se destaca como aminoácido chave nesse processo por ser acumulado em grandes quantidades nas plantas (RHEIN et al., 2011). Segundo vários autores (ERTANI et al., 2013; SANTOS et al., 2015; PERVEEN et al., 2016) a prolina é relevante para a manutenção do estado fisiológico das plantas sob condições de estresse.

Sob estresse hídrico as plantas que receberam a dose de 160 μ M de TRIA, apresentaram redução na concentração de prolina. Esses resultados corroboram com Krishnan; Kumari (2008), os quais observaram baixa concentração de prolina em plantas de soja submetidas ao estresse salino que receberam aplicação foliar de TRIA. De acordo com os autores, o TRIA amenizou o efeito do estresse salino nas plantas de soja, não sendo necessário a atuação expressiva desse osmólito no ajustamento osmótico, o mesmo pode ter acontecido em nosso trabalho em que as plantas que receberam a maior dose de 160 μ M podem ter sofrido menos o efeito do déficit hídrico. Por outro lado, Perveen

et al. (2016), em estudo com cultivares de milho relataram que a aplicação exógena de TRIA aumentou a concentração de prolina livre sob estresse hídrico.

Na reidratação, todas as plantas reduziram a concentração de prolina. De acordo com Vanková et al. (2012), plantas reidratadas percebem as novas condições e expressam rapidamente genes responsáveis pela produção de enzimas que degradam a prolina. A redução de prolina nas plantas reidratadas pode indicar que essas estabeleceram os níveis normais desse aminoácido, recuperando-se do estresse, independente das doses de TRIA.

As plantas tratadas com TRIA tiveram aumento nas concentrações de açúcar solúveis totais nas plantas estressada ou não. O aumento no teor de açúcares solúveis totais foi também observado em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica (SANTOS et al., 2015). Esse estudo sugere que o acúmulo de carboidratos solúveis durante a deficiência hídrica provavelmente está associado aos mecanismos para evitar perda de água na planta através do ajuste osmótico (SANTOS et al., 2015). Krishnan; Kumari (2008) também observaram aumento na concentração de açúcares solúveis totais em plantas de soja tratadas com TRIA quando comparadas com as plantas que não receberam TRIA, ambas sob estresse salino.

Em plantas estressadas, a atividade da enzima SOD foi mais reduzida nas que receberam a maior dose de TRIA, o que sugere que essa dose pode ter contribuído para aliviar os sintomas de estresse no sistema antioxidante da planta. A enzima SOD é considerada a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo e a única enzima capaz de catalisar a dismutação de radicais superóxido (O_2^{\bullet}) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que é posteriormente eliminado pela CAT ou através da APX (MITTLER, 2002; SHARMA et al., 2012).

A atividade da enzima CAT sofreu pouca variação em plantas estressadas. Nesse caso, pode-se sugerir que a deficiência hídrica, junto com a elevada temperatura, ocasionou desnaturação da enzima CAT, por ser considerada uma enzima bastante sensível ao estresse (SANTOS et al., 2015). No presente estudo, a aplicação de TRIA aumentou a atividade da enzima CAT na maior dose em plantas hidratadas. Li et al. (2016) observaram aumento acentuado da atividade da CAT em plantas de arroz, sob condições normais de irrigação, com aplicação de TRIA aos 2, 4 e 8 dias após o transplante, enquanto as plantas que não foram tratadas mostraram diminuição na atividade desta enzima.

As plantas sob estresse hídrico apresentaram aumento na atividade da enzima APX independente dos tratamentos com TRIA. Segundo Maia Júnior (2017) a alta atividade

de APX na cultivar RB92579 indica bom desempenho desta contra o estresse oxidativo promovido pelo estresse. De acordo com Sales et al. (2013) a enzima APX é rapidamente ativada em plantas estressadas, com o propósito de aliviar os danos fotoquímicos. Além disso, a APX atua na eliminação de H_2O_2 que são inacessíveis à enzima CAT, se destacando como enzima chave no controle deste metabólito (NOCTOR; FOYER, 1998; SHARMA et al., 2012).

Entre as plantas reidratadas, verificou-se que não houve variação da atividade das enzimas CAT, APX e SOD, mesmo com o aumento das doses de TRIA, o que pode ter ocorrido devido às plantas terem se recuperado totalmente do estresse oxidativo e hídrico, mantendo o equilíbrio na produção de enzimas no sistema antioxidante da planta.

A peroxidação de lipídeos foi menor nas plantas que receberam a maior dose, o que indica que as plantas que receberam doses de TRIA apresentaram menor degradação de membrana celular. A oxidação lipídica origina diversos produtos secundários que agravam o dano oxidativo, entre eles o malondialdeído (MDA), que é o principal e mais estudado produto da peroxidação lipídica. Portanto, o MDA tem funcionado como um eficiente marcador molecular para designar a peroxidação lipídica em células de plantas submetidas a diferentes estresses abióticos, a citar o estresse hídrico (SHARMA et al., 2012).

Em estudo do efeito da aplicação exógena de triacontanol em milho sob estresse hídrico, Perveen et al. (2016) observaram aumento na produção de CAT e Peroxidases, e diminuição da atividade da SOD e MDA. De acordo com autores o aumento da atividade das enzimas antioxidantes pode ter participado na desintoxicação das espécies reativas de oxigênio, levando a um equilíbrio entre a geração de EROS e captação de EROS, mitigando, assim, os efeitos adversos do estresse hídrico nas plantas.

Nesse estudo pode-se observar que a atividade das enzimas antioxidantes CAT e APX apresentaram comportamento igual em todas as plantas estressadas, independente das doses de TRIA, porém pode-se observar menor produção de SOD e MDA nas plantas estressadas que receberam $160 \mu M$ de TRIA, indicando que essas plantas apresentaram um melhor equilíbrio na modulação de EROS o que deve ter aliviado o estresse oxidativo e hídrico nas plantas que receberam maior dose.

5. CONCLUSÕES

O TRIA não atuou no melhoramento do ajuste osmótico das plantas de cana-de-açúcar. A aplicação foliar de 160 μM de TRIA, parece minimizar os efeitos adversos do estresse oxidativo, uma vez que as plantas estressadas que receberam essa dose reduziram a produção de SOD e a degradação de lipídios na membrana celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZIZ, R.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Influence of foliar application of triacontanol on growth attributes, gas exchange and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under saline stress. **Pakistan Journal of Botany**, v.45, n.6, p.1913-1918, 2013.
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.
- BRITO, L.; SILVEIRA, J. A. G.; TIMÓTEO, A. D. S.; CHAGAS, R.; MACEDO, C. E. C. Alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.683-690, 2008.
- CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, v.3, p.156-165, 2008.
- CIA, M. C.; GUIMARÃES, A. C. R.; MEDICI, L. O.; CHABREGAS, S. M.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, v.161, p.313-324, 2012.
- DHINDSA, R. S.; PLUMB-DHINDSA, P.; THORPE, T. A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. **Journal of Experimental Botany**. v.32, p.93-101, 1981.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. T.; SMITH, F. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.
- ERTANI, A.; SCHIAVON, M.; MUSCOLO, A.; NARDI, S. Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. **Plant and Soil**, v.364, n.1-2, p.145-158, 2013.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; REIS, S. K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol.**, v.59, p.309-314, 1997.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.
- HEMAPRABHA, G.; SWAPNA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJITHA, B.; VENKATARAMANA, S. Evaluation of drought tolerance potential of elite genotypes and progenies of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Tech**, v.15, n1, p.9-16, 2013.
- KRISHNAN, R. R.; KUMARI, B. D. Effect of N-triacontanol on the growth of salt stressed soybean plants. **Journal of Bioscience**, v.19, n.2, p.53-62, 2008.
- LI, X.; ZHONG, Q.; LI, Y.; LI, G.; DING, Y.; WANG, S.; CHEN, L. Triacontanol reduces transplanting shock in machine-transplanted rice by improving the growth and antioxidant systems. **Frontiers Plant Science**, v.7, p.872, 2016.

MAIA JÚNIOR, S. O. Tolerância de cultivares de cana-de-açúcar ao déficit hídrico: relações hídricas, trocas gasosas, fluorescência da clorofila e metabolismo antioxidante. p.167 Tese de doutorado em agronomia (Produção Vegetal), Universidade Federal de Alagoas, 2017.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, **Plant Science**, v.7, n.9, 2002.

NAEEM, M.; KHAN, M. M. A. Triacantanol: a potent plant growth regulator in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, v.7, n.2, p.129-142, 2012.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

NOCTOR, G.; FOYER C. H. Ascorbate and Glutathione: Keeping active oxygen under control. **Annual review plant physiology molecular biology**, v.49, p.249-27, 1998.

PATADE, V. Y.; BHARGAVA, S.; SUPRASANNA, P. Salt and drought tolerance of sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, and antioxidant defense. **Journal of Plant Interactions**, v.6, p.275-282, 2011.

Perveen, S.; Iqbal, M.; Parveen, A.; Akram, M. S.; Shahbaz, M.; Akber, S.; Mehboob, A. Exogenous triacantanol-mediated increase in phenolics, proline, activity of nitrate reductase, and shoot K^+ confers salt tolerance in maize (*Zea mays* L.). **Brazilian Journal of Botany**, v.40, n.1, p.1-11, 2017.

PERVEEN, S.; IQBAL, M.; NAWAZ, A.; PARVEEN, A.; MAHMOOD, S. Induction of drought tolerance in *Zea mays* L. by foliar application of triacantanol. **Pakistan Journal of Botany**, v.48, n3, p.907-915, 2016.

PERVEEN, S.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Triacantanol-induced changes in growth, yield, leaf water relations, oxidative defense system, minerals, and some key osmoprotectants in *Triticum aestivum* under saline conditions. **Turkish Journal of Botany**, v.38, n.5, p.896-913, 2014.

QUEIROZ, R. J. B.; SANTOS, D. M. M. D.; FERRAUDO, A. S.; CARLIN, S. D.; SILVA, M. D. A. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. **Scientia Agricola**, v.68, n.4, p.469-476, 2011.

RHEIN, A. F. L.; SANTOS, D. M. M.; DOMCARLIN, S. D. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob os estresses hídrico e ácido no solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n. 4, p.1345-1360, 2011.

SALES, C. R.; RIBEIRO, R. V.; SILVEIRA, J. A.; MACHADO, E. C.; MARTINS, M. O.; LAGÔA, A. M. M. Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.326-336, 2013.

SANTOS, C. M.; SILVA, M. A.; LIMA, G. P. P.; BORTOLHEIRO, F. P. A. P.;

BRUNELLI, M. C.; HOLANDA, L. A.; OLIVER, R. Physiological changes associated with antioxidant enzymes in response to sugarcane tolerance to water deficit and rehydration. **Sugar Tech**, v.17, n.3, p.291-304, 2015.

SHAHBAZ, M.; NOREEN, N.; PERVEEN, S. Triaccontanol modulates photosynthesis and osmoprotectants in canola (*Brassica napus* L.) under saline stress. **Journal of Plant Interactions**, v.8, p.350-359, 2013.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stress ful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-26, 2012.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SANTOS, C. M. D.; JADOSKI, C. J.; SILVA, J. A. G. D. Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.56, p.735-748, 2013.

VANKOVÁ, R.; DOBRÁ, J.; ŠTORCHOVÁ, H. Recovery from drought stress in tobacco: an active process associated with the reversal of senescence in some plant parts and the sacrifice of others. **Plant Signaling & Behavior**, v.7, n.1, p.19-21, 2012.

YEMM, E. W.; COCKING, E. F. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v.80, p.209-213, 1955.

ZHAO, D.; LI Y-R. Climate change and sugarcane production: potential impact and mitigation strategies. **International Journal of Agronomy**, v.2015, p.1-10, 2015.