



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
BACHARELADO EM AGRONOMIA

JACKELYNE GOMES PEREIRA BATISTA

**USO DE MICRONUTRIENTES E ACIDO SALICILICO COMO MEIO DE
REDUZIR OS IMPACTOS DO DEFICIT HIDRICO NA CANA-DE-AÇÚCAR**

Recife, 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
BACHARELADO EM AGRONOMIA

JACKELYNE GOMES PEREIRA BATISTA

**USO DE MICRONUTRIENTES E ACIDO SALICILICO COMO MEIO DE
REDUZIR OS IMPACTOS DO DEFICIT HIDRICO NA CANA-DE-AÇÚCAR**

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) realizado como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia por Jackelyne Gomes Pereira Batista, realizado sob orientação do Professor Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira.

Recife, 2023

Seja forte e corajoso. Jó 1:9



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
BACHARELADO EM AGRONOMIA

JACKELYNE GOMES PEREIRA BATISTA

**USO DE MICRONUTRIENTES E ACIDO SALICILICO COMO MEIO DE
REDUZIR OS IMPACTOS DO DEFICIT HIDRICO NA CANA-DE-AÇÚCAR**

Curso: Agronomia

Aluna: Jackelyne Gomes Pereira Batista

Matrícula: 108.631.354-20

Local do estágio: Universidade Federal Rural De Pernambuco, Recife-PE.

Setor: Departamento de Agronomia

Área de conhecimento: Nutrição mineral de plantas

Orientador: Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

Supervisor: Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

Período de estágio: 03/07/2023 a 26/08/2023

Carga horária: 210 horas

Recife, 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
BACHARELADO EM AGRONOMIA

USO DE MICRONUTRIENTES E ACIDO SALICILICO COMO MEIO DE
REDUZIR OS IMPACTOS DO DEFICIT HIDRICO NA CANA-DE-AÇÚCAR

JACKELYNE GOMES PEREIRA BATISTA

NOTA DA BANCA EXAMINADORA: _____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

Professor Adjunto – UFRPE

(Orientador)

Antonio Eduardo Freire Damasceno

Engenheiro Agrônomo – Japungu Agroindustrial

Recife, 2023

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Luzinalva Pereira, aos meus irmãos, Thiago De Melo, Felipe de Melo, Leandro de Melo, Lucas Batista e Thalita Batista, ao meu noivo Eduardo Damasceno que me apoiaram e incentivaram para ser quem eu sou hoje e chegasse até aqui. A vocês, minha eterna gratidão, que expressei e continuarei expressando ao longo da minha caminhada. Vocês são minha base, minha motivação.

Aos meus amigos da Agronomia, que conviveram comigo durante cinco anos, me incentivaram, inspiraram e motivaram a querer cada dia ser uma profissional melhor. Em especial agradeço a Larissa Silva, Arielena Melo, Douglas Nunes, José Fernandes, Luara Gomes, Ramon Aragão, Isabella Andrade e Laíse Lima pela companhia, pela partilha e paciência. Vocês são exemplos de dedicação, força de vontade e simplicidade.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa e Extensão em Nutrição de Plantas, Adubação e Fertilidade do Solo – GNAF, aos antigos Eduardo Damasceno, Marcelo Mendonça, Franciely Macedo e aos recentes, Amanda Lima, Crissogno Mesquita, Joel Andrade, Joyse Matos e tantos outros que me ensinam todos os dias, compartilham emoções e desafios. Nós crescemos juntos.

Ao meu orientador e Coordenador do GNAF, o professor Emídio Oliveira, pela orientação, pelo privilégio do convívio e amizade, pelo estímulo e inspiração, pela confiança no meu trabalho, que foi fundamental para minha formação. Sem a seu trabalho e sua dedicação ao que faz, nada seria possível, os outros integrantes do grupo de pesquisa e eu, não teríamos vivido o sonho de praticar o curso, ainda no curso. Seu trabalho fez toda a diferença em nossas vidas, em minha vida, Muito Obrigada!

À Stoller, na pessoa do Eng. Agrônomo Igor Furtado, por me proporcionar todo o suporte para o desenvolvimento dessa pesquisa em nome da empresa, sendo essa uma escola, onde pude contribuir, mesmo que pouco, para levantar resultados significativos no setor canavieiro do Nordeste.

À Japungu Agroindustrial, aos Eng. Agrônomos Dante Hugo, Wagner Moura e Eduardo Damasceno. À equipe do escritório agrícola, e trabalhadores do campo.

À Deus, que sempre foi bondoso, amigo e acolhedor. Que me ensinou a ser paciente, destemida e forte. Tudo que já conquistei, devo a Ti.

*À minha mãe e meus irmãos, por serem exemplos de força e determinação,
dedico.*

Sumário

APRESENTAÇÃO	11
CANA-DE-AÇÚCAR	12
DEFICIENCIA HIDRICA	14
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	17
Malondialdeído (MDA)	17
RESPOSTAS ANTIOXIDANTES	17
Superóxido dismutase (SOD)	18
Catalase (CAT)	19
Ascorbato Peroxidase (APX)	19
Ácido salicílico (AS)	20
Proteínas totais	20
OBJETIVO.....	21
MATERIAIS E METODOS	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
i. Avaliação visual.....	25
ii. Clorofila	28
iii. Proteínas totais e peroxidação lipídica	30
iv. Atividades de enzimas antioxidantes	32
v. Biometria	36
CONCLUSÃO	38
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
REFERENCIAS	40

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho resulta da vivência de estágio supervisionado obrigatório, realizado no período de 03 de julho a 26 de agosto de 2023, na Universidade Federal Rural de Pernambuco-SEDE. Nesse período foram realizadas amostragens para determinação enzimática nas folhas de cana-de-açúcar e levantamento biométrico para acompanhamento da biomassa.

CANA-DE-AÇÚCAR

O Brasil é o líder mundial na produção e na exportação de cana-de-açúcar, uma cultura muito relevante para o país. A partir da cana-de-açúcar, é possível obter diversos produtos, como açúcar, etanol, rapadura, melado, aguardente e outros. Além disso, ela é cultivada em diferentes regiões do Brasil, seguindo dois períodos de safra: de agosto a março, no norte e no nordeste, e de abril a novembro, no centro-sul.

A maior concentração do cultivo de cana-de-açúcar no Brasil está no estado de São Paulo, seguido por Goiás e Minas Gerais. Contudo, vem avançando cada vez mais em diversas regiões do país, ocupando áreas cujo clima e atributos do solo variam consideravelmente, sendo o cultivo condicionado muitas vezes a ambientes limitantes. Esses fatores podem afetar negativamente a produtividade, a qualidade e a rentabilidade da cultura. Por isso, é fundamental conhecer as características da cultura e as condições ambientais que influenciam o seu desenvolvimento, bem como as tecnologias e as práticas de manejo que podem melhorar o seu desempenho.

Dados divulgados no Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE/BNB, informam que a região Nordeste é a terceira maior produtora de cana-de-açúcar do país, respondendo por cerca de 7% da produção nacional. Os principais estados produtores de cana-de-açúcar nessa região são Alagoas, Pernambuco e Paraíba, que juntos representam mais de 75% da produção regional.

O cultivo da cana-de-açúcar traz benefícios econômicos e sociais para o nordeste, mas também enfrenta desafios como a concorrência internacional, a variação dos preços do açúcar e do etanol, os impactos ambientais e as condições climáticas. Por isso, é importante investir em pesquisa e tecnologia para melhorar a qualidade e a produtividade da cana-de-açúcar na região. Nesse sentido, o uso de novas tecnologias estão cada vez mais atuantes no mercado, visando minimizar os efeitos das condições adversas que condicionam a cana-de-açúcar ao estresse, seja ele biótico ou abiótico.

A cana-de-açúcar é uma cultura que possui alta demanda de água para o seu desenvolvimento, mas também pode sofrer com os efeitos das mudanças e extremos climáticos, como secas, geadas, inundações e altas temperaturas. Esses fatores podem afetar negativamente a produtividade, a qualidade e a rentabilidade da cultura. Por exemplo, as secas podem reduzir a disponibilidade de água no solo e aumentar a evapotranspiração das plantas.

A necessidade hídrica da cana-de-açúcar varia de acordo com as variedades cultivadas e o estágio do desenvolvimento do canavial. Em média, a cultura tem necessidade hídrica de 1.500 a 2.500 mm de água por ano, divididos de acordo com a demanda de seu crescimento. O consumo diário varia entre 2 a 6 mm de água nas principais regiões produtoras do país. A necessidade hídrica da cultura é influenciada por fatores como o clima, o solo, o manejo e as características genéticas da planta. O clima determina a evapotranspiração potencial da cultura, que é a soma da evaporação da água do solo com a transpiração das plantas. O solo determina a capacidade de armazenamento e disponibilidade de água para as plantas. O manejo determina as práticas que podem influenciar no consumo e na conservação da água pela cultura. As características genéticas da planta determinam a sua adaptação às condições ambientais e a sua resposta ao estresse hídrico.

Na região dos tabuleiros costeiros da Paraíba há limitação de água no solo e dependendo da fase fenológica da cultura, o déficit hídrico poderá causar um estresse, comprometendo a produtividade da cultura da cana-de-açúcar. Em resposta a essa condição de cultivo, há na redução do desenvolvimento e potencial de produção das plantas. Além da ocorrência de uma baixa precipitação associada a elevadas temperaturas e radiação solar, bem como, ausência no manejo da irrigação, afetam significativamente os parâmetros produtivos (HOLANDA et al. 2015)

Diante desse contexto o uso e posicionamento adequando de tecnologias promotoras de crescimento e manejo em ambientes de déficit hídrico pode contribuir para respostas promissoras em diferentes condições de cultivo de cana-de-açúcar, buscando altas produtividades e longevidade dos canaviais.

DEFICIENCIA HIDRICA

O estresse hídrico é um dos principais desafios enfrentados na cultura da cana-de-açúcar, especialmente em regiões com limitação de água, como ocorre no Nordeste brasileiro. O termo "estresse hídrico" refere-se à ausência de umidade necessária para as plantas crescerem normalmente e completar o seu ciclo de vida. Essa deficiência hídrica acarreta danos a membrana, proteínas e organelas, além de reduzir suas atividades, resultando na desnaturação quando desidratadas.

A cana-de-açúcar necessita de 1.500 a 2.500 mm de água por ano para garantir um desenvolvimento adequado. Contudo, a sazonalidade das chuvas, com precipitações volumosas em uma época do ano e escassez hídrica na "época seca" afetam o pleno desenvolvimento das plantas que possuem uma demanda constante por água.

As fases mais sensíveis da cultura ao estresse hídrico são o perfilhamento, em que ocorre a formação de novos colmos a partir de gemas basais, e o estágio inicial do crescimento vegetativo. Nesses momentos cruciais, a carência de água pode afetar negativamente o crescimento das raízes e colmos, impactando no armazenamento de açúcar e reduzindo a produtividade da cultura.

As plantas sob estresse hídrico nas fases iniciais de desenvolvimento podem apresentar crescimento reduzido de raízes e parte aérea, além de baixo perfilhamento (número de colmos por touceira), o que implica em menor capacidade de absorção de água e nutrientes, baixa eficiência fotossintética e baixa densidade de plantas por área. Isso resulta em perdas produtivas que podem chegar a valores superiores a 70% do rendimento da cultura (Dias e Sentelhas, 2018).

Além disso, ao final do ciclo da cana-de-açúcar, o estresse hídrico funciona como um indutor da maturação, resultando em menor tempo disponível

para o acúmulo de açúcar nos colmos. Isso pode promover uma redução da qualidade da matéria-prima final.

Dessa forma, para tolerar o estresse hídrico, a cana-de-açúcar desenvolve alguns mecanismos como o ajuste osmótico, que permite a retenção de água nas células da planta durante períodos de seca, a síntese de compostos orgânicos solúveis que protegem a planta contra danos, a produção de antioxidantes para combater o estresse oxidativo, e a regulação da expressão gênica para responder às condições desfavoráveis.

Uma técnica muito comum para garantir o mínimo de produção do canavial é o uso da irrigação de salvação. Ela acontece em quase toda área agrícola, onde não recebe uma irrigação plena. É caracterizada por uma extensa rede de canais abertos e tubulações fixas e móveis, em virtude da presença de vários corpos hídricos localizados dentro do perímetro da usina. Assim, é possível denominar esse cultivo que recebe apenas uma lâmina de água durante seu ciclo, como “sequeiro”. Normalmente, ocorre nas áreas mais afastadas de corpos hídricos, em que a logística de irrigação se torna complexa e a demanda por água nessas regiões torna-se alta pela extensão da área a ser irrigada.

ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é um processo natural que ocorre com todo o ser vivo que está condicionado a situações e/ou ambientes incomuns para o seu desenvolvimento. Isso acarreta um desequilíbrio na produção de compostos que não são úteis para a vida, denominados de radicais livres. Quando produzidos em excesso, a depender do nível do estresse, podem promover danos celulares, podendo ser até irreparáveis. Contudo, a natureza se encarrega de “manter a vida” através de mecanismos de defesas que combatem a produção desses radicais livres.

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ocorre por meios de reações de oxirredução, nas quais o oxigênio molecular é reduzido por meio da transferência de elétrons, ou seja, é um processo de transformação do oxigênio molecular (O_2) em água (H_2O), e durante este processo, há a geração de

espécies reativas de oxigênio, uma vez que uma pequena parte (0,2 a 2%) do oxigênio molecular é parcialmente reduzido. Sua produção ocorre em organelas celulares como as mitocôndrias, peroxissomos e cloroplastos.

Elas estão associadas a processos metabólicos como a fotossíntese, a respiração e a fotorrespiração. O ERO pode se apresentar como um radical livre ou na forma molecular de um não radical. Elas são geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singleto (1O_2), adições de elétrons ao O_2 , causando sua redução ao superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroperoxila (HO_2^{\bullet}) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\bullet}) (Baldo et al., 2011; Barbosa et al., 2014; Yaqoob et al., 2022).

Uma das fontes de ERO nas células é a cadeia transportadora de elétrons, que ocorre na membrana interna das mitocôndrias durante a respiração aeróbica. Nessa cadeia, o oxigênio é o aceptor final de elétrons e forma água. No entanto, em algumas situações, o oxigênio pode receber um ou dois elétrons antes de formar água, gerando o ânion superóxido ou o peróxido de hidrogênio, respectivamente.

Outra fonte de EROs nas células é a fotossíntese, que ocorre nos cloroplastos das plantas. Nesse processo, o oxigênio é liberado pela fotólise da água no fotossistema II (PSII). Esse oxigênio pode ser reduzido pelo NADPH no fotossistema I (PSI), formando o ânion superóxido, em uma reação conhecida como reação de Mehler, 1951. Além disso, quando a concentração de CO_2 é baixa, as plantas realizam a fotorrespiração, quando o glicolato formado pela RuBisCo é oxidado nos peroxissomos pela glicolato oxidase, produzindo peróxido de hidrogênio (Pell & Dann, 1990).

Uma terceira fonte de EROs nas células é a reação de Fenton, que ocorre na presença de íons metálicos como ferro e cobre. Esses íons podem catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e radical hidroxila, que é a ERO mais reativa e danosa para as biomoléculas (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O H₂O₂, não é um radical livre, por não apresentar um elétron desemparelhado na sua última camada eletrônica, porém é moderadamente reativo. Nas células, mantém-se no citoplasma em concentrações suficientes para alcançar o núcleo celular (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

Além disso, participa da reação de geração de OH•, que tem ação deletéria nas células, isso porque é o mais reativo dos radicais livres, podendo alterar qualquer estrutura celular que se encontre próxima. E por apresentar vida longa, diferentemente dos radicais livres, sua capacidade de atravessar as membranas celulares contribui significativamente para seu potencial de toxicidade, podendo ela ser aumentada pela presença de íons de Ferro (BARBOSA *et al.*, 2010).

Malondialdeído (MDA)

O malondialdeído é um composto orgânico que pode ser formado a partir da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados (lipídios) presentes nas membranas das células, formando produtos reativos que podem danificar outras biomoléculas, como o DNA e proteínas. Ou seja, é um produto do processo da peroxidação lipídica, que pode causar alterações das propriedades da membrana celular como fluidez, transporte de íons e atividade enzimática. Por isso, é utilizado para estimar a intensidade da peroxidação de lipídeos, avaliar o estresse oxidativo (Cakmak and Horst 1991).

RESPOSTAS ANTIOXIDANTES

Os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, são estratégias desenvolvidas pelas plantas para combater às ERO, evitando suas formações e promovendo suas degradações. Entretanto, este equilíbrio pode ser alterado quando a planta passa por estresses, gerando um aumento significativo na geração de ERO (GUARATINI, 2007).

Os danos celulares ocasionados pela deficiência hídrica podem promover mudanças a nível genético nas células, portanto, seu reparo se dá por meio de enzimas de combate ao estresse oxidativo, como também por chaperonas, que são proteínas que auxiliam no reparo de outras proteínas (Caverzan, 2008).

Os sistemas de desintoxicação enzimática, envolvem enzimas como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a peroxidase (POD), que convertem as EROs em moléculas menos reativas, assim é possível inibir ou reduzir os danos causados nas células.

Tabela 01. Ações e mecanismos de substâncias antioxidantes enzimáticos.

Enzimas	Ação
SOD	SOD-Cu/Zn (citoplasma), SOD-Mn (mitocôndria). Catalisa a conversão do radical superóxido ($O_2\bullet$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2)
CAT	Catalisa a conversão de H_2O_2 em O_2 e H_2O
APX	Catalisa a redução do H_2O_2 a H_2O

Adaptado de Rev. Nutr., Campinas, 23(4):629-643, jul./ago., 2010.

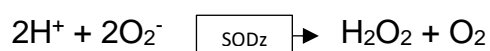
As atividades das enzimas citadas na tabela 01 depende da participação de co-fatores enzimáticos, os quais muitas vezes devem ser fornecidos no plantio ou via foliar. Tais co-fatores podem diferir de acordo com os compartimentos celulares de ação das enzimas. A SOD pode ser encontrada no citoplasma, onde dependente de cobre e zinco (SOD-Cu/Zn), enquanto na mitocôndria, necessita do manganês como co-fator (SOD-Mn). A APX, por sua vez é dependente do Ascorbato.

Superóxido dismutase (SOD)

A SOD é uma das principais enzimas utilizadas no combate ao dano oxidativo das espécies reativas de oxigênio. Sendo a primeira intermediária do combate ao estresse oxidativo, formado pela adição de um elétron e sofre dismutação espontânea, mas também catalisa a dismutação do $O_2\bullet$ em H_2O_2 .

Essa enzima pode estar ligada a íons metálicos como o Cu/Zn, Mn, Fe e Ni. A Cu/ZnSOD encontrada no citosol de células eucarióticas, em cloroplastos e alguns procariotos. A MnSOD, encontradas em procariotos e nas mitocôndrias. A FeSOD é encontrada em procariotos algas e alguns cloroplastos de plantas superiores. Enquanto o NiSOD, encontradas em *Streptomyces* (gênero de bactérias importantes na decomposição de matéria orgânica e na produção de substâncias como antibióticos, antifúngicos e herbicidas) (SCANDALIOS, 2005).

As plantas apresentam múltiplas formas de cada tipo de SOD, nos vários compartimentos celulares, sendo codificadas por mais de um gene.



Catalase (CAT)

Os danos causados pelo estresse oxidativo aos aminoácidos e gorduras, resultam na produção de radicais livres e peróxidos de hidrogênio (H_2O_2). Como forma de defesa, as células formam peroxissomos, que são pequenas vesículas envoltas por membrana, onde ocorrem as reações devido a grande quantidade de CAT, como citado por Lehninger et al. (1995); Lam et al. (1995) e Atli & Canli (2007).

Nas plantas a enzima CAT faz parte do sistema de defesa antioxidante primário e catalisam a conversão do peróxido de hidrogênio em água. Parte da sua importância se dá porque ela atua sobre o H_2O_2 produzido antes mesmo de ser difundido para atuar em outras partes das células.



Ascorbato Peroxidase (APX)

As APXs são enzimas que apresentam alta especificidade por Ascorbato como substrato redutor e catalisam redução de peróxido de hidrogênio em água, incluindo os peróxidos de hidrogênio gerados pelas reações de oxirreduções. Contudo, essa alta especificidade promove uma dependência, assim eles agem em conjunto com o Ciclo do ascorbato-glutationa, que tem a função de proteger

os compartimentos celulares contra os danos oxidativos causados pelas EROs nos diferentes compartimentos celulares (CAVERZAN, 2008).

Sua principal atuação ocorre nos cloroplastos (ChLAPX), por ser uma fonte redutora de H₂O₂ produzido pela fotossíntese. Mas também pode atuar no citosol (cAPX), combatendo diferentes tipos de estresses; nos peroxissomos/glioxissomos (mAPX), eliminando o H₂O₂ produzido pela fotorespiração; e também atua nas mitocôndrias (miAPX), eliminando o H₂O₂ produzido durante a respiração (MANO, et al., 1997; YOSHIMURA, *et al.*, 2000; SHIGEOKA *et al.*, 2002; MADHUSUDHAM *et al.*, 2003 MITTOVA *et al.*, 2004). Sendo assim, pode-se dizer que os compartimentos enzimáticos podem funcionar de formas independentes em diferentes compartimentos celulares, mas podem também cooperar uns com os outros.

Ácido salicílico (AS)

O ácido salicílico (ácido 2-hidróxibenzóico) é um fitohormônio sintetizado nas plantas, translocado via floema (Kawano e Bouteau 2013). Esse hormônio é considerado um elicitor, ou seja, uma molécula capaz de induzir respostas no sistema de defesa das plantas (Nürnberger 1999). O reconhecimento de elicitores é realizado por proteínas transmembranas que atuam como receptores (Montesano et al. 2003). E quando reconhecida, é iniciada uma resposta de defesa, que envolve uma complexa cascata de sinais mediada por outras proteínas.

O AS tem função de molécula sinalizadora, para a indução de respostas de defesa, fundamental para a cascata de sinais que levam à resposta sistêmica, atuando na síntese de enzimas envolvidas na produção de compostos de defesa, na ativação da expressão de genes que codificam as proteínas RP e na regulação da explosão oxidativa (Nürnberger et al. 2004; Wu and Baldwin 2010).

Proteínas totais

As proteínas totais são um conjunto de todas as proteínas presentes nas células, que desempenham diversas funções essenciais para o metabolismo, como na defesa e na regulação da expressão genica. Os radicais livres produzidos pela presença de compostos tóxicos no organismo reagem com lipídeos, proteínas ou ácidos nucléicos e resultam em diversas injúrias bioquímicas ou genéticas. Sendo esse, um meio de identificação de danos, através de sua degradação no processo de peroxidação lipídica.

OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta da cana-de-açúcar cultivada em sequeiro, condicionada ao estresse hídrico associada ao uso de doses crescentes de uma tecnologia pré-seca da Stoller®, o Re-Leaf. Essa tecnologia é uma solução que atua na defesa natural da planta, aumentando a sua eficiência em condições adversas, prometendo incremento na produção, além de aumentar a resistência da planta contra doenças e estresses ambientais.

MATERIAIS E METODOS

O campo experimental foi instalado em área comercial de cana-de-açúcar sob cultivo de sequeiro na Japungu Agroindustrial, situada no município de Santa Rita – PB, na Fazenda São Felipe, talhão 19. De acordo com o sistema Koppen, o clima dominante na região é o Tropical As', com inverno chuvoso e verão seco. A precipitação anual média na fazenda de implantação do experimento foi de 1.215 mm, no que se refere a safra anterior de 2022/2023. Desde o plantio, a precipitação acumulada (**Gráfico 01**) na Fazenda São Felipe foi de 1.265 mm, além disso essa área recebeu uma lâmina de salvação de 80 mm para germinação das gemas e posteriormente, aos 170 dias após o plantio (DAP) para manutenção hídrica desse canavial.

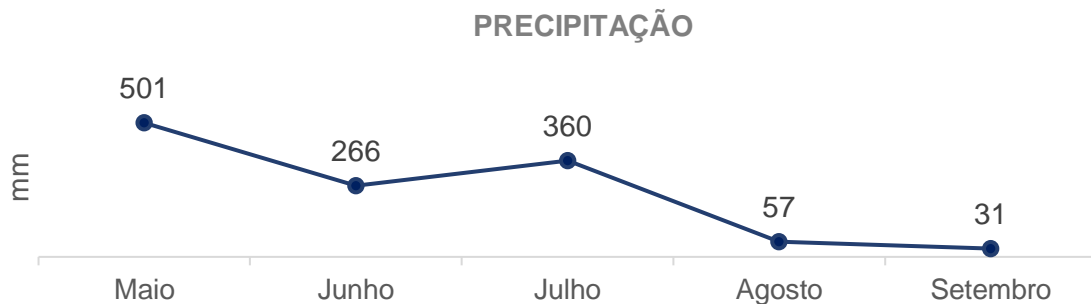


Gráfico 01. Precipitação pluviométrica na fazenda São Felipe, desde o plantio a aplicação foliar dos tratamentos pré-seca. Safra 2022/2023. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

O experimento foi implantado no dia 15 de setembro de 2022, em cana planta, variedade RB 92579 aos 120 dias após o plantio (DAP). O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados com quatro tratamentos e três repetições, totalizando 12 parcelas experimentais. Cada parcela experimental foi constituída por uma faixa de cultivo de 1,5 ha com 7 linhas duplas de cana-de-açúcar espaçadas a 0,8 x 1,4 m com 1000 m de comprimento (**Figura 01**).

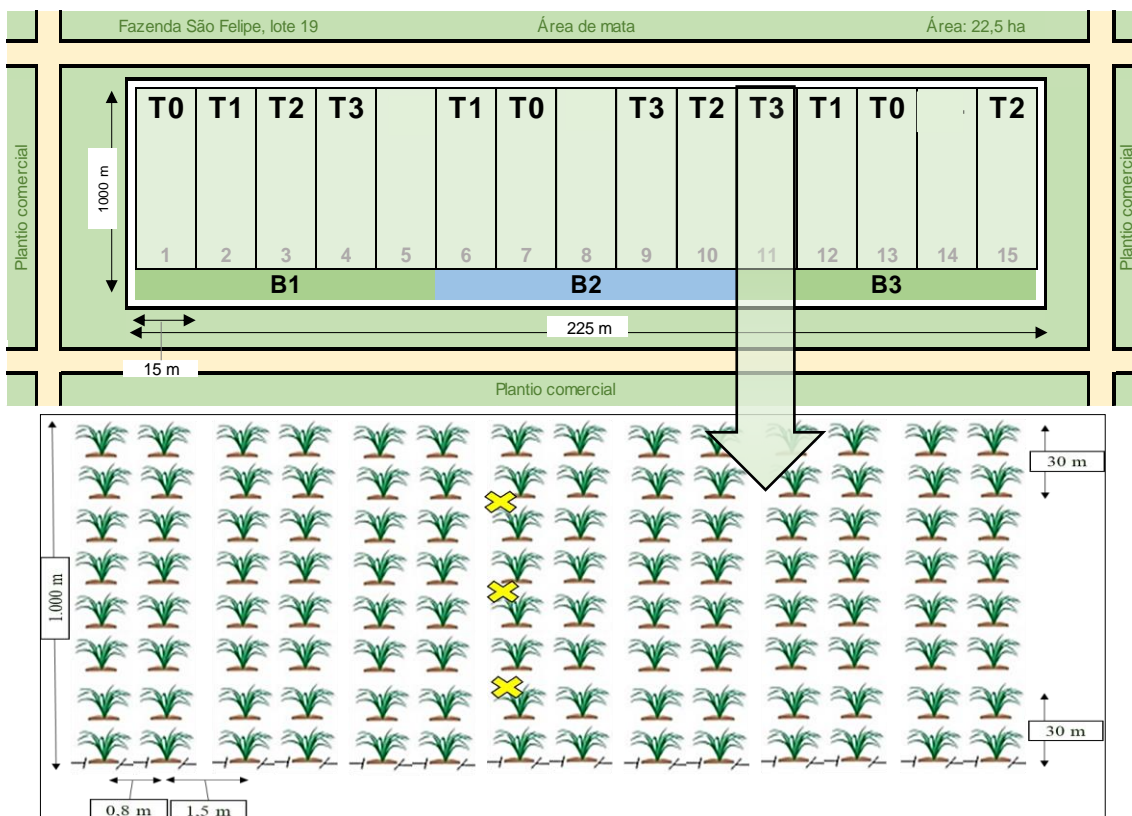
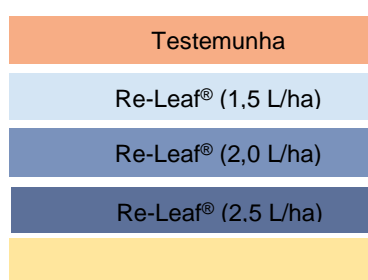
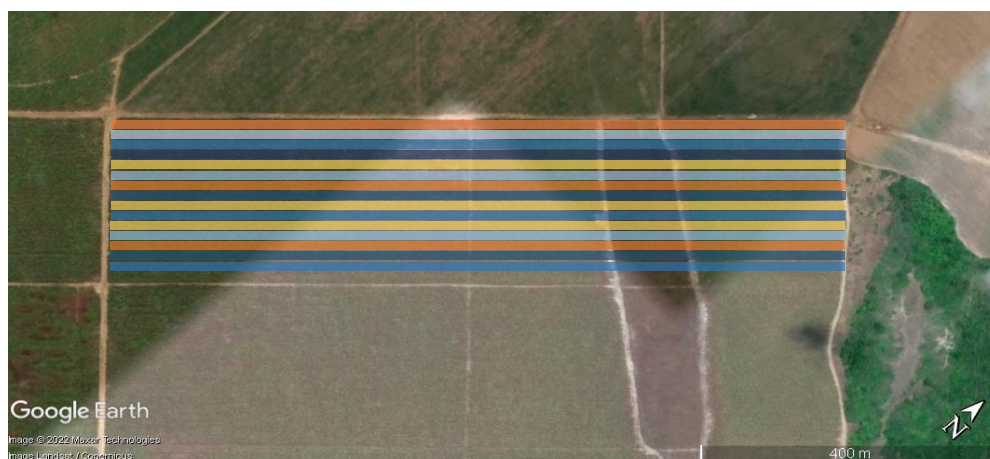


Figura 01. Croqui da área experimental. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

Os tratamentos consistiram no uso de diferentes doses do produto comercial Re-Leaf® (Imagem 01 e Tabela 02). A aplicação foliar foi realizada com uso do Uniport. Os tratamentos foram distribuídos ao acaso em quatro faixas de 1,5 hectares cada uma, com três repetições, com delineamento experimental de blocos casualizados (Figura 01), totalizando 22,5 hectares de campo experimental. As doses utilizadas foram de acordo com as recomendações do fabricante para a cultura da cana-de-açúcar.



● Pontos de avaliação

Imagem 01. Representação esquemática do campo experimental e distribuição dos respectivos tratamentos em faixa, situado na Fazenda São Felipe, talhão 19. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

Tabela 02. Tratamentos Stoller® Pré-seca que buscam promover menores efeitos do estresse hídrico na cultura da cana-de-açúcar.

Tratamentos	Doses do Re-Leaf®
T0	0,0 L/ha
T1	1,5L/ha
T2	2,0L/ha
T3	2,5L/ha

Tabela 03. Garantias do Re-Leaf®.

Composição	%	g/L
Cu	0,5	6,1

Zn	6,0	73,2
AS	*	*

+* Não informado pela Stoller®.

A área experimental recebeu uma lâmina de irrigação de 80 mm, entre 30 e 60 dias após a aplicação foliar, sendo essencial para continuidade do experimento. Considerando isso, a precipitação acumulada na área desde a aplicação até o dia do último dia de amostragem de folha foi de 340 mm (Gráfico 02).

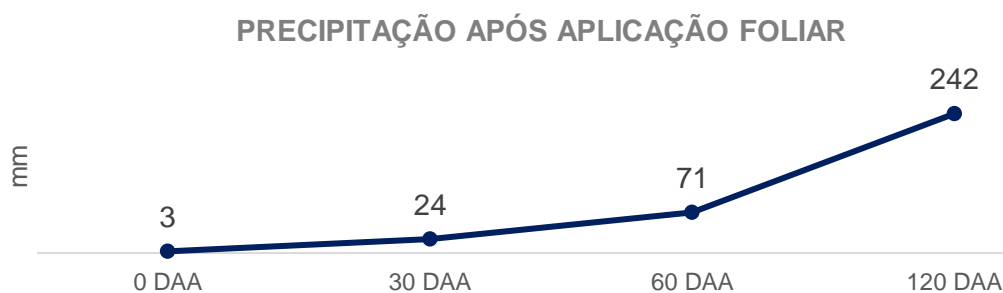


Gráfico 02. Precipitação da fazenda São Felipe, desde a aplicação foliar do tratamento pré-seca até o último dia de amostragem foliar. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

As variáveis analisadas foram biometria, clorofila e atividade enzimática das folhas (Proteínas totais, SOD, CAT, APx e MDA).

As amostragens de folhas +1 para análise enzimática e leitura de clorofila foi realizado nos intervalos de 30, 60 e 120 dias após aplicação foliar, as quais foram congeladas em nitrogênio líquido para análises bioquímicas. A biometria foi realizada ao final do ciclo, aos 360 DAP, o qual foi determinado a massa fresca das plantas.



Imagem 02. Frente do experimento.



Imagem 03. Final do experimento.



Imagem 04. Tecnologias usadas no campo experimental; (A) Re-leaf e (B) Aplicação foliar.

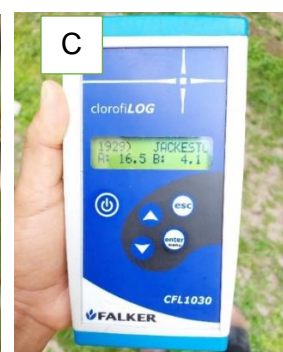
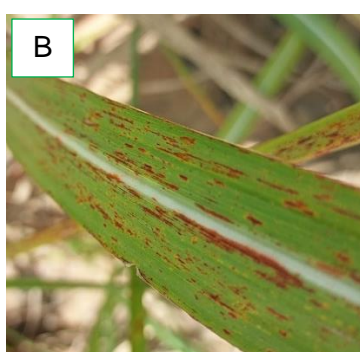


Imagem 05. Avaliações feitas no campo experimental; (A) Distribuição das gotículas de aplicação na folha (B) Sanidade das plantas e (C) Fluorescência da clorofila na folha +1.

A normalidade dos dados (Teste de Shapiro-Wilk) e a homogeneidade da variância (Teste de Levene) foram avaliadas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com base no teste F; quando o teste-F foi significativo ($p < 0,10$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade, utilizando-se do software SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

i. Avaliação visual

Dia da aplicação foliar



Início do talhão



Meio do talhão



Final do talhão

15 dias após aplicação foliar



Início do talhão



Folha +1 com sintoma de estresse avançado

30 dias após aplicação foliar



Meio do talhão



Folha +1 com sintoma de estresse moderado

45 dias após aplicação foliar



Início do talhão



Meio do talhão



Final do talhão



Início do talhão



Meio do talhão



Final do talhão

90 dias após aplicação foliar



Início do talhão



Meio do talhão



Final do talhão

120 dias após aplicação foliar



Meio do talhão



Final do talhão

Quadro 01. Avaliação visual nos diferentes tempos de avaliação, independente dos tratamentos adotados. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

Durante toda a condução do experimento, os resultados visuais apenas mostraram resposta ao fornecimento de água, seja via irrigação ou pela precipitação que ocorreu durante o ciclo da cana-de-açúcar. Foi observado danos visuais no aparelho fotossintético, que provavelmente ocorreram pela peroxidação lipídica (30 e 45 dias após aplicação foliar) que o estresse hídrico é capaz de promover no canavial, com consequentes impactos na produtividade, uma vez que reduz sua massa verde, retardando o seu crescimento.

ii. Clorofila

Os teores de clorofila total apresentaram variações semelhantes, independente do tratamento. No entanto, é possível observar, de forma geral, uma queda no teor de clorofila total aos 15 e 30 DAA em comparação ao tempo inicial (0 DAA), com posterior recuperação aos 60 DAA. Essa queda no teor de clorofila total, deve-se a escassez hídrica ocorrida após a aplicação dos tratamentos pré-seca, algo comum na região que é caracterizada por estação de outono/inverno chuvoso (abril a julho) com posterior seca na primavera/verão (setembro a março).

O déficit hídrico provocou uma limitação severa no desenvolvimento da planta (**Quadro 01**), afetando o teor de clorofila total (**Gráfico 03**) que provavelmente

foi influenciada por danos causados pela peroxidação lipídica ao aparelho fotossintético da planta. O aumento no teor de clorofila aos 60 DAA foi influenciado pela lâmina de água aplicada após 30 DAA que trouxe condições de recuperação da cultura com o aumento no conteúdo de água no sistema solo-planta, favorecendo absorção de água e nutrientes e processos fisiológicos vitais para a planta.

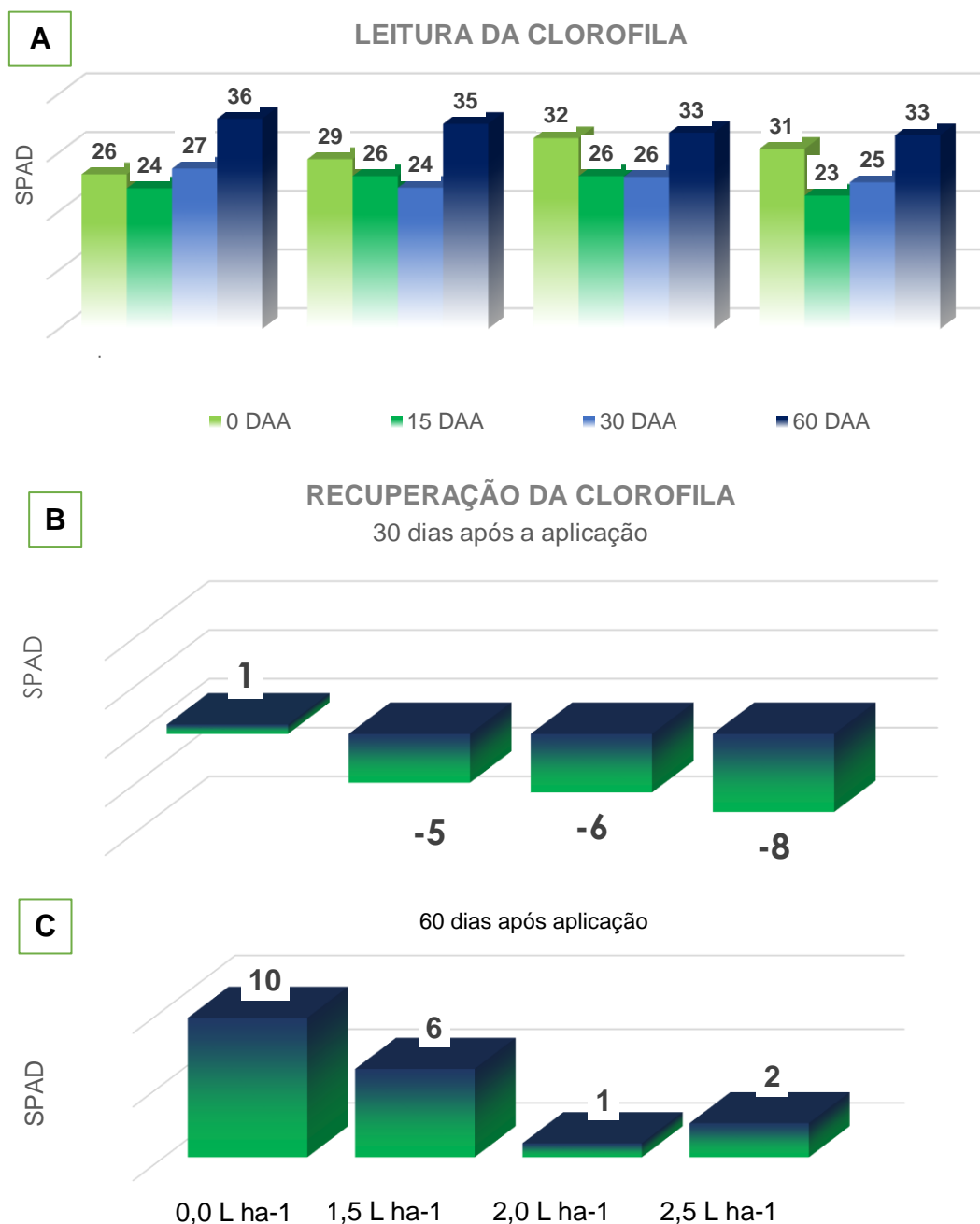


Gráfico 03. Resposta do teor de Clorofila total nas folhas+1, desde a aplicação foliar do tratamento pré-seca até o último dia de amostragem foliar. A. Leitura do índice SPAD nos diferentes tempos de amostragem; B. Recuperação do índice SPAD em termos de ganho, entre

o intervalo de tempo do dia da aplicação foliar até 30 dias após; C. Recuperação do índice SPAD em termos de ganho, entre o intervalo de tempo do dia da aplicação foliar até 60 dias após. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

A recuperação da clorofila aos 60 DAA foi independente dos tratamentos, contudo, observou-se uma tendência de menor decréscimo no teor de clorofila quando as plantas receberam a aplicação de Re-Leaf® na dose de 1,5 L ha⁻¹ (Gráfico 03A).

iii. Proteínas totais e peroxidação lipídica

As atividades enzimáticas foram expressas em unidade enzimática. A qual é definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidade de absorvância por minuto de proteína solúvel ($\mu \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$).

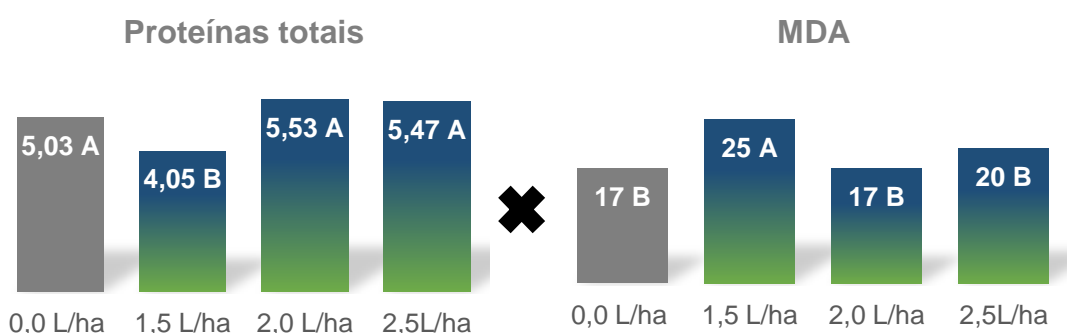
De forma geral, não foi observado efeito do produto no aumento de proteínas totais e na redução da peroxidação lipídica (MDA) (Gráfico 04). Isso pode ter ocorrido devido ao momento de aplicação do produto, que foi pulverizado em meados de setembro, momento ao qual as plantas já apresentavam níveis altos de estresse hídrico. Dessa forma, o potencial mitigador de estresse com o fornecimento de micronutrientes que são cofatores enzimáticos e de ácido salicílico que funciona como um elicitador sinalizador de mecanismos de defesa pode ter sido prejudicado, uma vez que as plantas estavam com capacidade de resposta limitada, com possíveis danos irreversíveis no seu metabolismo.

A concentração de proteínas totais foi inversamente proporcional a peroxidação lipídica aos 30 DAA (Gráfico 04). De acordo com Larcher (2004), plantas submetidas a estresses ambientais, como o déficit hídrico, tem sua síntese proteica inibida e uma degradação acelerada. Assim, quanto menor o teor de proteínas totais, maior o dano celular. As diferentes doses do produto aplicado não afetaram o teor de proteínas e a peroxidação lipídica aos 30 DAA, com exceção da dose de 1,5 L ha⁻¹ que afetou negativamente o teor de proteínas totais e aumentou o estresse oxidativo.

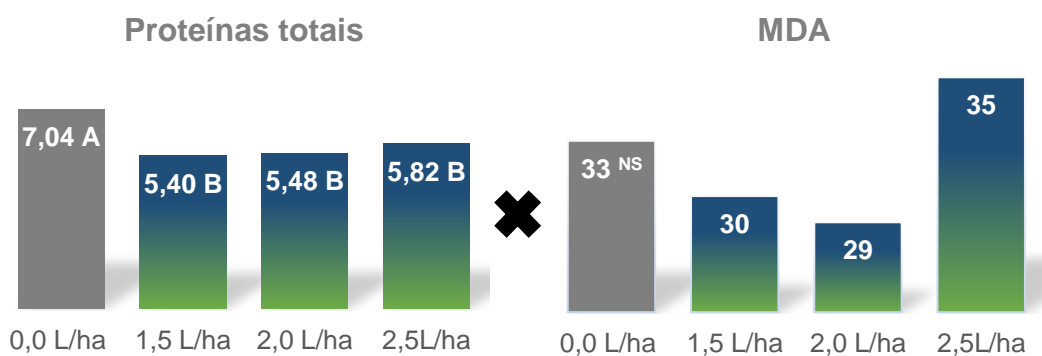
Os teores de proteínas totais aumentaram aos 60 DAA quando comparado à primeira avaliação (30 DAA). Contudo, a peroxidação lipídica se intensificou, independentemente dos tratamentos, demonstrando um aumento no estresse oxidativo mesmo após a aplicação de uma lâmina de água que objetivou atenuar os efeitos deletérios provocados pelo estresse hídrico de longa duração. A aplicação de Re-leaf® não foi eficiente na redução do estresse oxidativo. Houve uma queda no teor de proteínas totais quando aplicado o produto em comparação ao tratamento controle (sem aplicação) (**Gráfico 04**). Este resultado demonstra que se a aplicação ocorre em momento inadequado, pode estimular efeitos deletérios na planta, com gasto energético desnecessário para metabolizar o produto.

Aos 120 DAA (**Gráfico 04**) foi observado uma queda na atividade de MDA em relação a atividade anterior (60 DAA). Isso demonstra uma recuperação da planta no combate a peroxidação lipídica. Os teores de proteínas totais seguiram tendência de aumento com teor médio de 7,39 UNIDADE DE MEDIDA aos 120 DAA comparado a teores médios de 5,94 e 5,02 aos 60 DAA e 30 DAA respectivamente. A maior concentração de proteínas ocorreu com a dose de 2,5 L/ha.

▪ **30 DAA**



▪ **60 DAA**



▪ **120 DAA**

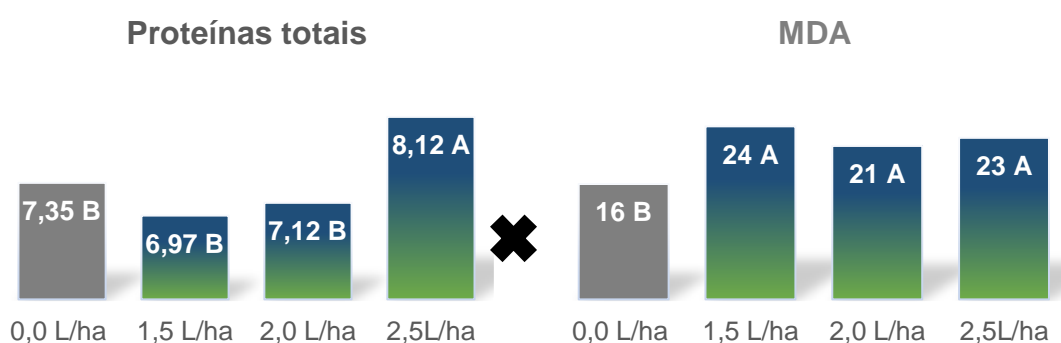


Gráfico 04. Resposta de conservação e degradação das proteínas após aplicação do tratamento pré-seca. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

iv. Atividades de enzimas antioxidantes

O mecanismo de detoxificação constitui a primeira linha de defesa contra os efeitos prejudiciais das EROs (GRATÃO et al., 2005), portanto as células das plantas são protegidas por um eficaz sistema antioxidante. No **Gráfico 05** observa-se um efeito significativo dos tratamentos na atividade antioxidante da SOD, CAT e APX. A dose de 1,5 L ha⁻¹ estimulou a atividade enzimática da SOD e CAT aos 30 DAA. O aumento na atividade dessas enzimas é um importante mecanismo no combate aos efeitos deletérios provocados pelo estresse hídrico. A SOD e a CAT são responsáveis por manter níveis baixos de espécies reativas como o superóxido e o peróxido de hidrogênio. Apesar da maior atividade de SOD e CAT aos 30 DAA, na dose de 1,5 L ha⁻¹, houve queda no teor de proteínas totais e aumento na atividade de MDA. Isso evidencia que o estímulo nas atividades

antioxidantes resultantes do fornecimento de cobre e zinco e de ácido salicílico não foi suficiente para reduzir a deterioração de proteínas.

A baixa atividade de SOD nas doses de 2,0 e 2,5 L ha⁻¹ podem indicar que as plantas estavam utilizando outros mecanismos de defesa como as rotas não-enzimáticas. A enzima APX teve aumento significativo aos 30 DAA para a dose de 2,0 L ha⁻¹. Esta enzima está envolvida na remoção do peróxido de hidrogênio no interior das células, para isso, ela utiliza o ácido ascórbico como doador de elétrons na redução do H₂O₂ à H₂O.

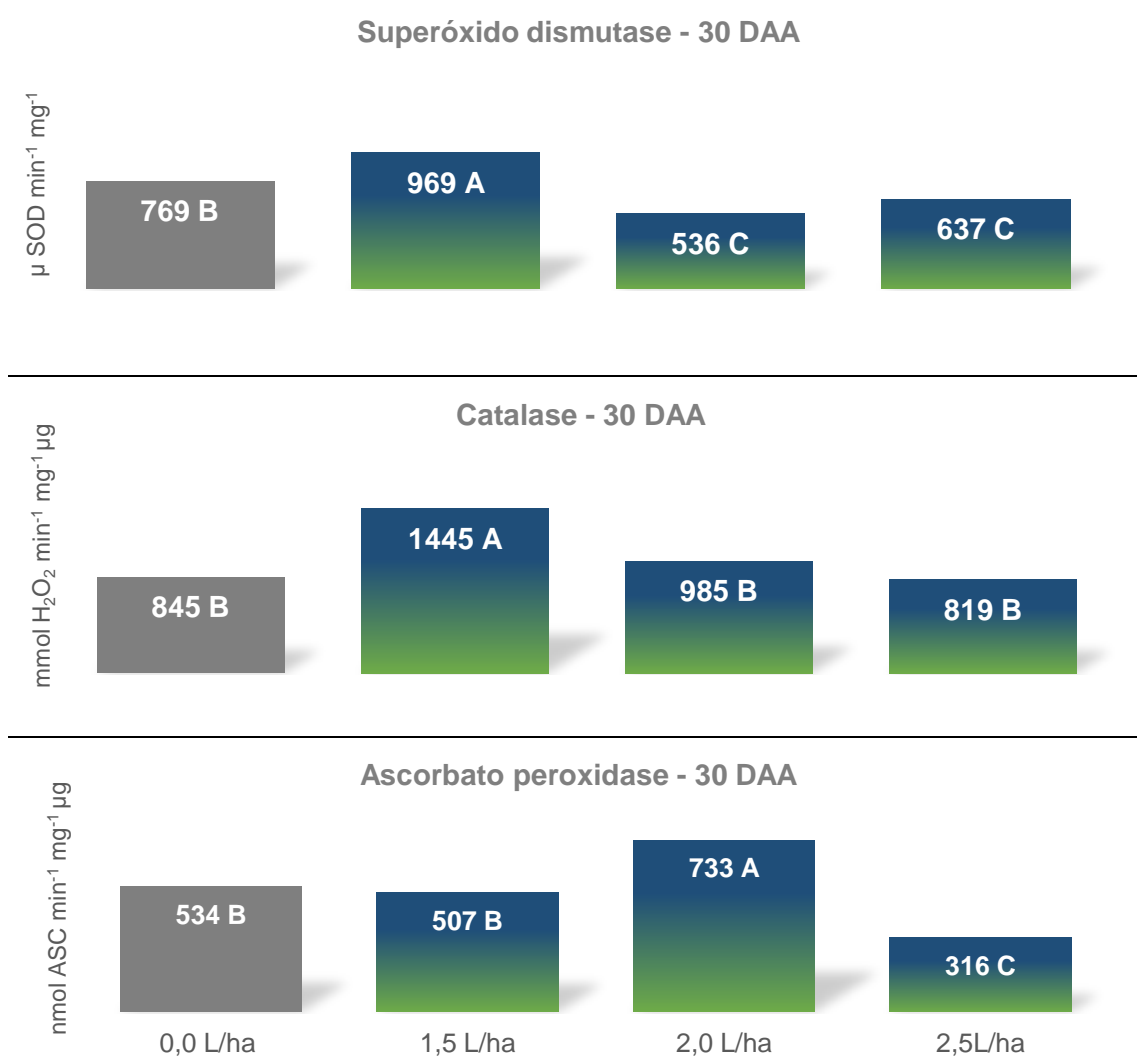


Gráfico 05. Resposta enzimática aos 30 dias após aplicação do tratamento pré-seca. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

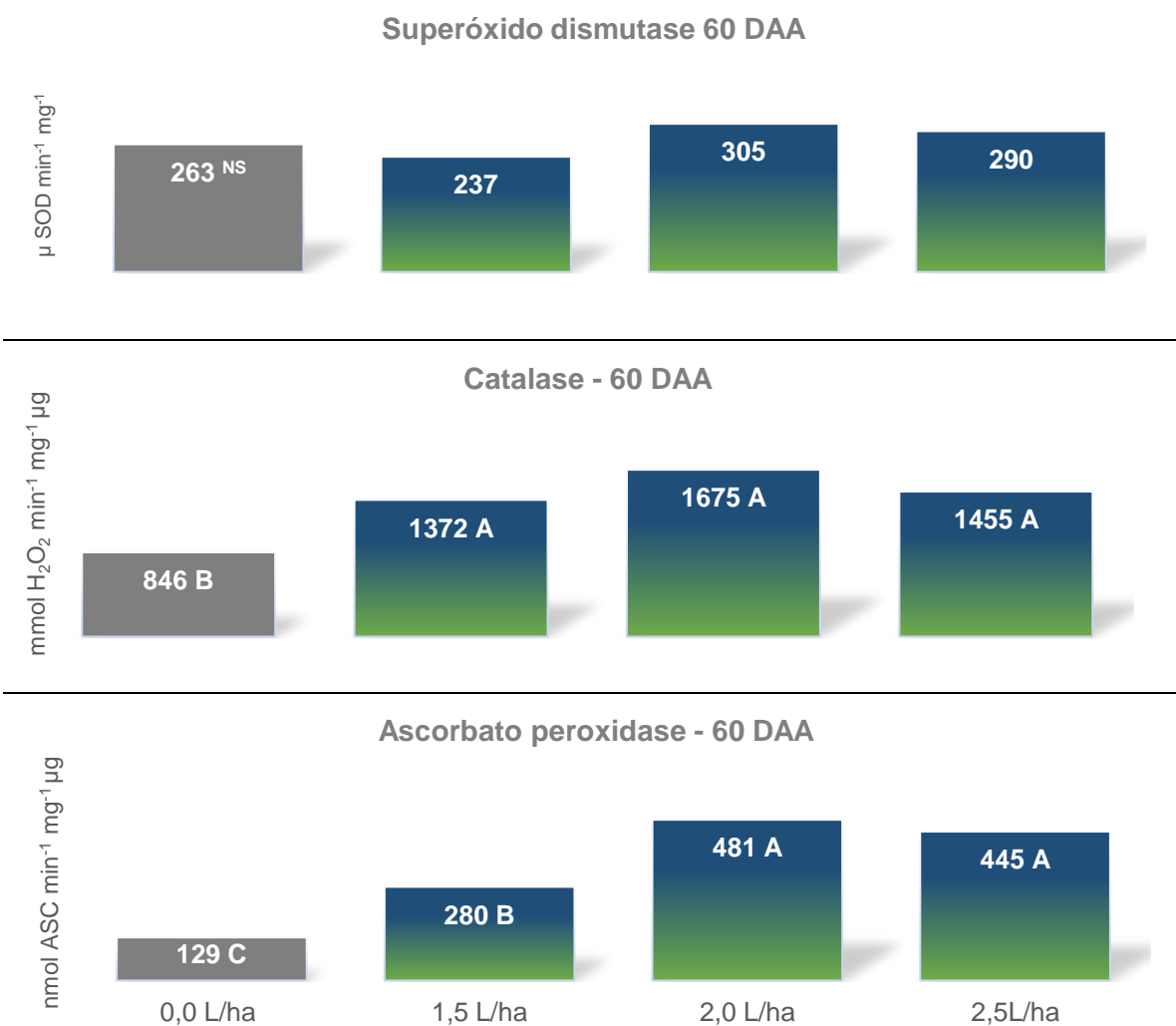


Gráfico 06. Resposta enzimática aos 60 dias após aplicação do tratamento pré-seca. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

As diferentes doses do produto não influenciaram a atividade de SOD, mas aumentaram a atividade de CAT e APX aos 60 DAA (**Gráfico 06**). A dose de $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ obteve maior resposta com uma tendência de aumento das atividades de SOD, CAT e APX. Apesar do maior efeito dessas duas enzimas antioxidantes responsáveis pela remoção do H_2O_2 , não foi observado uma redução na atividade de MDA e aumento na concentração de proteínas totais. Assim, é possível que a recuperação da planta observada nas avaliações visuais aos 60 DAA e no aumento dos teores de proteínas independente dos tratamentos foi devido a lâmina de irrigação aplicada após 30 DAA.

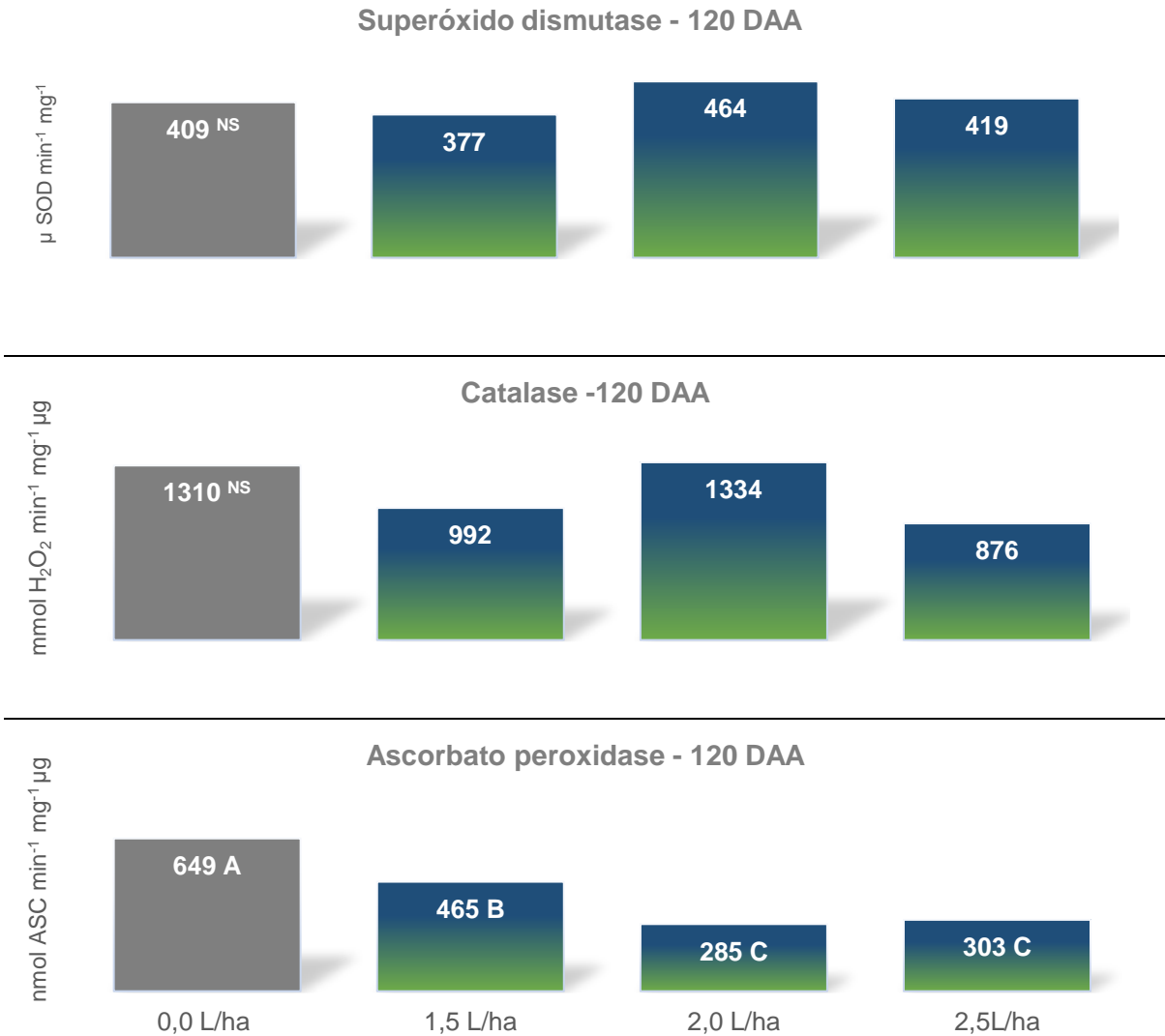


Gráfico 07. Resposta enzimática aos 120 dias após aplicação do tratamento pré-seca. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

O último momento de avaliação da atividade enzimática (120 DAA), foi realizado no período chuvoso, para identificar possíveis respostas a longo prazo dos efeitos do período seco e dos tratamentos no comportamento bioquímico da planta. Foi observado um valor médio de atividade de SOD e APX inferior à fase inicial de estresse (30 DAA), o que indica que as plantas já não estavam com alto conteúdo de superóxido e peróxido de hidrogênio no interior das células, No entanto, a atividade da catalase se manteve estável, o que pode ser devido a danos irreversíveis que ocorreram durante o período seco.

De forma geral, não houve efeito dos tratamentos na atividade enzimática aos 120 DAA, exceto para o tratamento controle que apresentou a maior atividade de APX que sugere uma eficácia no combate aos danos provocados pela peroxidação lipídica evidenciada pela menor atividade de MDA nesse período. Todavia, a maior atividade de APX e menor deterioração de proteínas não resultou em maior concentração de proteínas nas folhas, que teve maior teor identificado para o tratamento com aplicação de Re-Leaf® na dose de 2,5 L ha⁻¹ (Gráfico 04). Isso sugere que o produto pode ter atuado na sinalização de outros mecanismos de defesas como a proteção não-enzimática.

v. Biometria

A análise biométrica da área testada foi subdividida em dois ambientes, uma vez que se trata de uma área extensa. Sendo assim, os resultados foram analisados separadamente: uma área que recebeu torta de filtro, de uma área que não recebeu. Além disso, a amostragem biométrica ocorreu aos 360 dias após o plantio.

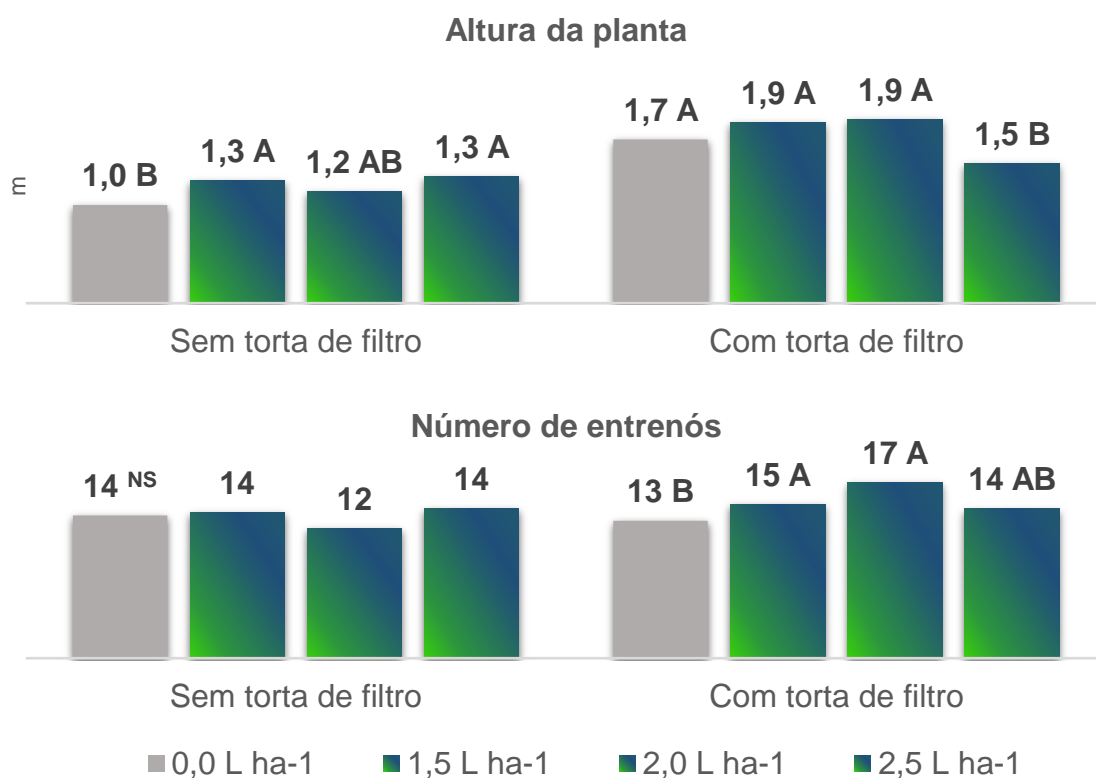
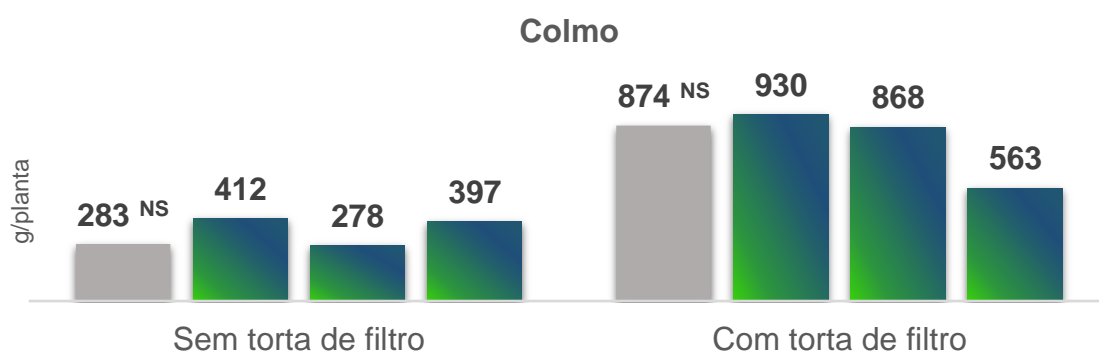


Gráfico 08. Resposta no crescimento da cana-de-açúcar. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

Os tratamentos favoreceram significativamente a altura da planta, especialmente no ambiente em que a planta esteve mais sensível ao estresse (sem torta de filtro). No ambiente mais estressante, o efeito dos tratamentos para altura da planta pode ser devido ao efeito nutricional do produto que contém cobre e zinco em sua composição, elementos esses envolvidos na fixação biológica de nitrogênio, fotossíntese, respiração e síntese e conservação de auxinas, hormônios vegetais que atuam no crescimento das plantas (CUCHIARA, 2013).

No ambiente que recebeu aplicação de torta de filtro, as plantas apresentaram maior crescimento vegetativo. A torta de filtro é um subproduto da indústria que é rico em fósforo e matéria orgânica, principalmente. Assim, funciona como um condicionador de solo, aumentando a capacidade de troca catiônica e a retenção de água no solo por períodos prolongados. Nesse ambiente, houve incremento no número de entrenós na dose de 1,5 e 2,0 L ha⁻¹, entretanto, isso não resultou em plantas com maior altura em comparação ao tratamento não aplicado.



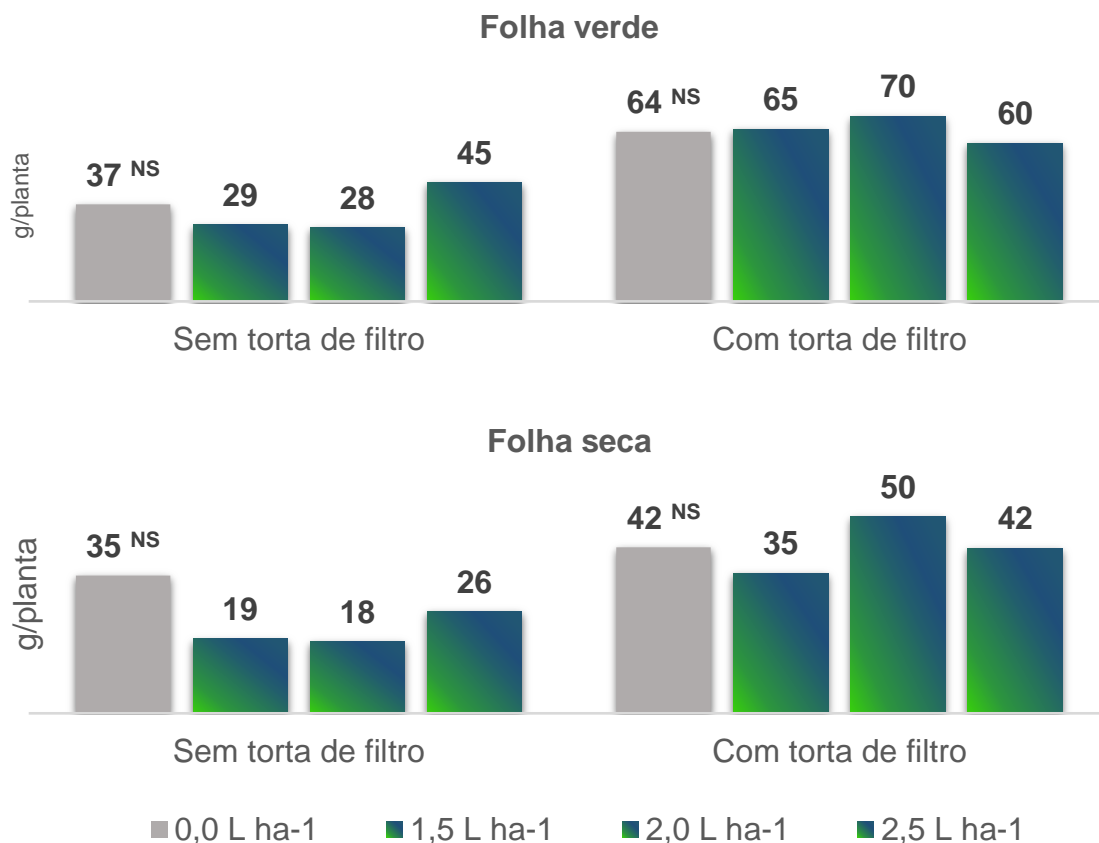


Gráfico 09. Resposta no acúmulo de biomassa fresca da cana-de-açúcar. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. Japungu Agroindustrial, Santa Rita-PB.

Os tratamentos não contribuíram para o acúmulo de biomassa fresca em ambos os ambientes. Contudo, nota-se uma tendência de maior peso de colmo para dose de 1,5 L/ha do Re-leaf®. O quantitativo de folha verde é um indicativo tendencioso no crescimento da planta, do contrário é possível destacar que no ambiente que não recebeu a torta de filtro, a planta mostrou um maior peso de folhas seca, ou seja, não utilizar uma tecnologia pré-seca, favorece a senescência foliar.

CONCLUSÃO

O tratamento Re-leaf® contribuiu para produção de Enzimas antioxidantes, em especial SOD e CAT aos 30 DAA na dose de 1,5 L/ha. Contudo tal característica se manteve aos 60 DAA para CAT e APX em todas as doses utilizadas do produto. Aos 120 DAA, a atividade da APX foi

significativamente reduzida. Ou seja, o tratamento contribuiu para a produção e ativação das enzimas antioxidantes durante o período de estresse hídrico.

Nos primeiros 30 dias após aplicação foliar, os resultados indicam a maior capacidade de aclimação da cana-de-açúcar na dose de 1,5 L/ha do Re-leaf®, além de redução do teor de clorofila, confirmando essa característica. Porém, a longo prazo, a dose de 2,0 L/ha apresentou uma menor perda da massa fresca no ambiente sem torta de filtro associada ao maior incremento da atividade da SOD, CAT e APX nos diferentes tempos de amostragem enzimáticas.

É comum o aumento da atividade de uma ou mais enzimas do sistema antioxidativo, em função de maiores condições de estresse hídrico, como registrado para a SOD, CAT e APX (Gráficos 04, 05 e 06) de modo simultâneo. O aumento da atividade dessas enzimas minimiza os efeitos deletérios do H₂O₂ nas células, contribuindo para uma menor produção de MDA.

Contudo, o mecanismo bioquímico de defesa antioxidante, é passível do potencial de resposta enzimática de cada tecido aos diferentes compostos tóxicos. Sendo necessários, intensificar os estudos em outros tecidos vegetais, com o intuito de compreender a resposta antioxidante e identificar alternativas para combater a EROs.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio supervisionado obrigatório proporciona uma experiência prática muito importante na formação do aluno de agronomia, cuja rotina profissional é bem diferente do ambiente de sala de aula vivido na universidade. O contato com o negócio agrícola e com o campo, reunindo todo o conhecimento adquirido no cotidiano, é um complemento importante para uma boa formação. Sendo assim, a dose mais responsiva no combate ao estresse oxidativo é a de 2,0 L/ha.

REFERENCIAS

PELL, E. J. & DANN, M. S. 1990. Multiple stress-induced foliar senescence and implications for whole-plant longevity. In: Environmental injury to plants. KATTERMAN, F. (ed.). Academic Press. San Diego. pp. 189-205

HALLIWEL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicais in Biology and Medicine. New York: Oxford University Press, 1999.

Cakmak I, Horst WJ (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83:463–468. doi: 10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x

GUARATINI, Thais; MEDEIROS, Marisa HG; COLEPICOLO, Pio. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. *Química Nova*, v. 30, p. 206-213, 2007.

CAVERZAN, Andréia. Caracterização funcional dos genes de ascorbato peroxidase de arroz (*Oryza sativa* L.) nas interações entre estresse oxidativo e estresses abióticos. 2008.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological research*, 38:995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 9: 483-486, 2002.

CUCHIARA, Cristina Copstein. Efeito do cobre e sua interação com o zinco no cultivo de plantas de batata-doce: alterações morfofisiológicas e bioquímicas. 2013