

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADIÇÃO DE SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DA TOXICIDADE DE
ALUMÍNIO NOS TEORES DE LIGNINA, NUTRIÇÃO, TROCAS
GASOSAS E SISTEMA ANTIOXIDANTE DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Gilmar da Silveira Sousa Junior

Agroecólogo

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADIÇÃO DE SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DA TOXICIDADE DE
ALUMÍNIO NOS TEORES DE LIGNINA, NUTRIÇÃO, TROCAS
GASOSAS E SISTEMA ANTIOXIDANTE DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Gilmar da Silveira Sousa Junior

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

S725a

Sousa Junior, Gilmar da Silveira

Adição de silício na atenuação da toxicidade de alumínio nos teores de lignina nutrição, trocas gasosas e sistema antioxidante de cana-de-açúcar / Gilmar da Silveira Sousa Junior. -- Jaboticabal, 2020
107 p. : tabs., mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Coorientador: Renato de Mello Prado

1. Elemento Benéfico. 2. Estresse Oxidativo. 3. Pigmentos Vegetais. 4. Saccharum spp.. I. Título.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GILMAR DA SILVEIRA SOUSA JUNIOR – nascido em 19 de março de 1988, em Araraquara-SP, é Agroecólogo, formado pela Universidade Federal de São Carlos – Centro de Ciências Agrárias, em dezembro de 2014 e Mestre em Agronomia - Produção Vegetal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Câmpus Jaboticabal em fevereiro de 2017. Durante a graduação, foi bolsista CNPq de iniciação científica no período de 2012 a 2013 e FUNDAG de 2013 a 2014, neste último período de iniciação científica trabalhou e realizou projetos em nutrição e manejo na cultura da cana-de-açúcar. Em março de 2015 iniciou o curso de mestrado onde foi bolsista do programa de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e atuou na área da Fisiologia Vegetal, Ecofisiologia, Estresses Abióticos e Atenuadores de Estresses Abióticos em Plantas, com ênfase na cultura da cana-de-açúcar sob toxicidade alumínio e silício exógeno. No doutorado, em 2017, continuou sendo bolsista do programa de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e deu continuidade a linha de pesquisa já iniciada no mestrado.

“A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar.”

EDUARDO GALEANO

Aos meus pais, **Gilmar da Silveira Sousa** e **Vanilda Ferrarezi Sousa**, por todas as vezes que me mostraram o poder das palavras, “felicidade”, “amor” e “fé”.

E

À minha orientadora **Profa. Dra. Durvalina Mathias dos Santos**, pelas inúmeras vezes que vi em seus olhos a dedicação e o amor por lecionar.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as escolhas que fez em minha vida;

À minha orientadora Professora Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, do Departamento de Biologia aplicada a Agropecuária, por todo ensinamento, oportunidades, aprendizados, explicações e principalmente por ser meu maior exemplo como docente;

À Noelle Diniz e Milena Garcia por toda amizade, ajuda e conselhos divididos em todo o processo de montagem, avaliações e desmontagem do trabalho, sem vocês nada do que eu estou demonstrando dentro dessa tese seria possível;

À Sonia Carregari (Sônica), Técnica do Departamento de Biologia aplicada a Agropecuária, pela forma como ensina cada protocolo, cada procedimento e principalmente por todo o conhecimento e por saber passá-lo de uma maneira ímpar. Agradeço também por cada abraço que não só confortou, mas demonstrou todo seu amor pelo laboratório de fisiologia vegetal;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Renato de Mello Prado, do Departamento de Ciências da Produção Agrícola, por todos os ensinamentos e prontidão em me ajudar e ensinar;

Aos meninos Alexander e Jonas por me ajudarem com todas as análises de nutrição e por todos os momentos que compartilhamos ciência de uma maneira respeitosa e sem ego;

Ao Programa de Pós graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pela oportunidade de realização do doutorado;

À seção técnica de pós graduação, por toda ajuda e auxílio em todos os momentos burocráticos e não burocráticos. Todos vocês são pessoas admiráveis, mas em especial agradeço à Branca e ao Moysés pelas vezes em que em um olhar, ou em uma conversa simples me acalmaram e me mostraram que dá tempo, só basta ler direito;

À CAPES pelo auxílio financeiro para a condução do estudo;

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

Aos meus pais Gilmar Sousa e Vanilda Ferrarezi por todo incentivo, apoio e momentos compartilhados com esperança e confiança para que eu pudesse chegar até aqui. Sem vocês, com certeza, nada disso estaria acontecendo;

À minha irmã Grace Silva, meu cunhado Paulo Silva, e as minhas sobrinhas, Ana Paula, Isabeli e Emanuele por entenderem sempre minhas ausências e por sempre estarem do meu lado torcendo por mim;

À minha companheira Leticia Borges Joaquim pelos momentos que dividimos no final dessa construção e, quero que saiba que mesmo não participando desde o começo dessa empreitada você foi, sem dúvidas, parte fundamental para que eu conseguisse terminar meu doutorado, não imagino como seriam os dias sem seu auxílio, amizade, companheirismo e amor.

À minha Família, principalmente aos meus avós Isolina, Euclides (*in memoriam*), e Joel (*in memoriam*), por todo incentivo e preocupação, desde os meus primeiros momentos de vida. Em especial a minha avó Tereza (*in memoriam*) que mesmo não tendo visto todo o meu crescimento no meio acadêmico, sempre foi a pessoa que eu trouxe na memória para os dias difíceis. Quando criança, em nossas conversas, ela sempre me explicou “que o caminho vale mais que a chegada”, pois os obstáculos nos fortalecem para nos manter em pé;

Aos meus amigos-irmãos, Cesar Zanello, Willian Duarte, Luciano Delmondes e Patricia Azevedo, por me mostrarem que a distâncias são meros quilômetros porque sempre nos mantivemos unidos, nos apoiando dentro desse universo chamado meio acadêmico;

Às duas principais pessoas que conheci em Jaboticabal e ficaram comigo do início ao fim, fazendo de Jaboticabal minha casa, meu lar e minha família, vocês foram a base para que eu pudesse suportar os momentos difíceis e, sem vocês, eu jamais conseguiria chegar até aqui com a sanidade mental intacta. Obrigado por cada cerveja aberta, cada churrasco dividido e cada conselho compartilhado, fomos e sempre seremos o apoio um do outro e por isso Stephanie e Murillo vocês sempre serão os irmãos que eu escolhi;

Às melhores pessoas que eu poderia conhecer nesse mundo: Maria Eduarda (Duda), Mirela, Mayara, Felipe, Cleber (Dido), Otavio (Tata) e Igor. Agradeço por todos os momentos que vocês me ouviram, me aconselharam, me defenderam e

viram em mim pontos negativos e positivos que me fizeram crescer e entender que verdadeiros amigos são todos aqueles que colocamos dentro do coração com afeto; À minha Família ANTRO DO HV (Moradores, ex-moradores, esposas dos ex-moradores e namoradas) e, principalmente, aos meninos Buda (Augusto), Tofu (Diego), Aladim (Thiago), Frito (Vinicius), KY-rex (Kayo), Pumba (João), Balu (Marcelo), Mariano (Felipe), Naza (Carlos), Matheus, Henrique, Gabriel, Aloízio, Luiz e Vítor por todos os conselhos, risadas, mural de pérolas, idas ao SAPÃO e “churras” na rep. À Jussara (Juju) e à Renata pelas vezes em que organizaram a república e fizeram do nosso ambiente um lugar habitável;

À Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão, do Departamento de Biologia aplicada a agropecuária, por todo os momentos de aprendizagem, prontidão em ajudar e pela conversa nos meus primeiros meses de mestrados que sempre surtiram efeito para eu defender todas as minhas ideias e opiniões e, principalmente, por todo ensinamento e amizade;

À Denise Chiconato pela amizade inicial que fez toda diferença para que eu chegasse até aqui sem desistir;

Aos colegas do Lab. de Fisiologia Vegetal, que foram presentes do ano de 2017 a 2020. Agradeço por toda ajuda e momentos divididos. Em especial agradeço ao Clebson, Kevin e Reginaldo por todas as vezes em que me ajudaram, facilitando meu trabalho, e por todas as conversas que foram fundamentais para que eu pudesse crescer e entender a atmosfera do compartilhar conhecimento;

À todos os funcionários, professores e alunos do Departamento de biologia aplicada a agropecuária da FCAV-UNESP pelos momentos de ajuda, conselhos, conversas no corredor e ensinamentos que me fizeram ser parte deste departamento que vou levar sempre no coração;

Aos eternos e para sempre ex-orientadores Janaina Della Torres (CCA-UFSCar), Luciana Seki Dias (CCA-UFSCar), Fábio Luis Dias (APTA-Polo Piracicaba), Rodolfo Figueiredo (CCA-UFSCar) e Andréa Pimentel (CCA-UFSCar) pelas inúmeras vezes que não desistiram de mim. Tudo que aprendi com vocês tentei e tento trazer para sempre na minha vida;

Ao meus filhos-Dog Prince (*in memoriam*) e Bart por todas as vezes que foram e são o meu remédio para os momentos conturbados. Em especial ao Prince, por ter

ficado comigo no começo e, sempre de uma maneira inexplicável, ter sido meu suporte, meu apoio e meu ajudante. Você se foi antes de tudo isso terminar, mas saiba que a parte em que eu me torno um ser humano um pouco melhor é mérito seu;

À todos aqueles que passaram por minha vida deixando um pouco do seu conhecimento e levando um pouco do que eu aprendi, talvez eu não tenha citado todos nesse agradecimento mas, com certeza, se cheguei até aqui em algum momento desta caminhada você recebeu o meu agradecimento pois aprendi no meio de tudo isso que melhor do que ser capaz é ser privilegiado e eu tenho certeza de que meu maior privilégio foi ter cada pessoa que passou por minha vida.

GRATIDÃO!!!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	Erro! Indicador não definido.
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Toxicidade de Al, prejuízos na agricultura	4
3.1.1. Toxicidade de Al nas trocas gasosas, pigmentos vegetais e densidade estomática ..	6
3.1.2. Estresse oxidativo em plantas sob toxicidade por alumínio	8
3.1.3. Mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo em plantas sob toxicidade de alumínio.....	9
3.1.4. Parâmetros nutricionais em plantas sob estresse de Al	10
3.1.5. Acúmulo de lignina em plantas sob estresse de Al	11
3.2. Silício.....	12
3.3. Cana-de-açúcar: cenário atual sob a toxicidade de Al e o uso de Si.....	14
REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2 - EFEITO DO SILÍCIO NOS ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS JOVENS DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB ESTRESSE POR ALUMÍNIO EM CULTIVO HIDROPÔNICO	30
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Condições de cultivo e material vegetal.....	35
2.2 Metodologia experimental.....	36
2.3 Solução nutritiva	36
2.4 Tratamentos com Al e Si	37
2.5 Avaliações	37
2.5.1 Determinação dos pigmentos vegetais	37
2.5.2 Trocas gasosas e densidade estomática	38
2.5.3 Estresse oxidativo.....	38
2.6 Análise de crescimento.....	40
2.7 Análise estatística.....	41
3. RESULTADOS	41
3.1 Pigmentos vegetais	41
3.2 Trocas gasosas e densidade estomática	43
3.3 Estresse oxidativo	45
3.3.1. Conteúdo de H ₂ O ₂ e peroxidação lipídica	45
3.3.2. Atividade SOD (EC 1.15.1.1)	48
3.3.3 Atividade de APX (EC 1.11.1.11).....	49
3.3.4 Atividade da GPOX (EC 1.11.1.7).....	50
3.4 Crescimento	51
4. DISCUSSÃO	52
5. CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	59
CAPÍTULO 3 – SILÍCIO ATENUA A TOXICIDADE DE ALUMÍNIO, MELHORANDO O ACÚMULO DE LIGNINA, NUTRIENTES E A EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO NAS PLANTAS JOVENS DE CANA-DE-AÇÚCAR	67
1. INTRODUÇÃO	69
2. MATERIAL E MÉTODOS	71
2.1 Condições de cultivo e material vegetal.....	71
2.2 Metodologia experimental.....	71
2.3 Solução nutritiva	71
2.4 Tratamentos com Al e Si	72

2.5 Avaliações.....	72
2.5.1 Determinação do crescimento	72
2.5.2 Determinação do acúmulo do Al, de Si, de nutrientes e da eficiência de utilização	73
2.5.3 Determinação da concentração de lignina	73
2.6 Análise estatística.....	73
3. Resultados	74
3.1. Acúmulo de Al e de Si	74
3.2. Teores de nutrientes.....	76
3.3. Eficiência de utilização de nutrientes	79
3.4. Teor de lignina.....	84
3.5. Crescimento	85
4. DISCUSSÃO	85
5. CONCLUSÃO.....	89
REFERENCIAS.....	90

ADIÇÃO DE SILÍCIO NA ATENUAÇÃO DA TOXICIDADE DE ALUMÍNIO NOS TEORES DE LIGNINA, NUTRIÇÃO, TROCAS GASOSAS E SISTEMA ANTIOXIDANTE DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO - O excesso de alumínio (Al), é considerado um dos principais fatores limitantes do crescimento e desenvolvimento das plantas, devido à toxicidade do metal. Atualmente, o cultivo de cana-de-açúcar se faz presente em, aproximadamente, 50% das terras que apresentam toxicidade por Al. Nesse sentido, estudos anteriores com indutores de tolerância, como o Silício (S), mostraram atenuar os efeitos deletérios de vários estresses. Porém, ainda são escassas as pesquisas do Si como um atenuador da toxicidade de Al em cana de açúcar. O objetivo desse estudo foi verificar o efeito atenuador da aplicação de Si em plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al em sistema hidropônico. Para tanto, em casa de vegetação foi conduzido um sistema hidropônico, com delineamento experimental em blocos casualizados (2x4x2): com duas cultivares de cana de açúcar (CTC9003 e CTC9002) e os tratamentos formados pela ausência e presença de Si (0 e Si 2,0 mmol L⁻¹ K₂SiO₃); e com quatro concentrações de Al (0, 10, 15 e 20mg L⁻¹ Al₂(SO₄)₃.18H₂O). Foram realizadas as avaliações de acúmulo de lignina, pigmentos vegetais, trocas gasosas, densidade estomática, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (malondialdeído [MDA]), atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, SOD; ascorbato peroxidase, APX; guaiacol peroxidase, GPOX), bem como a eficiência de uso e acúmulo de nutrientes e crescimento (área foliar e massa seca). Nossos resultados demonstraram que, nas plantas estressadas com Al, o Si proporcionou aumento no teor de lignina, aumento do número de estômatos e das trocas gasosas, menor redução dos pigmentos fotossintéticos e da peroxidação lipídica, aumento da atividade das enzimas antioxidantes, maior acúmulo e eficiência nutricional e maior crescimento de plantas em comparação a aquelas com Al e sem Si. A cv. CTC9003 apresentou melhor resposta de atenuação pelo Si na toxicidade de alumínio.

Palavra-chave: elemento benéfico, estresse oxidativo, pigmentos vegetais, *Saccharum spp.*

SILICON ADDITION IN THE ATTENUATION OF ALUMINUM TOXICITY FOR LIGNIN CONTENT, PLANT NUTRITION, GAS EXCHANGE AND SUGAR CANE ANTIOXIDANT SYSTEMS

ABSTRACT – The excess of aluminum (Al) is considered one of the major factors limiting plant growth and development, due the metal toxicity. Currently, about 50% of the land with Al toxicity cultivates sugarcane. In this regard, previous studies of tolerance inducers, such Silicon (Si), have been shown to attenuate the deleterious effects of several stresses. However, research on Si as an attenuator of aluminum toxicity in sugar cane remain unclear. The aim of this study was to verify attenuate effect of applying Si in young sugarcane plants under Al toxicity on hydroponic system. A hydroponic experiment was conducted under greenhouse conditions using a randomized block design (2x4x2): with two sugarcane cultivars (CTC9003 and CTC9002) and treatments were formed by absence and presence of Si application (0 and Si 2,0 mmol L⁻¹ K₂SiO₃); and with four concentrations of Al (0, 10, 15 e 20mg L⁻¹ Al₂(SO₄)₃.18H₂O). Lignin content, pigments, gas exchange, stomatal density, hydrogen peroxide, (H₂O₂), lipid peroxidation (malondialdehyde [MDA]), antioxidant enzymes activities (superoxide dismutase, SOD; ascorbate peroxidase, APX; guaiacol peroxidase, GPOX), as well efficiency of use and nutrient accumulation and growth (leaf area and dry biomass) were determined. Our results demonstrated that plants stressed with Al, the Si provided an increase in lignin content, number of stomata and gas exchange, lower reduction in photosynthetic pigments and lipid peroxidation, an increased activity of antioxidant enzymes, greater accumulation and efficiency nutritional and plant growth when compared to plants with Al and without Si. The CTC9003 showed a greater Si attenuation response in Al toxicity.

Keywords: beneficial elements, oxidative stress, pigments, *Saccharum spp.*

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Devido à elevada relevância social e ambiental que a produção de cana-de-açúcar possui para o Brasil, a partir do final do século XX, o cultivo se expandiu para o cerrado, região Centro-Oeste, que tem como característica solos ácidos em que o alumínio (Al) trocável tende a ser o cátion dominante (Silva, 2012; Ribeiro et al., 2015; Granco et al., 2017).

Dentre os elementos da crosta terrestre o Al, além de ser o elemento metálico mais abundante, ocupa o terceiro lugar em quantidade, seguido pelo oxigênio (O) e pelo silício (Si) (Bojórquez-Quintal, 2017). Quantidades elevadas de Al são incorporadas aos minerais do solo aluminossilicato e, quantidades muito pequenas aparecem na forma solúvel, capazes de influenciar os sistemas biológicos (Arunakumara et al., 2013; Ma et al., 2014; Sade et al., 2016).

A maior disponibilidade do Al e, conseqüentemente, os efeitos tóxicos para as plantas, ocorrem em solos com baixo pH ($\leq 5,5$), denominados solos ácidos. Tais solos são considerados muito limitantes para diversos cultivos agrícolas (Silva, 2012; Panda e Baluska, 2015). Os solos podem se tornar ácidos, devido às práticas agrícolas inapropriadas como, por exemplo, o intenso e inadequado uso de fertilizantes nitrogenados e acúmulo de massa orgânica (Lange et al., 2006), ou podem ser naturalmente ácidos, constituindo regiões com vegetação específica e tolerante à toxicidade do Al. Em qualquer um dos casos, quando o solo apresenta pH abaixo de 5,5, as argilas de aluminossilicato e os minerais de hidróxido de alumínio começam a se dissolver, liberando cátions hidróxi-alumínio e $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ (Al^{3+}). Nessas condições, Al^{3+} também forma as fórmulas mononucleares AlOH_2^+ , $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})^3$ e $\text{Al}(\text{OH})^4$ (Scancar e Milacic, 2006; Silva, 2012; MA et al., 2014). As fórmulas mononucleares de Al^{3+} e Al_{13} são consideradas as formas mais tóxicas (Silva, 2012).

Embora as espécies e/ou genótipo de plantas possuam diferentes graus de tolerância ao alumínio e algumas culturas serem consideradas tolerantes aos altos níveis de Al trocável, para a maioria das culturas agrícolas o excesso de Al causa uma restrição grave que influencia no melhor crescimento e desenvolvimento

vegetal. Além disso, para a maioria das culturas as tentativas de correção do solo (por exemplo, calagem) podem não ser suficientes para reduzir a toxicidade do Al e essas estratégias também podem ser prejudicadas por fatores econômicos, pelo fato de serem onerosos (Marschner et al., 1995).

Nas últimas décadas, pesquisas têm buscado técnicas alternativas para contornar o estresse que atinge as plantas. A utilização de atenuadores dos estresses vem se tornando promissora para o efetivo combate às condições adversas, visando a melhoria da produtividade vegetal. Assim, a utilização de substâncias mitigadoras dos estresses passou a ser consideradas uma alternativa viável de combate às condições adversas que reduzem o crescimento e desenvolvimento vegetal. Dentre as substâncias mitigadoras destaca-se o Si, que em diferentes estudos, sob os mais variados estresses abióticos e bióticos, tem evidenciado efeito benéfico no crescimento vegetal das plantas, (Guntzer et al., 2012; Cooke e Leishman, 2016; Deshmukh et al. 2017; Kim et al., 2017; Bhat et al., 2019; Hodson e Evans 2020). Mesmo em plantas acumuladoras de Si, como é o caso da maioria das gramíneas dentre elas a cana-de-açúcar, estudos relataram resultados positivos da suplementação de Si no aumento da produtividade (Bhat et al., 2019; Hodson e Evans, 2020).

Os benefícios do Si na atenuação do estresse vegetal se dão devido à formação e/ou ativação de complexos reguladores de proteção, que conduzem, de modo geral, à minimização da transpiração e à maximização da fotossíntese, o que resulta no aumento do crescimento e ganhos de produtividade e de qualidade (Guntzer et al., 2012; Jesus et al., 2017; Bhat et al., 2019; Coskun et al., 2019). Estudos constataram que a suplementação de Si atenuou os efeitos tóxicos do Al em trigo (Cocker et al., 1998), milho (Wang et al. 2004) e arroz (Singh et al., 2011). Ainda, tal suplementação estimula um dos principais mecanismos da atenuação, e.g., maior atividade dos sistemas antioxidantes nas plantas (Shen et al., 2014; Coskun et al., 2019). Pesquisas realizadas entre 2015 e 2017 por Sousa Junior et al. (2017), indicaram efeitos atenuadores do Si em cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, como o incremento de osmolitos compatíveis e atenuação dos efeitos deletérios na morfoanatomia das raízes. Portanto, entender os mecanismos utilizados pelas espécies suplementadas com Si exógeno para lidar com a toxicidade do Al, é de extrema relevância para o aumento da produção mundial de cana-de-açúcar.

2. OBJETIVOS

Verificar se o Si causa atenuação da toxicidade do Al em cana-de-açúcar submetida à toxicidade de Al, mediante a avaliação bioquímica, fisiológicas, nutricionais e de crescimento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Toxicidade de Al e os prejuízos na agricultura

O Al, quando presente nos solos, constitui um dos maiores problemas de toxicidade de metais, já que limita o crescimento vegetal, representando um grande entrave para a produção agrícola mundial. Os solos ácidos somam de 30 a 40% da terra arável em todo mundo (Imagem 1.) e são responsáveis pela limitação da produção vegetal. Dependendo da espécie vegetal, esta toxicidade pode provocar de 25% a 80% de perdas no campo, com prejuízos inferiores apenas aos causados pela seca (Bian et al., 2013; Sade et al., 2016; Singh et al., 2017). É vasta a literatura acerca dos solos com toxicidade de Al no âmbito mundial e do impacto que estes solos têm na produtividade da maioria das plantas cultivadas (Kochian et al., 2005; Ščančar e Milačič, 2006; Ma, 2007; Vardar e Ünal, 2007; Fageria e Baligar, 2008; Chen et al., 2010; Inostroza-Blancheteau et al., 2012; Silva, 2012; Arunakumara et al., 2013; Gupta et al., 2013; Yang et al., 2013; Kochian et al., 2015; Emamverdian et al., 2015; Kopittke et al., 2016; Sade et al., 2016; Singh et al., 2017; Bojórquez-Quintal et al., 2017; Rahman et al., 2018).

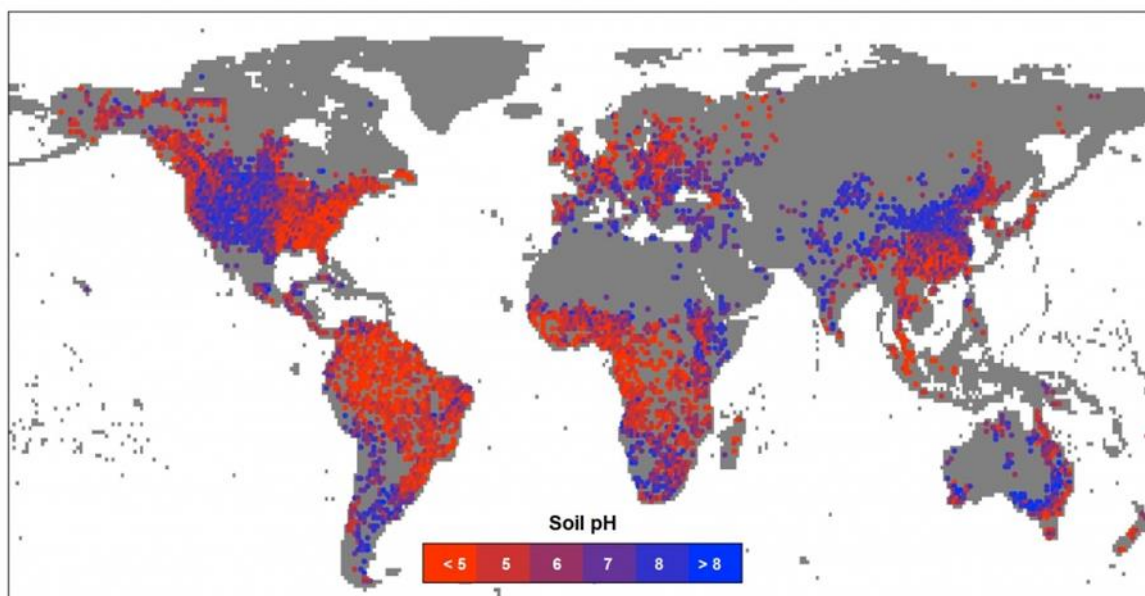


Imagem 1. Mapa global de pH do solo “Universidade da Califórnia - Santa Bárbara” Cohen. (2016).

Em solos de regiões tropicais e subtropicais, com altas precipitações pluviométricas, ocorre a diminuição do pH. O hidrogênio (H^+) atua sobre os minerais liberando íons Al, ou seja, os hexahidratados de Al (H_2O) $_6^{3+}$ denominado de Al^{3+} (Scancar e Milacic, 2006; Ma et al., 2014; Singh et al., 2017). Al^{3+} permanece, predominantemente, retido pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al^{3+} em solução e, portanto, a quantidade de Al^{3+} em solução aumenta com a acidez do solo (Arunakumara et al., 2013; Ma et al., 2014; Sade et al., 2016; Singh et al., 2017).

O processo de acidificação do solo é muitas vezes intensificado por práticas agrícolas, pela mineração e por práticas de descarte de resíduos, isto é, resíduos de plantas, fertilizantes à base de nitrogênio e materiais nitrogenados de origem animal, como esterco (Lange et al., 2006). Todavia, os problemas de acidificação do solo podem ser corrigidos pela calagem. Entretanto, os corretivos da acidez são poucos solúveis e a ação da calagem é restrita às camadas superficiais do solo, fazendo com que os produtos da reação do calcário com o solo tenham mobilidade limitada, (Horst et al., 2010).

Nos solos ácidos, as plantas cultivadas podem não atingir a taxa de crescimento e produtividade ótima quando teores elevados de Al estão presentes devido, principalmente, as alterações estruturais no sistema radicular provocadas pelo Al que restringem a absorção dos nutrientes (Kochian et al., 2004; Horst et al., 2010; Silva 2012; Arunakumara et al., 2013; Emamverdian et al., 2015; Hodson e Evans 2020). Por ser um elemento de pouca mobilidade dentro da planta, o Al causa drástica inibição do crescimento radicular e provoca o engrossamento e diminuição da permeabilidade das células radiculares (Horst et al., 2010; Giongo e Bohnen, 2011; Silva, 2012; Arunakumara et al., 2013; Matsumoto e Motoda, 2012; 2013; Emamverdian et al., 2015; Freitas et al., 2015; Castro 2016; Dorneles et al, 2016). Os efeitos prejudiciais do Al^{3+} nas diversas espécies, são observados tanto no sistema radicular quanto na parte aérea (Silva 2012; Adrees et al., 2015; Emamverdian et al., 2015; Singh et al., 2017).

3.1.1. Toxicidade de Al nas trocas gasosas, pigmentos vegetais e densidade estomática

Os efeitos deletérios causados pela toxicidade de Al no crescimento da parte aérea não ocorrem como causa principal, mas sim como consequência secundária, isto é, o menor crescimento da parte aérea pode ser resultado da diminuição da atividade fotossintética, que por sua vez pode estar relacionada tanto com fatores estomáticos como não estomáticos (Konrad et al., 2005; Silva, 2012; Adrees et al., 2015; Emamverdian et al., 2015; Singh et al., 2017). A toxicidade do Al causa redução na condutância estomática e nas reações bioquímicas de fixação de CO₂ em algumas espécies (Peixoto et al., 2002; Silva et al., 2017; Su et al., 2020). Também causa injúrias na formação e na função do cloroplasto (Moustakas et al., 1996), afetando as membranas do tilacóide e o transporte de elétrons (Pereira et al., 2000; Peixoto et al., 2002), interferindo de forma direta na taxa de assimilação de CO₂.

Plantas tolerantes à presença do Al possuem estratégias que minimizam a toxicidade provocada por este elemento químico como, por exemplo, a imobilização nas paredes celulares; o aumento do pH na rizosfera, precipitando o alumínio em solução; o transporte ativo para fora do citoplasma celular e a liberação de ácidos orgânicos radiculares, os quais formam complexos ou quelatos com o Al, evitando assim a sua absorção pelas raízes. No entanto, a tolerância genética ao alumínio varia entre espécies e indivíduos de uma mesma espécie (Braccini et al., 2001; Peixoto et al., 2002; Gordin et al., 2013). Em diversas espécies, verificaram-se respostas diferenciais da taxa de assimilação líquida de CO₂ e de variáveis relacionadas à indução de fluorescência da clorofila em função do grau de tolerância ao Al (Pereira et al., 2000; Peixoto et al., 2002).

Em plantas bem hidratadas, a condutância estomática (gs) exerce controle sobre a taxa de transpiração (E), mantendo a folha na temperatura ideal para a fotossíntese e prevenindo danos causados pelo calor (Chaves et al., 2016). Então, um mesófilo bem hidratado é fundamental para fornecer pressão do turgor para o movimento estomático e controle total da transpiração (E). A gs varia continuamente de acordo com as mudanças no ambiente (Chaves et al., 2016).

Estudos feitos por Konrad et al. (2005) e Jiang et al. (2008) demonstraram que a toxicidade de Al provoca nas plantas uma menor taxa de assimilação de CO₂.

Estes estudos atribuem a diminuição induzida por Al, principalmente, ao baixo desempenho fotoquímico do que a menor gs, embora os resultados tenham evidenciado significativa redução do gs.

O alumínio provoca danos oxidativos pela inibição do ácido aminolevulínico desidratase, importante na biossíntese da clorofila. Dessa forma, a concentração reduzida de clorofila (Chls) pode refletir os danos induzidos pelo Al em folhas verdes (Gordin et al., 2013). Ainda, a parte das funções das Chls no processo fotossintético, podem ter ação antioxidante contra os efeitos do excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO), gerados em plantas sob estresses. De fato, alguns autores consideram que estes pigmentos possam ter atividade antioxidante, devido a transferência de hidrogênio embora, na realidade, os produtos secundários das Chls serem os responsáveis por causar inibição da oxidação de outras moléculas (Lanfermarquez et al., 2005; Taïbi et al., 2016). Para diagnosticar a integridade do aparato fotossintético em plantas submetidas às adversidades ambientais, como a toxicidade de Al, Carlin et al. (2012) e Lazarević et al. (2016), propuseram a utilização dos teores de Chls.

Outros pigmentos importantes que atuam como antioxidantes são os carotenoides (Car), carotenos e xantofilas, pigmentos lipossolúveis de cor amarela alaranjada, localizados em plastídeos (cloroplastos e cromoplastos), distribuídos na parte aérea e nas raízes dos vegetais (Wahid e Ghazanfar, 2006). Também, estes pigmentos têm fundamental importância no processo fotossintético, onde participam no complexo antena, nas membranas dos tilacoides e dos cloroplastos, com função específica fotoprotetiva, dissipando o excesso de energia de excitação na forma de calor (Nisar et al., 2015). Nos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo, a proteção antioxidante dos Car está na capacidade de sequestrar espécies altamente reativas, principalmente superóxido O_2^- (Mittler et al., 2004), protegendo as células dos danos oxidativos que podem afetar moléculas importantes do metabolismo vegetal como lipídeos, proteínas, carboidratos e, ainda, o material genético (Ahmad et al., 2013; Gill e Tuteja, 2010; Ramel et al., 2012; Taïbi et al., 2016).

Já as antocianinas (Anths) são pigmentos vegetais hidrossolúveis, derivados dos flavonoides glicosilados, presentes na organela vacuolar de diversos tecidos vegetais dos mais diferentes órgãos. Muito frequente nas folhas, a produção de Anths é benéfica para as plantas, devido a proteção dos cloroplastos à exposição de

radiação solar intensa (Winkel-Shirley, 2002; Gitelson e Merzlyak, 2004; Agati et al., 2012; Altangerel et al., 2017).

Em plantas sob estresse ocorre alterações no conteúdo de Anths, sejam respostas de diminuição significativa dos teores de Anth, como relatados por Winkel-Shirley (2002), em que a toxicidade de Al limitou a biossíntese de Anth, inibindo o acúmulo deste pigmento, sejam respostas relacionadas ao significativo acúmulo deste pigmento em plantas sob vários estresses, que proporciona ação antioxidante, permitindo estabilizar radicais livres e contribuir para a eliminação de ERO, pela inibição da peroxidação lipídica (Winkel-Shirley, 2002; Kovicich *et al.*, 2014; Landi et al., 2015).

3.1.2. Estresse oxidativo em plantas sob toxicidade por alumínio

As plantas em condições normais produzem erro, que são eliminadas por vários mecanismos de defesa antioxidante. O equilíbrio entre a produção e a eliminação de ERO pode ser alterado por vários fatores abióticos como salinidade, radiação UV, seca, metais pesados, temperaturas extremas, deficiência de nutrientes e poluição do ar (Gill et al., 2010).

A produção de ERO pode ocorrer nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomas. A eliminação rápida da ERO nos fotossistemas, antes de chegarem até o estroma e prejudicar o ciclo de Calvin, é um mecanismo de proteção dos cloroplastos (Asada, 2006). Uma série de reações pode acarretar a produção de O_2^- permitindo a produção de H_2O_2 (Gill e Tuteja, 2010). O H_2O_2 é um composto estável com relativa longa meia vida e pode causar inativação de enzimas (Gill e Tuteja, 2010), sendo relativamente pouco reativo quando comparado a outras ERO (Gratão et al., 2005; Bienert et al., 2007). O estudo deste composto tem permitido o acesso a uma gama de informações para se entender o estresse oxidativo (Demidchik, 2015).

De fato, o estresse oxidativo está relacionado com todos os estresses abióticos que atingem as plantas, desenvolvendo-se a partir do acúmulo de ERO, o que acarretará modificações químicas e fisiológicas que alteram diversas biomoléculas, sendo os lipídios as mais danificadas (Demidchik, 2015). Os produtos da peroxidação lipídica são altamente reativos, podendo se ligar a biomoléculas

como DNA e proteínas danificando-os irreversivelmente e causando prejuízos nas funcionalidades das células (Tabaldi et al., 2009).

A oxidação lipídica origina diversos produtos secundários que agravam o dano oxidativo, dentre eles o ácido malonaldeído (MDA) é o principal e mais estudado produto da peroxidação lipídica (Tabaldi et al., 2009; Guo et al., 2012, Adrees et al., 2015). O MDA é conhecido como um marcador molecular para designar peroxidação lipídica da membrana celular em plantas sob diferentes estresses abióticos e a concentração expressa o grau desta peroxidação e consequente dano celular (Sharma et al., 2012; Cooke e Leishman, 2016).

3.1.3. Mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo em plantas sob toxicidade de alumínio

As células vegetais possuem inúmeras estratégias para contornar o estresse oxidativo (Gill e Tuteja, 2010), dentre elas pode-se citar o sistema defensivo composto por antioxidantes enzimáticos como, por exemplo, superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), guaiacol peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), monode-hidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4), desidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1), glutathione-S-transferase (GST, EC 2.5.1.18), glutathione redutase (GSR EC 1.8.1.7) e por antioxidantes não enzimáticos como, por exemplo, ascorbato (AsA), glutathione (GSH), α -tocoferol e carotenoides que ajudam a desintoxicar as ERO. Algumas pesquisas também relataram a produção de ERO e alterações no sistema antioxidante como consequência da exposição ao Al, como nas raízes do milho, em que a exposição de 10 minutos ao tratamento com Al aumentou as ERO em todas as células epidérmicas, e continuou a aumentar durante a exposição ao estresse (Jones et al., 2006). Ainda em raízes de milho sob Al, Boscolo et al. (2003) relataram que, embora tenham constatado incremento da atividade da SOD e da APX, houve menor crescimento da raiz, sugerindo que o aumento da O_2^- e a produção de H_2O_2 deve estar relacionada à toxicidade do Al. Em feijão verde sob estresse por Al, Panda et al. (2003) verificaram aumento nas atividades de SOD, APX e GR, glutathione e ascorbato. Porém, constataram diminuição na atividade de CAT,

justificando que este resultado pode ser atribuído a fotossensibilidade desta enzima que necessita de síntese constante.

3.1.3.1. Enzimas antioxidantes

A enzima SOD constitui a primeira linha de defesa contra as ERO, catalisando a reação de dismutação do ânion O_2^- em H_2O_2 em todos os compartimentos subcelulares, incluindo cloroplastos, mitocôndrias, núcleo, peroxissomas, citoplasma e apoplastos (Gill et al., 2015). Inicialmente, acreditava-se que a SOD interagia com o armazenamento de Cu, porém, segundo Corpas et al. (2006) a SOD exibe três isoformas bem conhecidas: o Mn-SOD, exclusivo em mitocôndrias, o Cu/Zn-SOD, localizado em citosol, cloroplastos e peroxissomos e o Fe-SOD encontrado em peroxissomos, apoplastos e, principalmente, em cloroplastos.

A enzima APX pertence a uma enzima da família multigênica das hemes peroxidases, que reduzem o H_2O_2 com ascorbato como doador de elétrons, e está amplamente distribuída entre as plantas superiores. De acordo com Teixeira et al. (2006), a classificação de isoformas da APX varia de acordo com a localização subcelular específica: APX estromal (sAPX), APX ligada ao tilacóide (tAPX) em cloroplastos, mitocôndrias (mitAPX) e APX ligada à membrana de peroxissomas (mAPX) e APX citosólico (cAPX).

A atividade da enzima GPOX também é muito importante para a remoção de H_2O_2 . Alguns autores relataram o aumento da GPOX quando plantas foram submetidas a toxicidade por Al, indicando um aumento da produção de H_2O_2 e, com isso, maior atividade da enzima (Karataglis et al., 1991; devi e Prasad, 1998; Metwally et al., 2003; Meriga et al., 2004; Simonovicova et al., 2004; Hossain et al., 2005; Malekzadeh et al., 2012; 2015).

3.1.4. Parâmetros nutricionais em plantas sob estresse de Al

Nos solos ácidos, quando teores elevados de Al estão presentes, as plantas cultivadas podem não atingir a taxa de crescimento e produtividade ótimas devido, principalmente, as alterações estruturais no sistema radicular provocadas pelo Al que restringem a absorção dos nutrientes (Horst et al., 2010; Silva, 2012;

Arunakumara et al., 2013; Emamverdian et al., 2015; Rahman, et al., 2018). Tais alterações agem na inibição direta do sistema de absorção e/ou impedimento do crescimento da raiz e, conseqüente, redução na área de superfície absorvente de nutrientes (Panda e Baluska, 2015). Como resultado, a toxicidade de Al induz nas plantas sintomas de deficiência de nutrientes, tais como fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), potássio (K), zinco (Zn) e molibdênio (Mo), devido à interferência do Al^{3+} nos processos de absorção, transporte e utilização destes nutrientes pelas plantas (Horst et al., 2010; Silva, 2012; panda e Baluska, 2015; Rahman et al., 2018).

Em diversas espécies de plantas foram relatados desequilíbrios nutricionais induzidos pela exposição ao Al (Silva, 2012). No milho, o Al provocou efeitos negativos na absorção de macro e micronutrientes, sendo Ca, Mg, Mn e Zn os mais afetados e, além disso, houve maior acúmulo de Ca e Mg nos genótipos de milho tolerantes ao Al do que nos genótipos sensíveis (Mariano e Keltjens, 2005). Ainda em milho sob toxicidade de Al, Lidon et al. (2000) relataram redução de nutrientes nas raízes, exceto para os teores de K, Mn e Zn. No trigo, Silva et al. (2010) verificaram que, tanto os genótipos sensíveis quanto os tolerantes apresentaram uma diminuição nos teores de K e Mg nas raízes, enquanto os teores de Ca, Al e Si aumentaram. Ainda, os autores relataram que o genótipo sensível do trigo desencadeou mais desequilíbrios nutricionais à toxicidade de Al nas raízes e na parte aérea do que o genótipo tolerante. Em plantas de arroz a exposição ao Al ocasiona uma diminuição dos teores de K, Mg, Ca, P, Fe, Zn e Mn (Mendonça et al., 2003). Segundo Silva (2012) a tolerância diferencial ao Al pode ser devido a suas diferenças na absorção, capacidade de manter concentrações adequadas e usar os nutrientes de maneira eficiente. Ainda, diferenças na captação, acúmulo e translocação de nutrientes são evidentes entre e dentro das espécies vegetais.

O boro (B) pode prevenir danos causados pelo Al por ser um micronutriente que está relacionado com a biossíntese de compostos fenólicos (Peixoto et al., 2007), os quais podem formar complexos estáveis com o Al, contribuindo para a desintoxicação nos tecidos (Barcelo e Poschenrieder, 2002).

3.1.5. Acúmulo de lignina em plantas sob estresse de Al

A lignina é um polímero hidrofóbico aromático de natureza fenólica que impregna as redes de celulose e hemicelulose da parede celular, enrijecendo a célula e protegendo-a de interferências externas físicas e biológicas (Bosch et al., 2011; Vanholme et al., 2012; Yoon et al., 2015). Além disso, este composto confere resistência mecânica às paredes dos vasos condutores para suportar a pressão negativa resultante do processo transpiratório (Vincent et al., 2005).

A primeira etapa da síntese deste composto é a desaminação do aminoácido L-fenilalanina (proveniente da rota do ácido chiquímico), catalisada pela enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL), seguida pela hidroxilação do anel aromático pela enzima cinamato 4-hidroxilase, gerando *p*-coumarato (Frei, 2013; Ferro et al., 2015). O *p*-coumarato pode então seguir vias distintas, resultando nos monolignóis álcool *p*-coumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (Vanholme et al., 2012; Parizotto et al., 2015; Ferro et al., 2015). Posteriormente, os monolignóis passam ao apoplasto e sofrem polimerização oxidativa catalisada por enzimas como peroxidases de parede (POX) e lacases (LAC) formando os monômeros constituintes da lignina, o *p*-hidroxifenil, o guaiacil e o siringil, cujas proporções na molécula diferem entre as espécies e tecidos vegetais (Parizotto et al., 2015; Wang et al., 2013). As enzimas POX utilizam H₂O₂ como receptor de elétrons na oxidação dos monolignóis, enquanto as LAC reduzem O₂ neste processo (Frei, 2013; Wang et al., 2013).

A lignina é um composto de grande importância para o desenvolvimento do vegetal e sofre grande interferência com os níveis elevados de AL, já que o excesso desse composto químico causa aumento da deposição de lignina nas paredes celulares, como relatado nas culturas de trigo e milho (Sasaki et al., 1996; Budikova, 1999). Em plantas suscetíveis ao Al o acúmulo de lignina é maior e reduz drasticamente o crescimento. Tal inibição do crescimento está fortemente correlacionada com a extensão em que a lignina é depositada na parede celular, independentemente da tolerância a esse metal (Moura et al., 2010). Sob condições de estresse compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes e, em contraste, também como moléculas pró-oxidantes, em um dualismo de ação já observado para outras substâncias (Sakihama e Yamasaki, 2002).

3.2. Silício

Nas últimas décadas, pesquisas têm buscado técnicas alternativas para contornar o estresse que atinge as plantas como, por exemplo, os atenuadores dos estresses, os quais vem se tornando promissores para o efetivo no combate às condições adversas, visando a melhoria do crescimento e produtividade vegetal. Dentre os atenuadores de estresses, o Si vem sendo considerado benéfico na atenuação dos efeitos prejudiciais dos estresses bióticos e abióticos nas plantas (Cooke e Leishman, 2016; Kim et al., 2017; Hodson e Evans 2020).

O silício (Si) é o segundo elemento mais abundante nos solos, porém não se encontra na forma que as plantas são capazes de absorver. A absorção de silício pelas plantas dá-se de forma passiva, como ácido monossilícico, (H_4SiO_4), acompanhando a absorção da água (Jones e Handreck, 1967). Na solução do solo o ácido monossilícico varia de 0,1 a 0,6 $mmol L^{-1}$ (Epstein, 1999) e na água dos rios (usado na hidroponia) sua concentração fica por volta de 0,15 $mmol L^{-1}$ (Tréguer et al., 1995).

O Si mostra efeito benéfico no crescimento vegetal das plantas sob os mais variados estresses bióticos (Cooke e Leishman, 2016; Kim et al., 2017; Luyckx et al., 2017; Hodson e Evans 2020) e abióticos (Vasanthi et al., 2014). Este elemento atua na formação de complexos protetores e reguladores que como, por exemplo, na ativação de genes para estimulação dos sistemas antioxidantes, os quais reduzem a peroxidação de lipídeos da membrana plasmática, ocasionada pelo aumento da atividade antioxidante não enzimática, mediante a maior biossíntese ou a menor degradação dos pigmentos vegetais (Marafon e Endres, 2011; Dorneles et. al, 2019).

De acordo com Hodson e Evans (2020), o Si exogenamente pode melhorar a capacidade de eliminação de ERO pela regulação da atividade das enzimas antioxidante (Kim et al., 2017; Tripathi et al., 2017). Além disso, o padrão de regulação em várias plantas é diferente, dependendo do tempo de exposição ao estresse (Sharma et al., 2012; Kim et al., 2017). Além disso, o Si pode contribuir para a diminuição da transpiração e o aumento da eficiência fotossintética, os quais resultam no maior crescimento da planta, refletindo em ganhos de produtividade e de qualidade vegetal (Liang et al., 2007; Lima Filho, 2011; Guntzer et al., 2012; Marafon e Endres, 2013; Vasanthi et al., 2014; Castro e Crusciol, 2015; Jesus et al., 2017; Deshmukh et al., 2017; Bhat et al., 2019; Coskun et al., 2019).

Estresses como a toxicidade de Al são combatidos nas plantas pela suplementação com o Si (Adrees et al., 2015). Considerando que o Al pode atuar tanto *ex planta*, quanto *in planta*, a suplementação pode ocasionar a complexação do Si-Al tornando o Al indisponível à planta no ambiente *ex planta* (solo ou solução nutritiva) ou, se absorvido pelo vegetal (*in planta*), os efeitos tóxicos do Al são minimizados por uma série de fatores bioquímicos-fisiológicos induzidos pelo Si (Horst et al., 2010).

O efeito mitigador do Si em plantas estressadas pelo Al (*in planta*), foram verificados por vários autores em culturas de expressão econômica como o trigo (Cocker et al., 1998), milho (Horst et al., 2010; Giongo e Bohnen, 2011), arroz (Sing et al., 2011; Freitas et al., 2015), batata (Dorneles et al., 2019) e eucalipto (Lima et al., 2016).

Embora o Si demonstre respostas positivas em plantas cultivadas sob toxicidade por Al (Horst et al., 2010; Giongo e Bohnen, 2011; Freitas et al., 2015 e Dorneles et al., 2016) permanecem escassas as pesquisas sobre a aplicação de Si em cana-de-açúcar cultivada em solos com toxicidade de Al.

3.3. Cana-de-açúcar: cenário atual sob a toxicidade de Al e o uso de Si.

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas de importância econômica, devido a produção e acúmulo de sacarose, que é matéria-prima requerida para a produção de açúcar, etanol e seus subprodutos (Feng et al., 2014). Apesar da importância para a agricultura nacional, a cana-de-açúcar é difundida globalmente e, além do Brasil, outros quatro países como Índia, China, Tailândia e Paquistão são grandes produtores de cana-de-açúcar. Juntos os cinco países detêm cerca de 74% da produção mundial (Fao, 2017), sendo que o Brasil se sobressai na liderança mundial de produção de açúcar e etanol, com estimativa da safra 2018/2019 em 625,17 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, cultivada em uma área de 8,59 milhões de hectares, o que proporcionou atingir a produção de 31,3 milhões de toneladas de açúcar e 33,58 bilhões de litros de etanol (Unica, 2019), maior valor atingido na história do setor.

O cultivo de cana-de-açúcar tem se concentrado no Sudeste, na região da Mata Atlântica porém, para se obter uma maior capacidade de produção que é requerida para atender à crescente demanda interna e externa, o cultivo expandiu-

se para a região do Cerrado, a partir do ano 2000, em particular nos estados de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (EMBRAPA, 2019) que passaram a ser reconhecidos como a segunda principal região produtora de etanol e açúcar, alcançando elevadas produtividades, entre as maiores no cenário mundial. Tudo isto foi possível, devido ao Cerrado brasileiro ser considerado boa oportunidade de investimento, com boas condições agrícolas, facilidade de mecanização, preço de terras mais acessíveis, políticas favoráveis de incentivo fiscais, aliado às pesquisas e avanço tecnológico (Granco et al., 2017; Maia et al., 2018).

As áreas de Cerrado, tipo de savana tropical, é vasta no Brasil, totalizando cerca de 8,21% do território nacional (Lamber et al., 2020). Contudo, estas áreas não são adequadas para fins agriculturáveis, devido aos solos serem quimicamente pobres em nutrientes, pela condição de acidez ($\text{pH} \leq 5,5$), que proporciona elevada saturação por Al e baixa saturação por bases, fatores que interferem negativamente na produtividade vegetal (Ribeiro et al., 2015). De fato, estes solos caracteristicamente ácidos possuem Al trocável, o qual tende a ser o cátion dominante (Fageria e Baligar, 2008), e disponibilizam Al em nível tóxico, o que afeta negativamente a produtividade de plantas não adaptadas a esta condição de estresse. A aplicação de Si tem se mostrado benéfica na defesa das plantas aos estresses, inclusive em plantas sob toxicidade de Al.

Mesmo com condições mais propícias à maior produtividade, em clima tropical, como o do Brasil, a cana-de-açúcar, não é totalmente adaptada ao crescimento em solos com pH ácido, necessitando de solos corrigidos pela calagem, que aumenta o pH do solo pela neutralização dos íons H^+ e Al^{3+} (Rossetto et al., 2005). Nos solos ácidos do Brasil, a calagem é a prática de manejo mais comum na implantação do canavial. Porém, nas camadas maiores que 20 cm, é comum encontrar valores de Ca baixos (0 a 3 cmol c/dm^3) (Raij et al., 1997). Segundo Sousa et al. (2004), valores de Ca menores que 0,5 cmolc/dm^3 e $\text{m}\% > 20$ são prejudiciais a planta, sendo recomendada a gessagem para aumentar o teor de Ca em profundidade e reduzir o Al tóxico.

Por ser uma cultura semiperene e com ciclo de cinco a sete anos, o sistema radicular de cana-de-açúcar se desenvolve em maior profundidade (Vasconcelos et al., 2003) e, assim, passa a ter uma estreita relação com pH, saturação por bases, concentração de Al e teores de Ca, nas camadas mais profundas do solo, sendo estes fatores, por sua vez, correlacionados com a produtividade alcançada,

principalmente, em solos de baixa fertilidade e menor capacidade de reter umidade (Ohashi, 2014).

Mesmo sabendo-se que algumas cultivares de cana-de-açúcar são mais tolerantes ao Al que outras gramíneas (Hetherington et al., 1988; Watt, 2003; Quaggio e Van raij, 2008), e da ocorrência de maior tolerância ao Al entre as espécies de cana-de-açúcar, - por exemplo *Saccharum officinarum* é mais tolerante ao Al do que *Saccharum spontaneum* (Landell, 1989) - a obtenção de elevada produtividade da cultura é proporcionada em solos corrigidos em que há elevação do pH e a indisponibilização de Al³⁺.

Embora o Si não seja um elemento essencial para os vegetais (Brady, 1992; Epstein e Bloom, 2007), resultados positivos no aumento da produtividade devido a aplicação de Si são observados em plantas acumuladoras deste elemento, como ocorre na maioria das gramíneas (Marafon e Endres, 2013; Freitas et al., 2015; Bhat et al., 2019). De acordo com Guntzer et al. (2012), dentre as dez principais culturas mais produzidas no mundo, sete são culturas acumuladoras de Si, incluindo milho, arroz, beterraba, trigo e cana-de-açúcar. Camargo et al., (2011) salienta que pode ocorrer absorção de maior quantidade Si que N e K, que são os dois elementos mais absorvidos pela cultura. Segundo Korndorfer & Datnoff (1995) os teores de Si podem alcançar até 67 g kg⁻¹ nas folhas velhas. Camargo (2011) e Ma et al. (2014), consideram a cana-de-açúcar como uma cultura acumuladora, pois a gramínea apresenta mais que 10 g kg⁻¹ de Si.

Enquanto a maioria dos solos é abundante em silício (Si), outros solos altamente intemperizados, lixiviados, ácidos e pobres em saturação por bases, contêm menores quantidades deste elemento, em particular, a forma disponível para as plantas (Santos, 2017). Santos (2017) descreve que, em solos de Cerrado, ocorre baixa disponibilidade de Si, devido ao acentuado intemperismo e intensa taxa de dessilificação (perda de Si nos solos), que induz a baixa cinética de dissolução do Si no solo e adsorção pelos sesquióxidos presentes. Ainda, solos de clima tropical e são altamente intemperizados, onde os minerais primários contendo Si ocorrem em menor quantidade que nos solos temperados. Os teores são menores que 2 mg dm⁻³ (korndorfer & Datnoff, 1995), os quais podem ser 5 a 10 vezes menores que os observados em solos de regiões temperadas (McKeague e Cline, 1963).

Além disso, solos com cultivo de cana-de-açúcar podem ficar deficientes em Si, devido à alta extração ao longo dos ciclos consecutivos da cultura, que causa

redução dos teores solúveis de Si nos solos e, conseqüente, perda de quantidades consideráveis deste nutriente disponível para as plantas (Camargo, 2010, Silva et al., 2017). Assim, a aplicação de silicato em cana-de-açúcar pode ser utilizada em substituição total ou parcial à aplicação de calcário (Korndörfer et al., 2002).

O conteúdo de Si acumulado nos tecidos das plantas é variável de acordo com a espécie e cultivar (Epstein e Bloom, 2007; Ma e Yamaji, 2006). Assim, os benefícios conferidos pelo Si em cultivares de cana-de-açúcar evidenciam a variabilidade quanto à quantidade de Si acumulados (Camargo, 2011), tornando as plantas mais eretas, promovendo aumento da rigidez estrutural, e conferindo maior resistência ao acamamento e melhora na arquitetura da planta (SOUSA et al., 2010).

REFERÊNCIAS

Adrees, Muhammad et al. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 119: 186-197.

Agati, Giovanni et al. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant science** 196: 67-76

Ahmad, R.; Ju Lim, C.; Kwon, S. Y. (2013). Glycine betaine: a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. **Plant Biotechnology Reports** 7: 49–57.

Altangerel, Narangerel et al. (2017). In vivo diagnostics of early abiotic plant stress response via Raman spectroscopy. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 114: 3393-3396.

Arunakumara, K. U., Walpola, B.C., Yoon, M. (2013) Aluminum toxicity and tolerance mechanism in cereals and legumes-a review. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, 56: 1-9.

Asada, Kozi. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant physiology**, 141: 391-396.

Barboza Castanho, R., & Silveira Souto, T. (2014). The Importance of Rice Production in the Construction of Geographical Space: Evolution and Dynamics of Rice Production and the Insertion of New Crops in Ituiutaba (Minas Gerais-MG, Brasil) between 1930 and 2010. **Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía**, 23: 93-107.

Barcelo, J., Poschenrieder, C. (2002). Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, 48: 75-92.

Bhat, J. A., Shivaraj, S. M., Singh, P., Navadagi, D. B., Tripathi, D. K., Dash, P. K., Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. **Plants**, 8: 71.

Bian, M., Zhou, M., Sun, D. et al., (2013) Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal** 1: 91-104

Bienert, G. P., Moller, A. L., Kristiansen, K. A., Schulz, A., Møller, I. M., Schjoerring, J. K., Jahn, T. P. (2007). Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. **Journal of Biological Chemistry**, 282: 1183-1192.

Bojórquez-Quintal, E., Escalante-Magaña, C., Echevarría-Machado, I., & Martínez-Estévez, M. (2017) Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. **Frontiers in plant science** 8: 1767.

Bosch, M.; Mayer, C-D.; Cookson, A.; Donnison, I.S. (2011). Identification of genes involved in cell wall biogenesis in grasses by differential gene expression profiling of elongating and non-elongating maize internodes. **Journal of Experimental Botany** 62: 3545-3561.

Braccini, M. C. L., Martinez, H. E. P., Pereira, P. R. G., Sampaio, N. F., & Pereira, A. A. (2001). Tolerância de genótipos de cafeeiro ao alumínio em solução nutritiva. II. Teores de P, Ca e Al e eficiência ao P e Ca, but not the primary cause of elongation inhibition in Pea roots," **Plant Physiology** 125: 199–208.

Brady, N. C. (1992). The nature and properties of soil. 10. ed. New York: **Macmillan Publishing Company** 179-200.

Boscolo, P. R. S., M. Menossi, and R. A. Jorge, "Aluminum-induced oxidative stress in maize," *Phytochemistry*, v. 62, n. 2, pp. 181–189, 2003.

Budíková, S. (1999). Structural changes and aluminum distribution in maize root tissues. **Biologia Plantarum** 42: 259-266.

Camargo, M. S. (2011). Silício em cana-de-açúcar. **Pesquisa & Tecnologia** 8: 88.

Carlin, S. D., de Lima Rhein, A. F., & dos Santos, D. M. M. (2012). Simultaneous effect of water deficiency and aluminum toxicity in the soil in cultivar IAC91-5155 of sugarcane. **Semina: Ciências Agrárias** 33: 553-564.

Castro, G. S. A.; Crusciol, C. A. C. (2015). Efeitos da aplicação superficial de calcário dolomítico e silicato de cálcio e magnésio em soja e milho em rotação com adubação verde em região tropical. **Bragantia** 74: 311-321.

Castro, P. R. C.; Kluge, R. A. (ed). (2001). Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira. **Editores Stoller do Brasil**: 138.

Castro, P. R. C. **Fisiologia aplicada à cana-de-açúcar**: STAB, 2016. p. 19-29.

Chaves, M. M., Costa, J. M., Zarrouk, O., Pinheiro, C., Lopes, C. M., & Pereira, J. S. (2016). Controlling stomatal aperture in semi-arid regions—the dilemma of saving water or being cool?. **Plant science**, 251: 54-64.

Chen, L. S., Qi, Y. P., Jiang, H. X., Yang, L. T., & Yang, G. H. (2010). Photosynthesis and photoprotective systems of plants in response to aluminum toxicity. **African Journal of Biotechnology**, 9: 9237-9247.

Cocker, K. M., Evans, D. E., Hodson, M. J. (1998). The amelioration of aluminium toxicity by silicon in wheat (*Triticum aestivum* L.): malate exudation as evidence for an in planta mechanism. **Planta** 204: 318-323.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana safra 2019/20 - terceiro levantamento**, Brasília, 12/19, p. 58, 2019.

Cooke, J.; Leishman, M. R. (2016). Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition: a meta-analysis. **Functional Ecology** 30: 1340-1357.

Corpas, F. J., Fernandez-Ocana, A. et al. (2006). The expression of different superoxide dismutase forms is cell-type dependent in olive (*Olea europaea* L.) leaves. **Plant and cell physiology** 47: 984-994.

Coskun, D., Deshmukh, R., Sonah, H., Menzies, J. G., Reynolds, O., Ma, J. F., Bélanger, R. R. (2019). In defence of the selective transport and role of silicon in plants.

Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. New York: **Columbia University Press**, 126 p.

Daniels, J.; Roach, B. T. (1987). Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D. J. (Ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, p. 7-84.

Dawood, M., Cao, F., Jahangir, M. M., Zhang, G., & Wu, F. (2012). Alleviation of aluminum toxicity by hydrogen sulfide is related to elevated ATPase, and suppressed aluminum uptake and oxidative stress in barley. **Journal of Hazardous Materials** 209: 121-128

Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany** 109: 212-228.

Deshmukh, P., Unni, S., Krishnappa, G., & Padmanabhan, B. (2017). The Keap1–Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. **Biophysical reviews** 9: 41-56.

Devi, S. R., & Prasad, M. N. V. (1998). Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. **Plant Science** 138: 157-165.

Dorneles, A. O. S. et al. (2019). Aluminum stress tolerance in potato genotypes grown with silicon. **Bragantia** 78: 12-25.

Dorneles, A. O. S., Pereira, A. S., Rossato, L. V., Possebom, G., Sasso, V. M., Bernardy, K., Tabaldi, L. A. (2016). Silicon reduces aluminum content in tissues and ameliorates its toxic effects on potato plant growth. **Ciência Rural** 46: 506-512.

Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdorran, F., Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. **The Scientific World Journal**.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embrapa pesquisa cana-de-açúcar em área de expansão no Cerrado**. Brasília: EMBRAPA, 2015.

Epstein, E. (1999). Silicon. **Annual review of plant biology**, Davis, v. 50, n. 1, p. 641-664.

Epstein, E.; Bloom, A. J. (Ed.) (2007). **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, p. 403.

Fageria, N. K.; Baligar, V. C. (2008). Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable crop production. **Advances in agronomy** 99: 345-399.

FAO. **Food And Agriculture Organization**. Área colhida, rendimento e produção nos principais países produtores de cana-de-açúcar. 2017.

Feng, S. et al. (2014). Phytochemical contents and antioxidant capacities of different parts of two sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars. **Food chemistry** 151: 452, 2014.

Ferro, A.P.; Marchiosi, R.; Siqueira-Soares, R.C.; Bonini, E.A.; Ferrarese, M.L.L.; Ferrarese-Filho, O. (2015). Effects of cinnamic acid and ferulic acids on growth and lignification of maize roots. **Journal of Allelochemical Interactions** 1: 29-38.

Frei, M. (2013). Lignin: Characterization of a Multifaceted Crop Component. **The Scientific World Journal** 2013: 436517.

Freitas, L. B. D., Fernandes, D. M., & Maia, S. C. M. (2015). Silicon on the mineral nutrition and aluminum accumulation in upland rice plants. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 45: 440-448.

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry** 48: 909-930.

Gill, S. S., Anjum, N. A., Gill, R., Yadav, S., Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Tuteja, N. (2015). Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research** 22: 10375-10394.

Giongo, V., & Bohnen, H. (2011). Relation between aluminum and silicon in maize genotypes resistant and sensitive at aluminum toxicity. *Bioscience Journal* 27: 348-356.

Gordin, C. R. B., Marques, R. F., Rosa, R. J. M., dos Santos, A. M., & Scalon, S. D. P. Q. (2013). Emergência de plântulas e crescimento inicial do pinhão manso exposto a alumínio. *Semina: Ciências Agrárias* 34: 147-156.

Granco, G., Caldas, M. M., Bergtold, J. S., & Sant'Anna, A. C. (2017). Exploring the policy and social factors fueling the expansion and shift of sugarcane production in the Brazilian Cerrado. *GeoJournal* 82: 63-80.

Gratão, P. L., Polle, A., Lea, P. J., & Azevedo, R. A. (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional plant biology* 32: 481-494.

Guntzer, F., Keller, C., & Meunier, J. D. (2012). Benefits of plant silicon for crops: a review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 201-213.

Guo, T. R.; Zhang G. P.; Zhou M. X.; Wu F. B.; Chen J. X. (2012). Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. *Pedosphere* 17; 505-512.

Gupta, N., Gaurav, S.S., Kumar, A. (2013) Molecular basis of aluminium toxicity in plants: a Review. *American Journal of Plant Science* 4: 21-37.

Hetherington, S. J.; Asher, C. J.; Blamey, F. P. C. (1988). Comparative tolerance of sugarcane, navy bean, soybean and maize to aluminum toxicity. *Australian Journal of Agricultural Research* 39: 171-176.

Hodson, M. J., & Evans, D. E. (2020). Aluminium–silicon interactions in higher plants: an update. *Journal of Experimental Botany*.

Horst, W. J., Wang, Y., Eticha, D. (2010). The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Annals of botany* 106: 185-197.

Hossain, M. A., A. K. M. Z. Hossain, T. Kihara, H. Koyama, and T. Hara. (2005). Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in H₂O₂ generation in wheat seedlings. *Soil Science and Plant Nutrition* 51: 223–230.

Inostroza-Blancheteau, C., Rengel, Z., Alberdi, M., de la Luz Mora, M., Aquea, F., Arce-Johnson, P., & Reyes-Díaz, M. (2012). Molecular and physiological strategies to increase aluminum resistance in plants. *Molecular Biology Reports*, 39: 2069-2079.

Jesus, L. R., Batista, B. L., & da Silva Lobato, A. K. (2017). Silicon reduces aluminum accumulation and mitigates toxic effects in cowpea plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: 138.

Jiang, H.-X., Chen, L.-S., Zheng, J.-G., Han, S., Tang, N. and Smith, B. R. (2008). Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescenc cetransient. **Tree Physiol** 28: 1863-1871

Jones, D. L., and L. V. Kochian. (1997). Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzymemetal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity. **FEBS Letters** 400: 51–57.

Jones, D. L., E. B. Blancaflor, L. V. Kochian, and S. Gilroy. (2006). Spatial coordination of aluminium uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. **Plant, Cell and Environment** 29: 1309–1318.

Karataglis, S., Moustakas, M., & Symeonidis, L. (1991). Effect of heavy metals on isoperoxidases of wheat. **Biologia Plantarum**, 33: 3-9.

Kim, Y. H., Khan, A. L., Waqas, M., & Lee, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. **Frontiers in Plant Science** 8: 510.

Kochian, L. V., Pineros, M. A., Hoekenga, O. A. (2005) The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant and Soil*, **274**(1-2), 175-195. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1158-7>

Konrad, M. L. F., Silva, J. A. B. D., Furlani, P. R., & Machado, E. C. (2005). Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, 64: 339-347.

Kochian, L. V., Piñeros, M. A., Jiping, L. et al. (2015) Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annual Review of Plant Biology** 66: 571-598.

Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P. et al. (2016) Kinetics and nature of aluminium rhizotoxic effects: a review. **Journal of experimental botany** 67: 4451-4467.

Korndörfer, G. H.; Datnoff, L. E. (1995). Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana de açúcar e do arroz. **Informações Agronômicas** 70: 1-5.

Korndörfer, G. H.; Pereira, H. S.; Camargo, M. S. Silicatos de Cálcio e Magnésio na Agricultura. Uberlândia-MG: MG-GPSi/ICIAG/UFU. **Boletim Técnico**, Uberlândia, v. 1, 24 p., 2002.

Kovinich, N., Kayanja, G., Chanoca, A., Riedl, K., Otegui, M. S., & Grotewold, E. (2014). Not all anthocyanins are born equal: distinct patterns induced by stress in Arabidopsis. **Planta**240: 931-940.

Lambers, H., de Britto Costa, P., Oliveira, R. S., & Silveira, F. A. (2020). Towards more sustainable cropping systems: lessons from native Cerrado species. **Theoretical and Experimental Plant Physiology** 32: 175-194.

Landell, M. G. A. et al. Potencialidade de novas variedades de cana-de-açúcar. In: Marques, M. O.; Mutton, M. A.; Azania, A. A. P. M.; Tasso Junior, L. C.; Nogueira, G. A.; Vale, D. W. (Ed.). **Tópicos em Tecnologia Sucroalcooleira**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda, p. 17-30, 2006.

Landell, M. G. A. (1989). Comportamento da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) frente a níveis de alumínio, em solução nutritiva. 117f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal

Landi, M., Tattini, M., & Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. **Environmental and Experimental Botany** 119: 4-17.

Lanfer-Marquez, U. M.; Barros, R. M.; Sinnecker, P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. **Food Research International** 38: 885-891.

Lange, A.; Carvalho, J. L. N.; Damin, V.; Cruz, J. C.; Marques. (2006). Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema de semeadura direta na cultura do milho. **Ciência Rural** 36: 460-467,

Lazarević, B., Jurkić, V., Mušić, M., & Poljak, M. (2016). Effect of aluminium toxicity on concentration of photosynthetic pigments in two potato cultivars with different aluminium sensitivity. In **VI Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes** 1142: 61-66.

Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y. G., & Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental pollution** 147: 422-428.

Lidon, F. C., & Teixeira, M. G. (2000). Oxy radicals production and control in the chloroplast of Mn-treated rice. **Plant Science**, 152: 7-15.

Lima Filho, O. F. (2011). O silício é um fortificante e antiestressante natural para as plantas. **Embrapa Agropecuária Oeste**, Belo Horizonte.

Lima, M. D. R., Barros, J. U., Barbosa, M. A. M., Segura, F. R., Silva, F. F., Batista, B. L., & Lobato, A. K. S. (2016). Silicon mitigates oxidative stress and has positive effects in *Eucalyptus platyphylla* under aluminium toxicity. **Plant, Soil and Environment**, 62: 164-170.

Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S., & Guerriero, G. (2017). Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. **Frontiers in Plant Science** 8: 411.

Ma, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in plant science**, Kurashiki, v. 11, n. 8, p. 392-397, 2006.

Ma, J. F. (2007) Syndrome of aluminum toxicity and diversity of aluminum resistance in higher plants. **International Review of Cytology** 264: 225-252.

Ma, T., Yang, H., Lu, L. (2014). Development of a model to simulate the performance characteristics of crystalline silicon photovoltaic modules/strings/arrays. **Solar Energy** 100: 31-41.

Ma. Tahir, Rahmatullah, T., Aziz, M., Ashraf, S., Kanwal, S., & Maqsood, M. A. (2006). Beneficial effects of silicon in wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*, 38(5), 1715-1722.

Machado, E. C., & Pereira, A. R. (1990). Conversion efficiency and maintenance coefficient in the whole plant, the roots and the aerial parts in maize and rice submitted to aluminium stress. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 25: 845-855.

Maia, C. et al. (2018). Phenotypic plasticity of sugarcane genotypes under Aluminum Stress. **Journal of Experimental Agriculture International** 22: 1-11.

Malekzadeh, P., Mehr, R. S., & Hatamnia, A. A. (2015). Effects of aluminum toxicity on maize (*Zea mays* L.) seedlings. **J Plant Physiol** 5: 1289-1296.

Manzatto, C. V., Assad, E. D., BACA, J. F. M., Zaroni, M. J., & Pereira, S. E. M. (2009). Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar: expandir a produção, preservar a vida, garantir o futuro. *Embrapa Solos-Documentos (INFOTECA-E)*.

Marafon, A. C. (2011). Análise quantitativa de crescimento em cana-de-açúcar: uma introdução ao procedimento prático. **Embrapa Tabuleiros Costeiros-Documentos (INFOTECA-E)**, 1-31.

Marafon, A. C.; Endres, L. (2013). Silicon: fertilization and nutrition in higher plants. **Revista de Ciências Agrárias: Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, Aracaju 56: 380-388.

Mariano, E. D., & Keltjens, W. G. (2005). Long-term effects of aluminum exposure on nutrient uptake by maize genotypes differing in aluminum resistance. **Journal of Plant Nutrition**, 28: 323-333.

Marschner, B., U. Henke, and G. Wessolek. (1995). Effects of meliorative additives on the adsorption and binding forms of heavy-metals in contaminated topsoil from a former sewage farm. **Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde**, 158: 9–14.

Matsumoto, H., & Motoda, H. (2012). Aluminum toxicity recovery processes in root apices. Possible association with oxidative stress. **Plant Science** 185: 1-8.

Matsumoto, H., & Motoda, H. (2013). Oxidative stress is associated with aluminum toxicity recovery in apex of pea root. **Plant and soil** 363: 399-410.

Mckeague, J. A.; Cline, M. G. (1963). Silica in soil solutions. I. The form and concentration of dissolved silica in aqueous extracts of some soils. **Canadian Journal of Soil Science** 43: 70-82.

Mendonça, R. J. D., Cambraia, J., Oliveira, J. A. D., & Oliva, M. A. (2003). Aluminum effects on the uptake and utilization of macronutrients in two rice cultivars. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira** 38: 843-848.

Meriga, B., Reddy, B. K., Rao, K. R., Reddy, L. A., & Kishor, P. K. (2004). Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). **Journal of plant physiology** 161: 63-68.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., & Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. **Plant physiology** 132: 272-281.

Mitani, N., Chiba, Y., Yamaji, N., & Ma, J. F. (2009). Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. **The Plant Cell**, 21: 2133-2142.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science**, 9: 490-498.

Moura, J. C. M. S., Bonine, C. A. V., de Oliveira Fernandes Viana, J., Dornelas, M. C., Mazzafera, P. (2010). Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. **Journal of integrative plant biology** 52: 360-376.

Moustakas, M., Ouzounidou, G., Eleftheriou, E. P., Lannoye, R. (1996). of the photosynthetic apparatus. **Plant Physiol. Biochem** 34: 553-560.

Mozambani, A. E. et al. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: Segato, S. V.; Pinto, A. S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J. C. M. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, 2006.

Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., & Pogson, B. J. (2015). Carotenoid metabolism in plants. **Molecular plant**, 8: 68-82.

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

Panda, S. K., & Baluška, F. (Eds.). (2015). *Aluminum stress adaptation in plants*. Switzerland: Springer International Publishing.

Panda, S. K., L. B. Singha, and M. H. Khan. (2003). Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vignaradiata*)?. **Journal of Plant Physiology** 29: 77–86.

Parizotto, A.V.; Bubna, G.A.; Marchiosi, R.; Soares, A.R.; Ferrarese, M.L.L.; Ferrarese-Filho, O. Benzoxazolin-2(3H) -one inhibits soybean growth and alters the monomeric composition of lignin. *Plant Signaling and Behavior*, v.10, n.2, e989059, 2015.

Peixoto, H. P., Da Matta, F. M., Da Matta, J. C. (2002). Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars.

Peixoto, P. H. P., Pimenta, D. S., Cambraia, J. (2007). Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio.

Pereira, W. E., de Siqueira, D. L., Martínez, C. A., & Puiatti, M. (2000). Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *Journal of plant physiology* 157: 513-520.

Quaggio, J. A., & van Raij, B. (2008). Cálcio, magnésio e correção da acidez do solo. *Cana-de-açúcar*, 313-321.

Raij, B. V., Cantarella H., Quaggio, J. A., & Furlani, A. M. C. (1997). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo (Vol. 285). Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC.

Rahman, M., Lee, S. H., Ji, H. C., Kabir, A. H., Jones, C. S., & Lee, K. W. (2018). Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: current status and opportunities. *International journal of molecular sciences* 19: 3073.

Ramel, F., Birtic, S., Ginies, C., Soubigou-Taconnat, L., Triantaphylidès, C., & Havaux, M. (2012). Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 5535-5540.

Ribeiro, N. V.; Ferreira, L. G.; Ferreira, N. C. (2015). Padrões e impactos ambientais da expansão atual do cultivo da cana-de-açúcar: uma proposta para o seu ordenamento no bioma Cerrado. *Ateliê Geográfico* 9: 99-113.

Rossetto, R.; Dias, F. L. F. (2005). Nutrição e adubação de cana-de-açúcar: indagações e reflexões. *Encarte Informação Agronomicas Potafos* 110: 6-11.

Sade, H., Meriga, B., Surapu, V., Gadi, J., Sunita, M. S. L., Suravajhala, P., & Kishor, P. K. (2016). Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. *Biometals* 29: 87-210.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.

Salibe, A. C. **O usineiro é senhor de engenho?** A influência das mídias na formação da imagem do produtor de açúcar e de álcool, na região de Araçatuba/SP.

2002. 146 f. Dissertação (Mestrado em Comunicação) – Universidade Paulista, São Paulo, 2002.

Santos, G. A. **Silício na produção de cana-de-açúcar**. 2017. 111 f. Tese (Doutorado em Agronomia, Fitotecnia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

Sasaki, M., Yamamoto, Y., & Matsumoto, H. (1996). Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots. **Physiologia Plantarum** 96: 193-198.

Ščančar, J., & Milačič, R. (2006). Aluminium speciation in environmental samples: a review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, 386: 999-1012.

Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. **Applied biochemistry and biotechnology** 167: 2225-2233.

Shen, S., Chen, D., Li, X., Li, T., Yuan, M., Zhou, Y., & Ding, C. (2014). Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from leaves of *Paris polyphylla*. **Carbohydrate polymers**, 104: 80-86.

Singh, S., Tripathi, D. K., Singh, S., Sharma, S., Dubey, N. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. **Environmental and Experimental Botany** 137: 177-193

Silva, S. et al. (2017). Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. **Critical reviews in food science and nutrition** 57: 3072-3083.

Silva, S. (2012). Aluminium toxicity targets in plants. *Journal of Botany*, 2012.

Silva, S., Pinto-Carnide, O., Martins-Lopes, P., Matos, M., Guedes-Pinto, H., & Santos, C. (2010). Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in an Al sensitive vs. tolerant wheat. **Environmental and Experimental Botany** 68: 91-98.

Šimonovičová, M., Tamás, L., Huttová, J., & Mistrík, I. (2004). Effect of aluminium on oxidative stress related enzymes activities in barley roots. **Biologia Plantarum** 48: 261-266.

Sing, V. P., Tripathi, D. K., Kumar, D., & Chauhan, D. K. (2011). Influence of exogenous silicon addition on aluminium tolerance in rice seedlings. *Biological Trace Element Research*, 144, 1260-1274.

Singh, S., Tripathi, D. K., Singh, S., Sharma, S., Dubey, N. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. **Environmental and Experimental Botany** 137: 177-193.

Sousa Junior, G. S. **Silício atenua os efeitos do alumínio tóxico em plantas jovens de cana-de-açúcar cultivadas em hidroponia**. 2017. 64f. Dissertação

(Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal, 2017.

Sousa, R. T. X. de; KORNDORFER, G. H.; WANGEN, D. R. B. (2010). Aproveitamento de silício proveniente de escória siderúrgica por cultivares de cana-de-açúcar. **Bragantia** 69: 669-676.

Su, L., Lv, A., Wen, W., Zhou, P., & An, Y. (2020). Auxin Is Involved in Magnesium-Mediated Photoprotection in Photosystems of Alfalfa Seedlings Under Aluminum Stress. **Frontiers in Plant Science** 11: 746.

Tabaldi, L. A., Cargnelutti, D., Gonçalves, J. F., Pereira, L. B., Castro, G. Y., Maldaner, J., ... & Nicoloso, F. T. (2009). Oxidative stress is an early symptom triggered by aluminum in Al-sensitive potato plantlets. **Chemosphere** 76: 1402-1409.

Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M., & Mulet, J. M. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Botany** 105: 306-312.

Teixeira, F. K., Menezes-Benavente, L., Galvão, V. C., Margis, R., & Margis-Pinheiro, M. (2006). Rice ascorbate peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different subcellular compartments. **Planta**, 224: 300.

Tréguer, P. et al. (1995). The silica balance in the world ocean: a reestimate. **Science** 268: 375-379.

Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K., & Chauhan, D. K. (2017). Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry** 110: 70-81.

UNICA União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Safra 2017/2018 encerrada no centro – sul atinge 596,31 milhões de toneladas.**

Vanholme, R.; Morreel, K.; Darrach, C.; Oyarce, P.; Grabber, J.H.; Ralph, J.; Boerjan, W. (2012). Metabolic engineering of novel lignin in biomass crop. **New Phytologist** 196: 978-1000.

Vardar, F., Ünal, M. (2007). Aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Advances in Molecular Biology**, 1: 1-12.

Vasanthi, N.; Saleena, L. M.; Raj, S. A. (2014). Silicon in crop production and crop protection-A review. **Agricultural Reviews** 35: 14-23.

Vasconcelos, A. C. M. et al. Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Jaboticabal, p. 849-858, 2003.

Vincent, D.; Lapierre, C.; Pollet, B.; Cornic, G.; Negroni, L.; Zivy, M. (2005). Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A Proteomic investigation. **Plant Physiology** 137: 949-960.

Wahid, A., & Ghazanfar, A. (2006). Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. **Journal of plant physiology** 163: 723-730.

Wang, Y.; Chantreau, M.; Sibout, R.; Hawkins, S. (2013). Plant cell wall lignification and monolignol metabolism. **Frontiers in Plant Science** 4: 220.

Wang, Y.X.; Stass, A.; Horst, W.J. Apoplastic binding of aluminium is involved in silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in maize. **Plant Physiology** 136: 3762–3770, 2004.

Watt, D. A. (2003). Aluminium-responsive genes in sugarcane: identification and analysis of expression under oxidative stress. **Journal of Experimental Botany** 55: 1163-1174.

Winkel-Shirley, B. (2002). Molecular genetics and control of anthocyanin expression.

Yang, Z. B., Rao, I. M., Horst, W. J. (2013) Interaction of aluminium and drought stress on root growth and crop yield on acid soils. **Plant and Soil** 372: 3-25.

Yoon, Jinmi; Choi, Heebak; AN, Gynheung. (2015). Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. **Journal of integrative plant biology** 11: 902-912.

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO SILÍCIO NOS ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PLANTAS JOVENS DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB ESTRESSE POR ALUMÍNIO EM CULTIVO HIDROPÔNICO

RESUMO - O cultivo de cana-de-açúcar teve ampla expansão direcionada para a região dos cerrados, caracterizada por solos ácidos e com altos teores de alumínio (Al). Alguns elementos tem sido usados para aliviar o estresse em plantas e os benefícios da aplicação de Silício (Si) em várias pesquisas recentes enfatizam a melhoria da produtividade em plantas sob estresse. Diante disso, este estudo teve por objetivo verificar o efeito atenuador do Si em plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al. Os experimentos foram realizados utilizando-se duas cultivares de cana-de-açúcar (CTC9003 e CTC9002) cultivadas sob concentrações Al (0, 10, 15 e 20mg L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃.18H₂O) na ausência ou presença de Si (2,0 mmol L⁻¹ de K₂SiO₃). Foram avaliados os pigmentos vegetais (clorofilas *a*, *b*, carotenoides e antocianinas), trocas gasosas, densidade estomática, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ácido malondialdeído (MDA) e as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e guaiacol peroxidase (GPOX), área foliar e massa seca. Os resultados evidenciaram que, nas plantas estressadas com Al, a aplicação de Si causou maiores taxa de trocas gasosas, maior densidade de estômatos, menor redução das clorofilas *a* e *b*. O estresse oxidativo nas plantas sob toxicidade de Al foi amenizado pelo Si. Evidenciado pela menor peroxidação lipídica, aumento das enzimas antioxidantes (SOD, APX e GPOX) e dos pigmentos antioxidantes (carotenoides e antocianinas). Em plantas estressadas a aplicação de Si promoveu maior crescimento do que naquelas sem Si. A cv. CTC9003 apresentou melhor resposta de atenuação do estresse pelo Si.

Palavra-chave: enzimas antioxidantes, elemento benéfico, trocas gasosas, pigmentos vegetais, *Saccharum spp.*

CHAPTER 2 - SILICON EFFECT IN THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ATTRIBUTES OF YOUNG SUGARCANE PLANTS UNDER ALUMINUM STRESS IN HYDROPONIC CULTIVATION

ABSTRACT - Sugar cane cultivation was widely directed to cerrado biome areas, characterized by acidic soils and with high levels of aluminum (Al). Some elements have been used to alleviate stressed plants and the benefits of Silicon (Si) application in several recent researches emphasizes the improvement productivity in plants under stress. Therefore, this study aimed to verify the attenuating effect of Si in young sugar cane plants in Al toxicity. The experiments were performed using two sugarcane cultivars (CTC9003 e CTC9002) under four concentrations of Al (0, 10, 15 e 20mg L⁻¹ Al₂(SO₄)₃.18H₂O) in the absence and presence of Si application (0 and Si 2,0 mmol L⁻¹ K₂SiO₃). Pigments (chlorophylls a, b, carotenoids and anthocyanins), gas exchange, stomatal density, hydrogen peroxide, (H₂O₂), lipid peroxidation (malondialdehyde [MDA]), antioxidant enzymes activities (superoxide dismutase, SOD; ascorbate peroxidase, APX; guaiacol peroxidase, GPOX), leaf area and dry biomass were analyzed. The results indicated that Si application caused higher gas exchange rate, stomata density, reduction in chlorophylls a and b in Al stressed plants. Oxidative stress in plants under Al toxicity was alleviated by Si. This was evidenced by lower lipid peroxidation, increased antioxidant enzymes (SOD, APX and GPOX) and antioxidant pigments (carotenoids and anthocyanins). In stressed plants, Si application promoted greater growth than in those without Si. The CTC9003 showed a better stress attenuation response by Si.

Keywords: antioxidant enzymes, beneficial elements, gas exchange, pigments, *Saccharum spp.*

1. INTRODUÇÃO

A toxicidade do Al é considerada um dos mais importantes problemas de toxicidade de metais em solos com $\text{pH} \leq 5,5$, por representar um fator limitante de crescimento para as plantas. Quando o pH fica abaixo de 5,5, argilas de silicato de Al e minerais de hidróxido de alumínio começam a se dissolver, liberando cátions de hidróxido de Al e $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}(\text{Al}^{3+})$, que trocam com outros cátions. Nestas condições, o Al também forma as espécies mononucleares AlOH^{2+} , $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Al}(\text{OH})_4$, onde as espécies mononucleares Al^{3+} e Al_{13} são consideradas as formas mais tóxicas (Panda et al., 2009; Silva, 2012; Panda e Baluska, 2015; Singh et al., 2017).

O Al é um elemento de pouca mobilidade dentro da planta, provocando efeito tóxico mais acentuado nas raízes e inibindo o crescimento pela redução do alongamento celular, maior engrossamento e a diminuição da permeabilidade das células radiculares (Silva, 2012; Baluška e Mancuso, 2013; Emamverdian et al., 2015). Ainda, esta toxicidade causa drásticos efeitos deletérios na parte aérea das plantas, que apresentam redução dos teores de pigmentos fotossintéticos como clorofilas, alterações nas trocas gasosas, influenciando em menor fotossíntese e, conseqüente, menor crescimento vegetal (Silva 2012; Jesus et al., 2017). De modo geral, os danos oxidativos que ocorrem nas plantas sob vários estresses levam ao aumento significativo das espécies reativas de oxigênio (ERO) que ocasionam outro estresse secundário, denominado estresse oxidativo, (Gill e Tuteja, 2010; Sharma et al., 2012). Contudo, deve ser ressaltado que ERO estão presentes nas células vegetais em condições normais, principalmente como subprodutos da atividade aeróbia e do metabolismo fotossintético (Tripathy e Oelmüller, 2012). Assim, como na maioria das respostas causadas por qualquer estresse, a toxicidade do Al aumenta a produção de ERO e o controle das plantas passa a ser insuficiente (Chadra et al, 2020.). Vários autores verificaram que, as alterações causadas por Al no sistema REDOX das células vegetais podem induzir ao excesso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ocasionando a peroxidação lipídica, a qual consiste na degradação oxidativa dos lipídios da membrana celular, resultando em significativos danos nas células (Silva, 2012; Singh et al., 2017). A oxidação lipídica origina

diversos produtos secundários que agravam o dano oxidativo, entre eles o malonaldeído (MDA), que é o principal e mais estudado produto deste processo e pode ser considerado um indicador de estresse (Gill e Tuteja, 2010; Sharma et al., 2012; Adrees et al., 2015).

Plantas sob estresse apresentam estratégias de defesa contra as ERO aumentando os compostos antioxidantes, podendo ser pela maior atividade de antioxidantes não enzimáticos ou pela maior atividade de enzimas antioxidantes. Com relação aos compostos antioxidantes não enzimáticos, pesquisas apontam que, os metabólitos secundários como os pigmentos vegetais, clorofilas (Chls *a* e Chls *b*), carotenoides (Cars) e antocianinas (Anths), podem combater os danos oxidativos gerados pelos estresses nas plantas (Streit et al., 2005; Wahid, 2007; Ramel et al., 2012; Agati et al., 2012; Silva et al., 2017).

As clorofilas (Chls) são grupos de pigmentos verdes naturais, mais abundantes presentes nas plantas, ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais ativos, e estão diretamente envolvidas em reações fotoquímicas da fotossíntese, desempenhando importante função na adaptação das plantas ao meio ambiente e na tolerância às condições de estresses abióticos (Streit et al., 2005). Os teores de Chls podem ser utilizados para diagnosticar a integridade do aparato fotossintético em plantas submetidas às adversidades ambientais, como a toxicidade do Al (Lazarevic, et al., 2014).

Car são pigmentos lipossolúveis encontrados em plantas com direta participação no complexo antena nas membranas dos tilacoides no cloroplasto com função fotoprotetiva nas Chls (Nisar et al., 2015) e nos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo (Gill e Tuteja, 2010). Os carotenoides atuam como antioxidantes nos tecidos fotossintéticos, inativando o oxigênio singlete por meio de uma reação física (Ramel et al., 2012). Estudos evidenciaram a ação antioxidante das Chls e Cars em cana-de-açúcar sob efeito dos estresses abióticos como estresse térmico por aquecimento (Wahid, 2007), salinidade (Gomathi et al., 2011), alagamento (Bajpal e Chandra, 2015) e deficiência hídrica (Santos e Silva, 2015).

Anths são pigmentos hidrossolúveis, pertencentes ao grupo de metabólitos secundários vegetais conhecidos como flavonoides e no vegetal tem a função fotoprotetiva aos danos provocados pela luz UV na folha, regulando a fotossíntese

(Landi et al., 2015; Turnbull, 2019). Alguns estudos identificaram as Anth como pigmentos protetores dos efeitos dos estressores do meio ambiente, como deficiência hídrica do solo, radiação UV-B, temperaturas extremas e metais pesados (Agati et al., 2012; Silva et al., 2017). Em plantas sob estresse ocorre alterações no conteúdo de Anths, sejam respostas de diminuição significativa dos teores de Anth, como relatados por Winkel-Shirley (2002), em que a toxicidade de Al limitou a biossíntese de Anth, inibindo o acúmulo deste pigmento ou respostas relacionadas ao significativo acúmulo deste pigmento em plantas sob vários estresses, que proporciona ação antioxidante, permitindo estabilizar radicais livres e contribuir para a eliminação de ERO, pela inibição da peroxidação lipídica (Chalker-Scott, 1999; Kovicich et al., 2014; Landi et al., 2015; Silva et al., 2017). Em cana-de-açúcar, a função antioxidativa deste pigmento foi estudada para combater os efeitos dos estresses abióticos, como resfriamento (Zhu et al., 2013) e salinidade (Passamani et al., 2017). Estudos já comprovaram que estes pigmentos podem ser utilizados como indicadores dos estresses abióticos em plantas (Kovicich et al., 2015).

Com relação aos antioxidantes enzimáticos, destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e guaiacol peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7). A enzima SOD é a primeira enzima no mecanismo de defesa antioxidante da planta que converte os radicais ânion superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água, conferindo proteção contra os efeitos nocivos do radical superóxido altamente reativo. A enzima APX catalisa a reação de conversão do H_2O_2 em H_2O e O_2 e a GPOX reduz o H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos e lipídicos, ajudando as células das plantas contra o estresse oxidativo (Caverzan et al., 2016; Jesus et al., 2017; Borjas-Ventura et al., 2019).

Um dos métodos alternativos envolvendo a atenuação dos efeitos negativos do estresse pode ser a aplicação de Si como fertilizante, na raiz ou suprimento foliar (Sacala, 2009; Guntzer et al., 2012; Deshmukh et al. 2017; Bhat et al., 2019). Muitas plantas, principalmente as espécies monocotiledôneas, contêm grandes quantidades de Si, cerca de até 10% da massa seca (Sacala, 2009). Resultados positivos da suplementação de Si são observados em plantas acumuladoras de Si, quando estas estão sob algum estresse abiótico ou biótico, como cana-de-açúcar (Bezerra et al.,

2019). Apesar do alto acúmulo de Si nas plantas, até o momento não foi considerado um elemento essencial para plantas superiores (Sacala, 2009; Guntzer et al., 2012).

Os benefícios do Si no combate ao estresse vegetal são devido à atuação na formação de complexos protetores e reguladores, que conduzem a minimização da transpiração e maximização da fotossíntese, o que infere no aumento do crescimento e ganhos de produtividade e de qualidade (Guntzer et al., 2012; Jesus et al., 2017; Bhat et al., 2019; Coskun et al., 2019; Zargar et al., 2019; Sourì et al., 2020). A suplementação de Si melhora os efeitos tóxicos do Al em trigo (Cocker et al., 1998), milho (Wang et al. 2004) e arroz (Sing et al., 2011). Tal suplementação estimula um dos principais mecanismos da atenuação, e.g., maior atividade dos sistemas antioxidantes nas plantas (Shen et al., 2014; Coskun et al., 2019).

Tendo como hipótese que o Si atenua os efeitos deletérios dos estresses abióticos nas plantas, o presente estudo teve por objetivo verificar em plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al alguns parâmetros bioquímicos e fisiológicos: (i) pigmentos vegetais (Chls a Chls b, Cars e Anths); (ii) peroxidação lipídica (H₂O₂ e MDA); (iii) atividade das enzimas antioxidantes (SOD, APX e GPOX); (iv) trocas gasosas e (v) densidade estomática.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) *campus* Jaboticabal em estufa de vidro e em condições hidropônicas de cultivo. As plantas foram mantidas a uma temperatura de $28,6 \pm 2,7^{\circ}\text{C}$ e uma umidade relativa de $60,0\% \pm 15\%$.

Foram utilizadas plantas jovens, com a primeira folha totalmente expandida, de cana-de-açúcar das cultivares cv. CTC9002 e cv. CTC9003, as quais foram primeiras cultivares desenvolvidas para o plantio no Cerrado Brasileiro Notícias (Assovale, 2019). Senso assim, as características das cultivares atendem ao

ambiente edafoclimático (solo e clima) específico desta região e, portanto, garantem um excedente de produtividade (Assovale, 2019).

CTC9002: Ambiente de produção C e D. A cultivar apresenta como características rusticidade - com tolerância a seca para o cerrado - longevidade e porte ereto, facilitando o manejo mecanizado e a colheita.

CTC9003: Ambiente de produção A, B e C. A cultivar apresenta alto perfilhamento e permite o plantio mecanizado.

2.2 Metodologia experimental

O experimento foi realizado em blocos casualizados, com quatro repetições em esquema fatorial 4x2x2, sendo quatro concentrações de Al (0, 10, 15 e 20 mg L⁻¹), duas cultivares de cana-de-açúcar (CTC9002 e CTC9003), na ausência e na presença de Si (0,0 e 2,0 mmol L⁻¹). Cada unidade experimental constou de um vaso de polietileno, com 0,04m². Contendo 2,0L de solução nutritiva e uma planta.

2.3 Solução nutritiva

Após a obtenção de plantas jovens, cultivadas em areia lavada, sem estresse, por 30 dias, as mesmas foram transferidas para o sistema hidropônico, constituído de vasos preenchidos com solução nutritiva de Clark (1975), iniciando-se a 25% de força iônica para aclimatar as plantas por cinco dias completos, aumentando para 50% por mais cinco dias e para 100% de solução quando iniciaram-se os tratamentos com Al, por quinze dias. O sistema foi mantido sob arejamento constante da solução por borbulhamento de ar suprido por bomba de ventilação. O pH da solução nutritiva foi monitorado diariamente e mantido a $4,5 \pm 0,2$ usando solução de ácido clorídrico 1N (HCl) e a cada cinco dias era feita uma troca de solução.

2.4 Tratamentos com Al e Si

As mudas foram expostas aos tratamentos com o sulfato de Al [$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$], nas concentrações de 0; 10; 15 e 20 mg L^{-1} . Após 15 dias, as plantas estressadas com Al, foram tratadas com Si, permanecendo 20 dias na presença de 2,0 mmol L^{-1} de silicato de potássio (K_2SiO_3), devido ao fato que a partir de uma concentração de 2,0 mmol L^{-1} de Si ocorre a precipitação do Si (COSTA, 2012). Fez-se um tratamento sem o K_2SiO_3 e neste tratamento foi feito a complementação de potássio na solução, a fim de só se avaliar o efeito do Si na solução nutritiva.

2.5 Avaliações

As avaliações foram realizadas na folha +1 aos 75 dias, quando foi encerrado o experimento.

2.5.1 Determinação dos pigmentos vegetais

A determinação dos pigmentos vegetais, clorofilas (Chl *a* e Chl *b*), carotenoides (Cars) e antocianinas (Anths) foi realizada em triplicata, utilizando-se 50 mg de massa foliar fresca e a extração seguiu a metodologia de Lichtenthaler (1987).

Para a extração de Chls *a*, *b* e Car utilizou-se acetona 80% e os extratos foram mantidos por 48h, sob refrigeração. Para a extração de Anths foi utilizado 0,48mL de metanol (99% v/v) acidificado com HCl (99 mL de metanol + 1 mL HCL), procedendo-se a agitação por 36h, a 60 rpm e a 4°C. A seguir, foram adicionados 0,36mL de H_2O destilada e 0,96mL de clorofórmio e, procedeu-se a agitação por 15min, a 4°C, em 5000 rpm.

As leituras de absorbâncias das soluções foram realizadas em espectrofotômetro Beckman, modelo DU-640 nos comprimentos de 663nm (Chl *a*), 647nm (Chl *b*), 470nm (Cars) e 535 nm (Anths).

2.5.2 Trocas gasosas e densidade estomática

A avaliação de condutância estomática (gs) foi realizada com porômetro de difusão (Model AP4; Delta-T Devices Ltd.) ao final do experimento no horário das 9:00am as 10:00am. As avaliações de taxa de transpiração (E), e taxa de assimilação de CO_2 (A) foram mensuradas utilizando-se sistema de trocas gasosas (LCpro, Analytical Development Co., Hoddeston, U.K.), auxiliado por fonte de luz led com intensidade luminosa de $2.000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$.

A densidade estomática foi verificada usando a técnica da impressão com agente adesivo a base de cianoacrilato das faces adaxial e abaxial da epiderme em lâminas de vidro para microscópio e contados utilizando microscópio óptico (Martin e Stimart, 2005).

2.5.3 Estresse oxidativo

2.5.3.1 Peroxidação lipídica

Foi avaliada através da estimativa da concentração de malondialdeído (MDA), obtida por meio da quantificação de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) (Heath e Parker, 1968). Macerou-se 0,25 g de massa fresca (MF) foliar em nitrogênio líquido e posteriormente homogeneizou-se em 2 ml ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e PVPP insolúvel (20%). O produto foi centrifugado a 10000 g por 15 minutos a 4°C. Foram coletados 0,25 ml do sobrenadante e adicionados a 1,0 ml de TBA 0,5% (preparado em TCA 20%). A mistura foi homogeneizada e os tubos levados para um banho seco a 90°C por 30 minutos. Após este intervalo, os tubos foram imersos em gelo por 10 minutos, e centrifugados a 10000rpm por 5 minutos a 4°C para clarificação. A concentração de equivalentes de MDA foi determinada em espectrofotômetro com leituras a 535 e 600 nm, adotando-se coeficiente de extinção molar de $1.55 \times 10^{-5} mol cm^{-1}$.

2.5.3.2 H₂O₂

O teor de H₂O₂ foi determinado pela reação com iodeto de potássio (KI), conforme descrito por Alexieva et al. (2001). Macerou-se 0,25g de MF foliar em nitrogênio líquido, com posterior homogeneização em 2 mL ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e PVPP insolúvel (20%). Após isso, a amostra foi centrifugada por 15 minutos a 10000 rpm a 15°C. Transferiu-se 200µL de sobrenadante para um eppendorf e, em seguida, foram adicionados 200µL de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) e 800µL de solução de KI 1M. Os eppendorfs permaneceram em gelo, no escuro, por uma hora. Após este intervalo, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 390 nm, e os resultados expressos em µmol de H₂O₂ g⁻¹ de MF.

2.5.3.3 Extração e determinação de proteínas totais

Amostras de 0,5 g de MF de folha foram trituradas em nitrogênio líquido com pistilo e cadinho resfriados. A amostra triturada foi então homogeneizada na proporção 1:3 (m/v) em tampão de extração contendo tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,5), 1mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), DL-ditiotreitol 3 mM e polivinilpolipirrolidona 5% (m/v). O homogenato foi centrifugado por 30 minutos a 10.000g a 4°C, e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80 °C para posterior determinação de atividade de enzimas. O teor de proteínas foi determinado utilizando albumina sérica bovina, conforme proposto por Bradford (1976).

2.5.3.4 Superóxido dismutase (EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada em meio de reação contendo 15µL de EDTA 0,1 mM, 971 µL de tampão fosfato de potássio 50mM (pH 7,5), 19,5µL de riboflavina 2µM, 94,5 µL de azul de nitrotetrazólio 0,075mM, 391µL de metionina 50mM e 10µL de extrato enzimático, totalizando 1,5mL (Giannopolitis e Ries, 1977). A reação foi conduzida por 5 minutos em câmara de fechada, sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15W, a 25°C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm, e os resultados expressos em unidades de SOD mg⁻¹ de proteína.

2.5.3.4. Ascorbato peroxidase APX (EC 1.11.1.11)

A atividade da APX foi medida espectrofotometricamente em uma reação consistindo em extrato vegetal, tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0) contendo ascorbato 5 mM e EDTA 1 mM (Gratão et al., 2015). A atividade da APX foi determinada pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a 30°C, durante 60 segundos. Os resultados da atividade da APX foram expressos em nmol ascorbato e min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

2.5.3.5. Atividade da guaiacol peroxidase GPOX (EC 1.11.1.7)

A atividade do guaiacol peroxidase (GPOX) (proteína U g⁻¹ min⁻¹) foi determinada em uma reação contendo o extrato vegetal em tampão fosfato-citrato (fosfato de sódio dibásico 0,2 M e ácido cítrico 0,1 M) (pH 5,0) e guaiacol (0,5%). A mistura foi agitada com a adição de H₂O₂ e incubada a 30°C por 15 min. A reação foi interrompida com a transferência imediata das amostras para um recipiente com gelo, seguido pela adição de solução de metabissulfito de sódio (2%) (Monteiro et al. 2011). A absorbância foi monitorada no comprimento de onda de 450 nm.

2.6 Análise de crescimento

A área das folhas foi verificada logo após a colheita usando um medidor de área foliar (L-3100, Li-Cor, EUA). Após a coleta as plantas foram separadas em raiz e parte aérea e acondicionadas em sacos de papel para posterior secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C até atingirem um peso constante, sendo então mensurada a massa seca.

2.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo software AgroStat (Barbosa e Maldonado Jr, 2011). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as diferenças significativas entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1 Pigmentos vegetais

O Al reduziu os teores de Chls *a* (Fig. 1A), Chls *b* (Fig. 1B) e Cars (Fig. 1C) nas plantas jovens de cana-de-açúcar. Com a suplementação de Si, os efeitos tóxicos de cada concentração de Al foram diminuídos. Ainda, nota-se que o Si apenas provocou menor redução dos teores de Chls *a* e Cars em 20 mg L⁻¹ de Al, fato este que não ocorreu para Chls *b*, pois a partir de 10 mg L⁻¹, na presença de Si, houve maior decréscimo do pigmento. Também, Anths foram reduzidas pelo Al (Fig. 1D), porém as plantas não estressadas (0 mg L⁻¹ de Al) também mostraram menor teores de Anths. A suplementação de Si aumentou os teores destes pigmentos em todas as concentrações de Al, inclusive nas plantas não estressadas. Os teores de pigmentos vegetais da cv. CTC9002 foram mais reduzidos pelo Al que a cv. CTC9003 (Fig. 1E-1H)

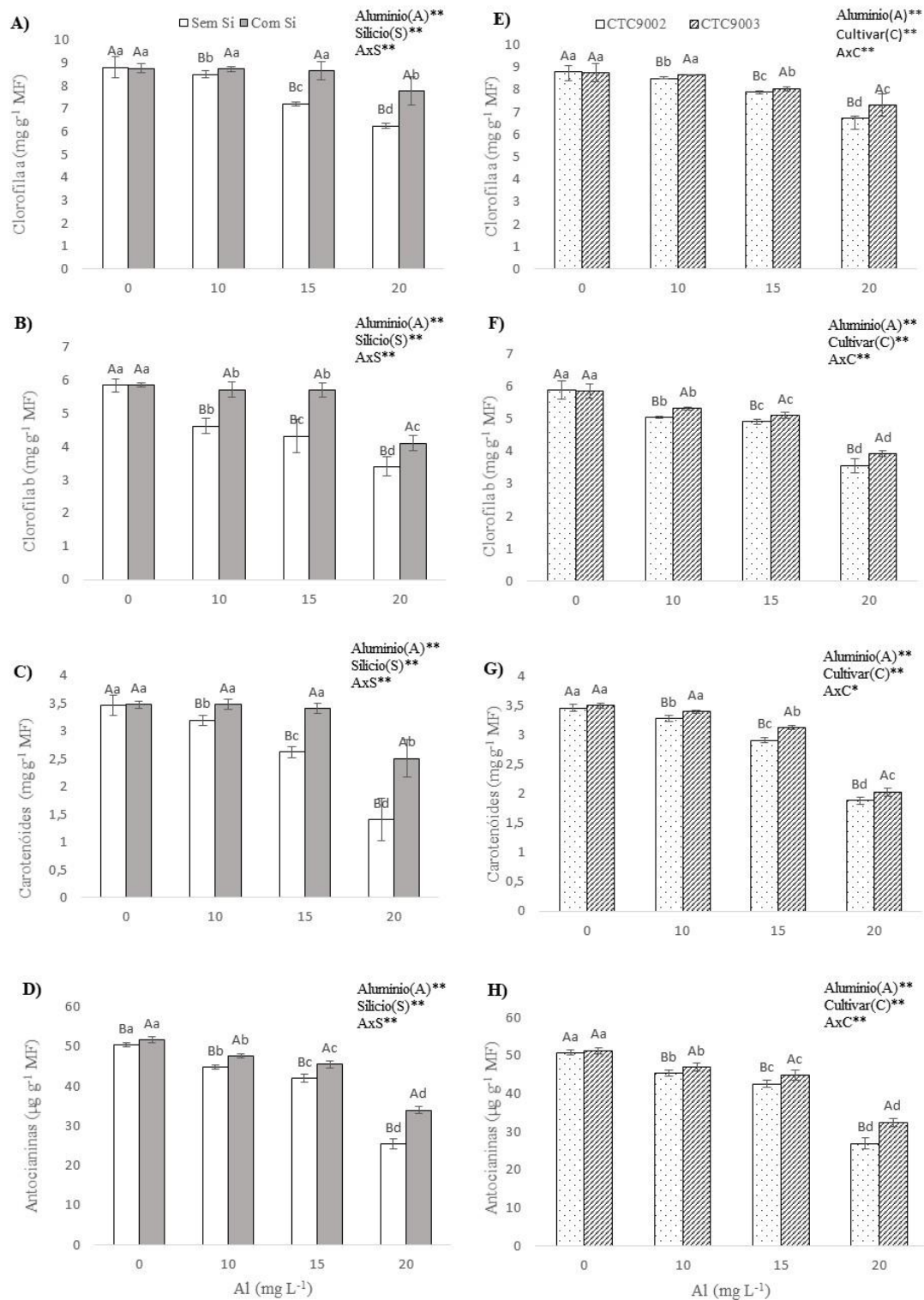


Figura 1: Teor de clorofila a (A), clorofila b (B), carotenóides (C) e antocianinas (D) de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si. Teor de clorofila a (E), clorofila b (F) e carotenóides (G) e antocianinas (H) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al e letra

minúscula iguais entre as concentrações de Al não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. MF= Massa fresca.

3.2 Trocas gasosas e densidade estomática

Os efeitos tóxicos do Al reduziram drasticamente g_s e A e com a suplementação de Si estes efeitos foram mitigados em cada concentração de Al (Fig. 2A e 2F). Ainda, verificou-se que, conforme o aumento das concentrações de Al, houve diminuição significativa de g_s e A e, que com a suplementação de Si, esta diminuição foi menor (Fig. 2A e 2F). Para E não houve interação significativa entre A e Si porém, foi possível observar que o aumento das concentrações de Al diminuiu a E e que plantas suplementadas com Si tem uma E maior do que plantas não suplementadas (figura 2C e 2D).

Na comparação das cultivares, os resultados de g_s e A (Fig. 2B e 2G) mostraram que a cv. CTC9002 foi mais afetada pelo Al que cv. CTC9003. Embora os resultados de g_s da cv. CTC9002 tenham sido menores em plantas não estressadas comparando-se com a cv. cv. CTC9003 (Fig. 2D), isto não parece ter influenciado a assimilação de carbono (A), pois os resultados foram semelhantes estatisticamente em ambas cultivares. Para a E embora não houve interação significativa entre Al e cultivares a CTC9003 apresentou maior E quando comparada com a CTC9002.

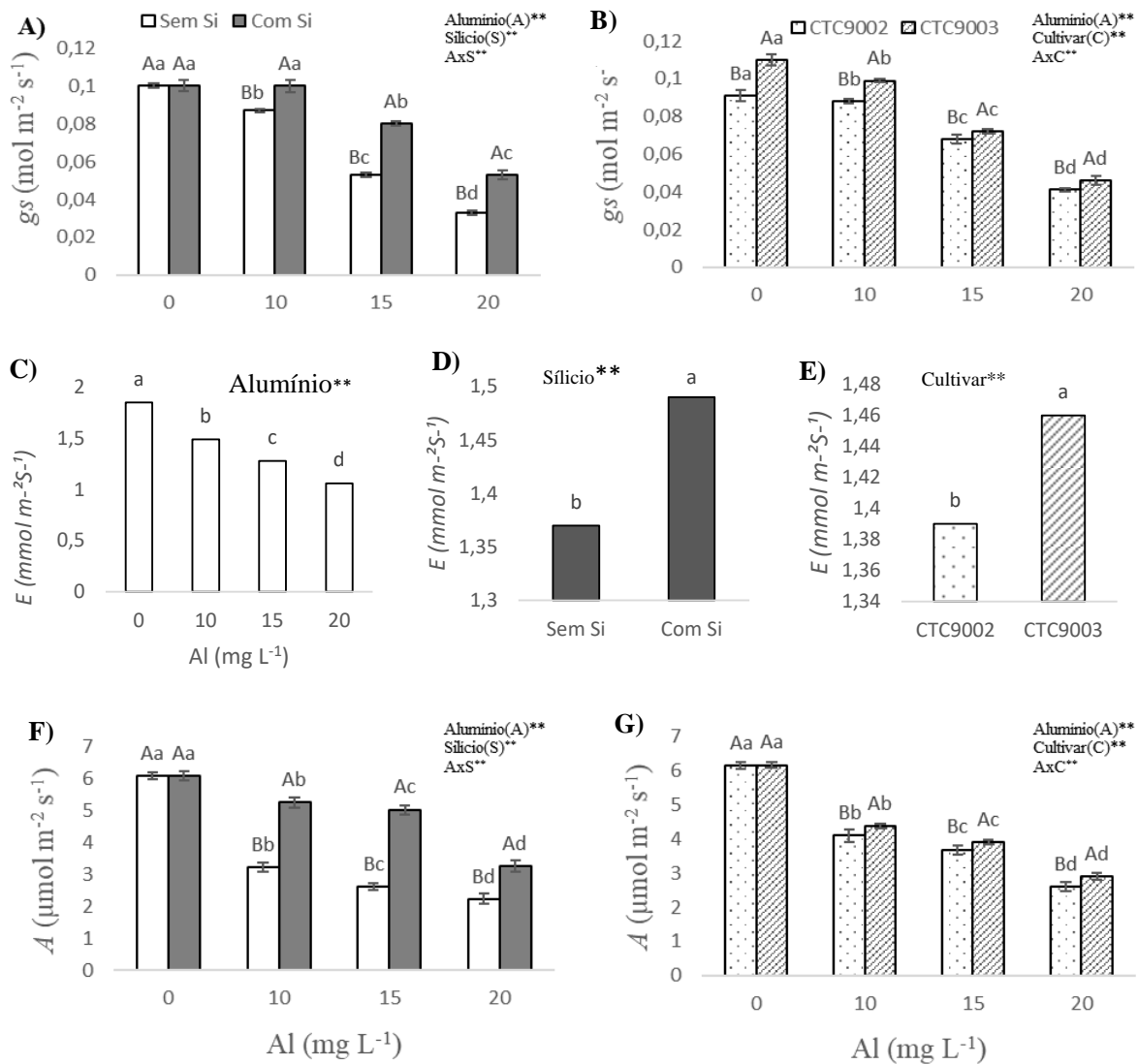


Figura 2: Condutância estomática (g_s) (A), Taxa transpiratória (E) (B), Assimilação de CO_2 (A) (C) de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si. g_s (D), E (E), A (F) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média ($n = 4$). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al, letras minúsculas iguais entre as concentrações de Al, letras maiúsculas iguais em B) nas avaliações de 10, 15 e 20 dias entre ausência e presença de Si e letras maiúsculas iguais em E) entre as cultivares não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Todas as concentrações de Al reduziram significativamente a densidade estomática da face adaxial (Fig. 3A) e da face abaxial (Fig. 3B) das plantas jovens de cana-de-açúcar. A suplementação de Si causou uma menor redução da densidade estomática em ambas as faces foliares (Fig. 3A e 3B), revertendo o impacto da toxicidade do Al no número de estômatos por unidade de área foliar. Inclusive, o Si também causou aumento da densidade estomática nas plantas de cana-de-açúcar não estressadas (Fig. 3A e 3B).

Considerando as cultivares, os mesmos resultados podem ser observados, evidenciando que na face adaxial (Fig. 3b) a cv. CTC9003 apresentou maior densidade estomática que a cv. CTC9002 desde a concentração de 0 mg L⁻¹ de Al. Para a face abaxial (Fig. 3D e 3E), não foi possível observar interação significativa entre Al e cultivar, porém é possível observar que o Al diminui a densidade estomática da parte abaxial e que a CTC9003 apresentou maior densidade estomática na parte abaxial diferindo significativamente da CTC9002

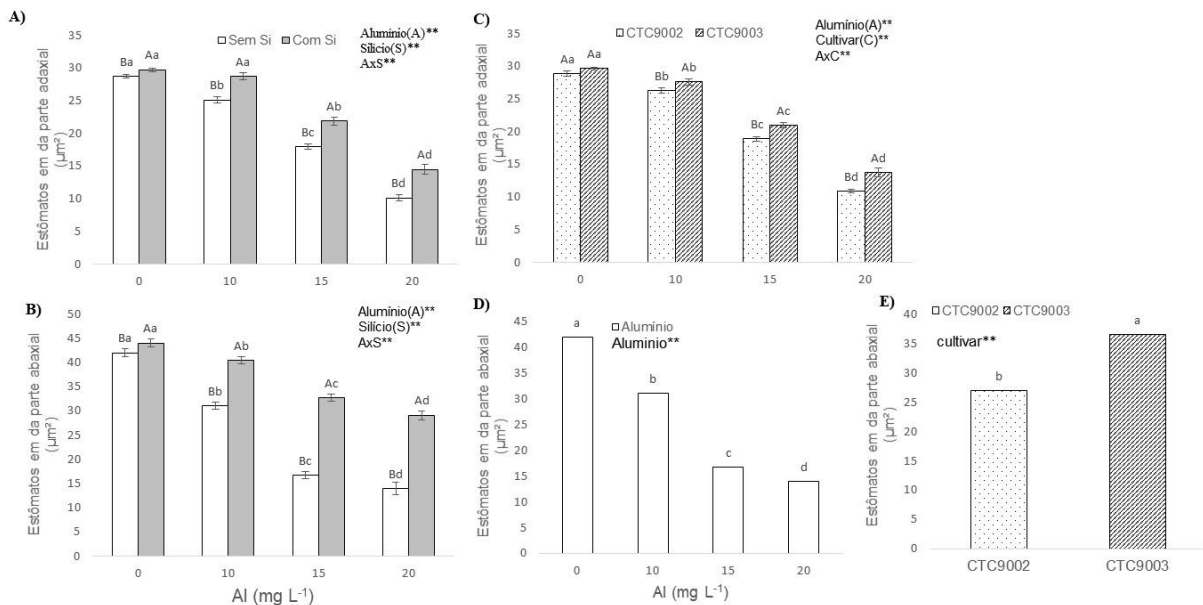


Figura 3: Estômatos da parte adaxial (A) e da parte abaxial (B), de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si. Estômatos da parte adaxial (C) e da parte abaxial (D), de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al, letra minúscula iguais entre as concentrações de Al e letras maiúsculas iguais em D) entre as cultivares não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 Estresse oxidativo

3.3.1. Conteúdo de H₂O₂ e peroxidação lipídica

Os efeitos da toxicidade de Al na parte aérea (Fig. 4A e 4B) e nas raízes (Fig. 4C e 4D) provocaram aumento da peroxidação lipídica, com aumento do H₂O₂ e MDA (Fig. 4A-4D). Na parte aérea, o aumento do H₂O₂ ocorreu a partir da concentração de 15 mg L⁻¹ Al, mas nas raízes o aumento ocorreu a partir da concentração de 10 mg L⁻¹ Al (Fig. 4C), indicando que houve maior peroxidação

lipídica nas raízes. Já os efeitos tóxicos do Al no incremento do MDA ocorreram a partir de 15 mg L^{-1} Al, tanto na parte aérea (Fig. 4B) quanto nas raízes (Fig. 4D). A presença de Si causou significativa redução da peroxidação lipídica pois, tanto na parte aérea quanto nas raízes sob toxicidade de Al, o aumento de H_2O_2 e MDA foi menor na presença de Si (Fig. 4A-4D). De fato, embora o conteúdo de H_2O_2 e MDA tenha aumentado com o aumento das concentrações de Al, as plantas que receberam Si tiveram um menor aumento comparadas com as plantas que não receberam Si.

Comparando as cultivares, os resultados revelaram que, sob efeito tóxico de 15 e 20 mg L^{-1} de Al na parte aérea houve incremento de H_2O_2 na cv. CTC9003 (Fig. 4E), mas MDA foi menor na concentração de 20 mg L^{-1} de Al (Fig. 4F). Em contrapartida, nesta concentração de Al houve aumento do MDA na cv. CTC9003 (Fig. 4F). Nas raízes, apenas na concentração de 20 mg L^{-1} de Al mostrou diferença significativa para H_2O_2 e MDA, com menor conteúdo para a cv. CTC9003 (Fig. 4G e 4H).

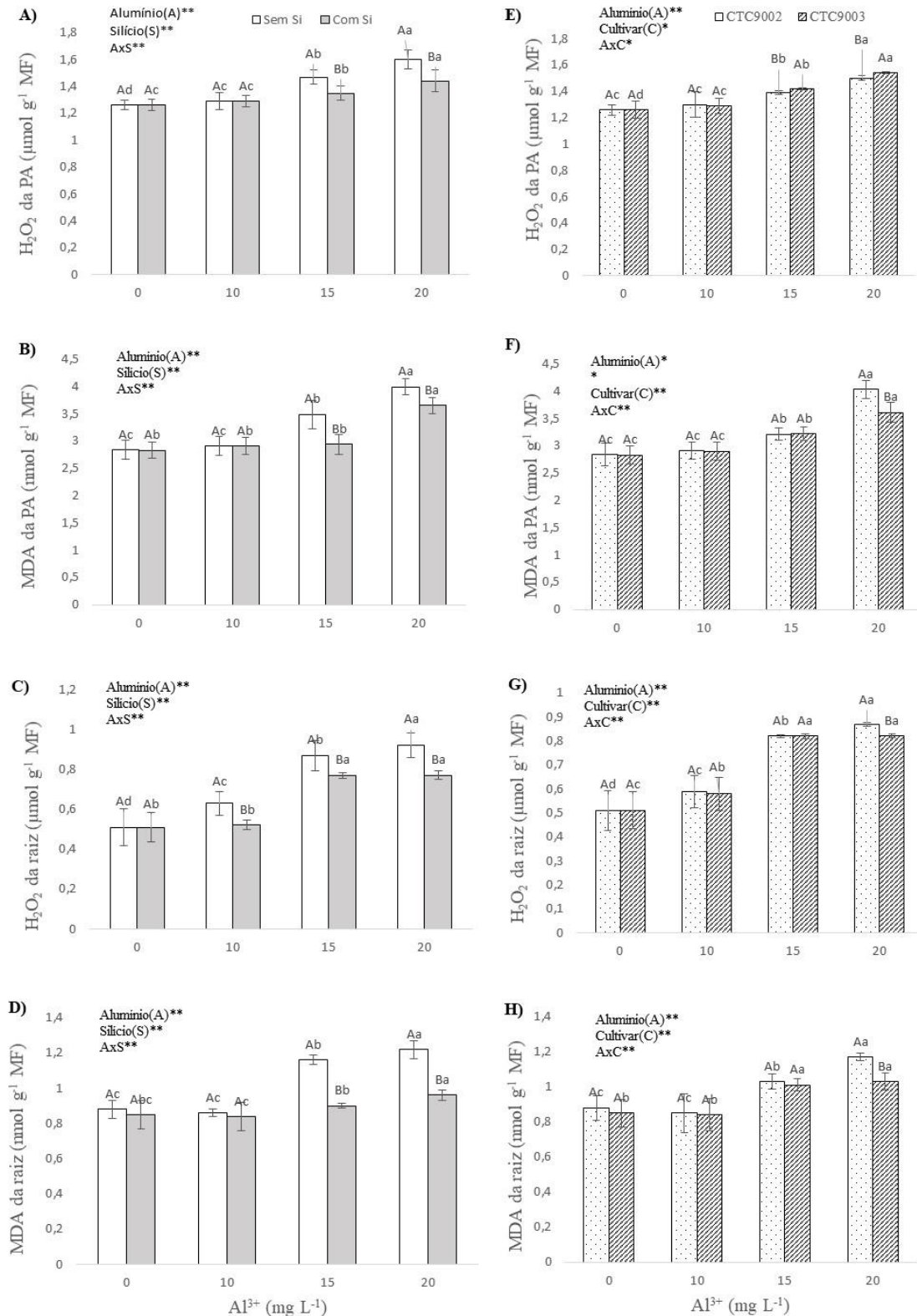


Figura 4: Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido malonaldeído (MDA) da parte aérea (A e B) e das raízes (C e D) de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido malonaldeído (MDA) da parte aérea (E e F) e das raízes (G e H) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras

maiúsculas iguais na concentração de Al e letra minúscula iguais entre as concentrações de Al não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.2. Atividade SOD (EC 1.15.1.1)

Verificou-se que, somente a concentração de 20mg L⁻¹ Al reduziu atividade antioxidante da SOD na parte aérea (Fig. 5A) e nas raízes (Fig. 5B). Conforme houve aumento das concentrações de Al, a atividade da SOD foi reduzida na parte aérea (Fig. 5A) e nas raízes (Fig. 5B), mas os efeitos do Al nas raízes foram mais drásticos, pela menor atividade da SOD que na parte aérea (Fig. 5A e 5B). A suplementação de Si reverteu o efeito do Al na SOD, tanto na parte aérea (Fig. 5A) quanto nas raízes (Fig. 5B). Em ambas as partes das plantas, a atividade da SOD foi incrementada na presença de Si em plantas sob 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 5A e 5B).

Em todas as concentrações de Al houve maior atividade da SOD na parte aérea da cv. CTC9003 (Fig. 5C) que na cv. CTC9002. Nas raízes (Fig. 5D), também houve aumento da SOD nas concentrações de 10 e 15 mg L⁻¹ para a cv. CTC9003, porém a atividade da SOD não apresentou diferença significativa entre as cultivares quando ambas estavam na concentração de 20 mg L⁻¹ de Al. Entre as concentrações de Al a cv. CTC9003 foi a que apresentou uma maior atividade da SOD tanto na parte aérea (Fig. 5C) quanto nas raízes (Fig. 5D) quando comparada com a cv. CTC9002.

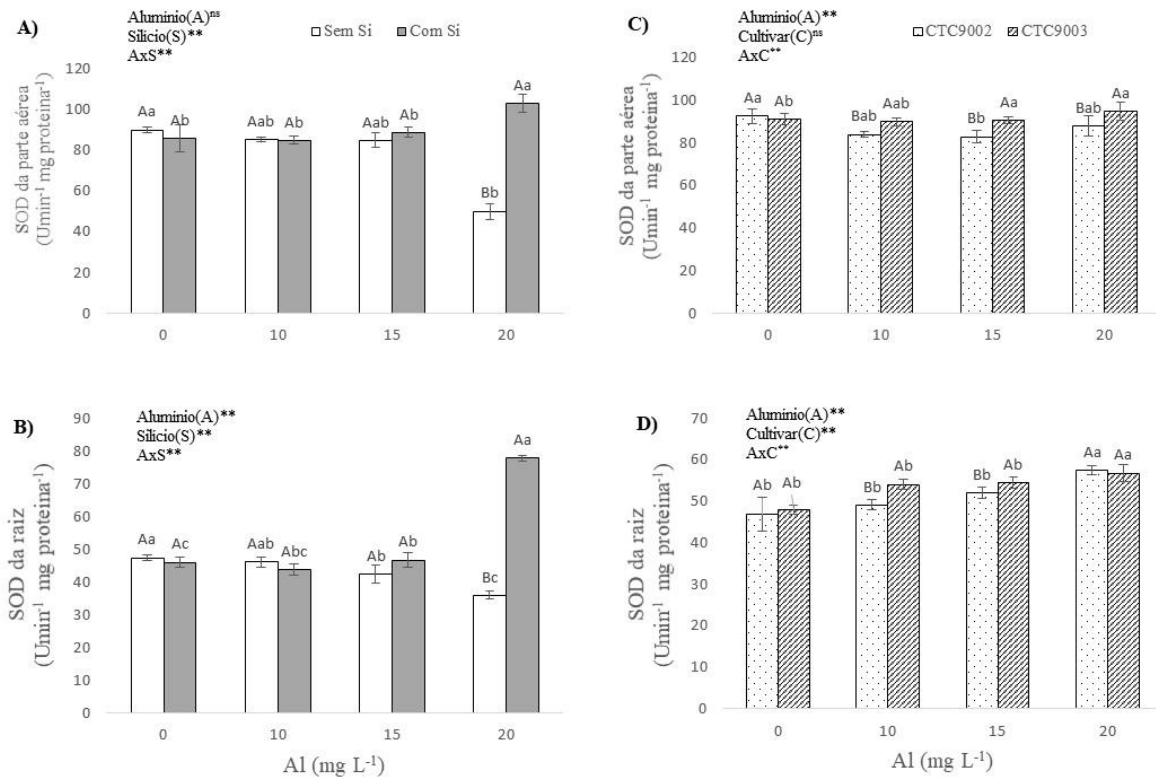


Figura 5: Atividade específica da dismutase do superóxido (SOD) (A) e (B) em plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si e (C) e (D) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al e letra minúscula iguais entre as concentrações de Al não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

3.3.3 Atividade de APX (EC 1.11.1.11)

A suplementação de Si incrementou a atividade antioxidante da APX na parte aérea em todas as concentrações de Al, de 10 mg L⁻¹ a 20 mg L⁻¹ (Fig. 6A). Nas raízes, a suplementação de Si incrementou a atividade antioxidante da APX em 15 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 6B), indicando que o Si não combateu os efeitos tóxicos do Al na concentração de 10 mg L⁻¹ reduzindo o estresse oxidativo pela APX. Na comparação das cultivares, verificou-se que a atividade antioxidante da APX na parte aérea foi maior para a cv. CTC9002 em 10 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹ de Al (Fig. 6C). Já nas raízes (Fig. 6D), a cv. CTC9003 apresentou maior atividade antioxidante da APX em todas as concentrações de Al. De toda forma, conforme houve aumento das

concentrações de Al houve redução significativa da APX tanto na parte aérea (Fig. 6C) quanto na raiz (Fig. 6D) de ambas as cultivares.

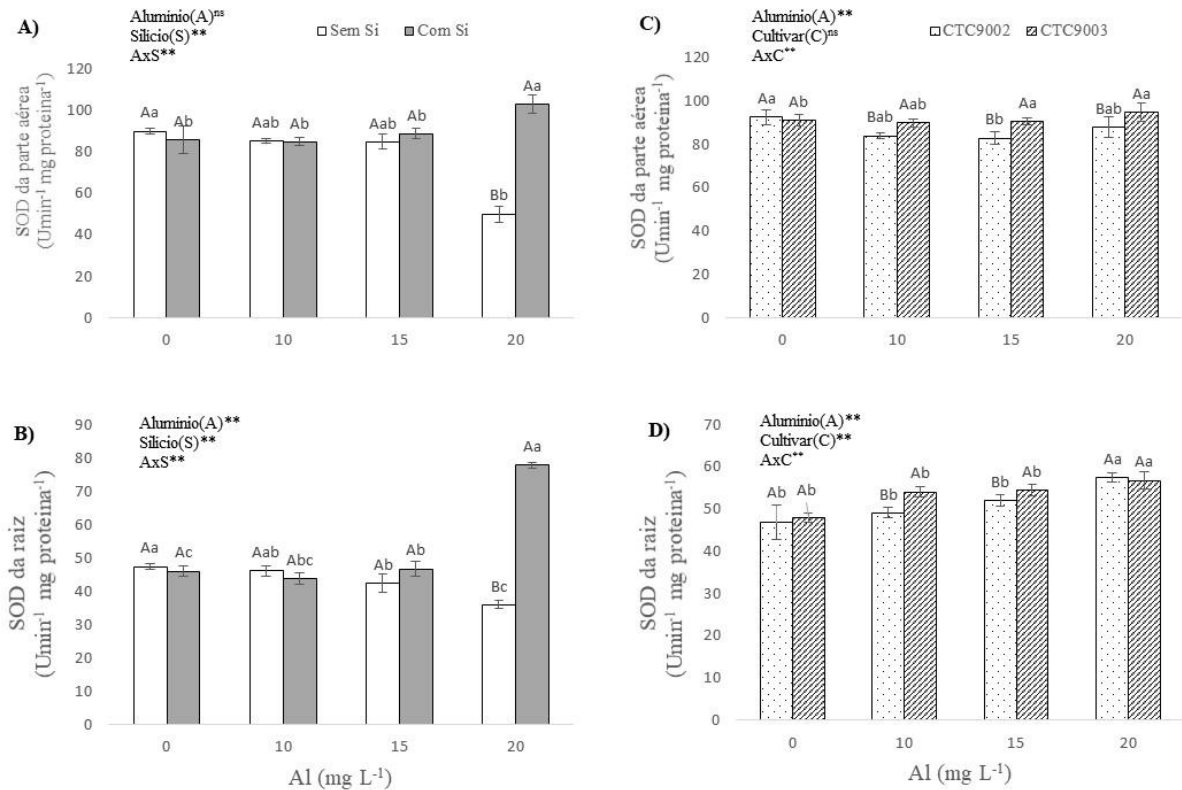


Figura 6: Atividade específica peroxidasse do ascorbato (APX) (A) e (B) em plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si e (C) e (D) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al e letra minúscula iguais entre as concentrações de Al não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3.4 Atividade da GPOX (EC 1.11.1.7)

A suplementação de Si incrementou a atividade antioxidante da GPOX na parte aérea em 15 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 7A), indicando que o Si não combateu os efeitos tóxicos do Al na concentração de 10 mg L⁻¹ de Al reduzindo o estresse oxidativo pela GPOX. Nas raízes, a suplementação de Si incrementou a atividade antioxidante da APX em 10 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 7D), indicando que o Si não combateu os efeitos tóxicos do Al na concentração de 15 mg L⁻¹ de Al reduzindo o estresse oxidativo pela GPOX. Na comparação das cultivares quanto a parte aérea (Fig. 7B e 7C) não houve interação significativa. Já nas raízes,

considerando cada concentração de Al, não houve diferença significativa da GPOX para ambas as cultivares na presença ou ausência de Si (Fig. 7E). Conforme houve aumento das concentrações de Al houve aumento da atividade da GPOX, com ou sem Si, e houve um aumento da atividade da GPOX Si (Fig. 7D).

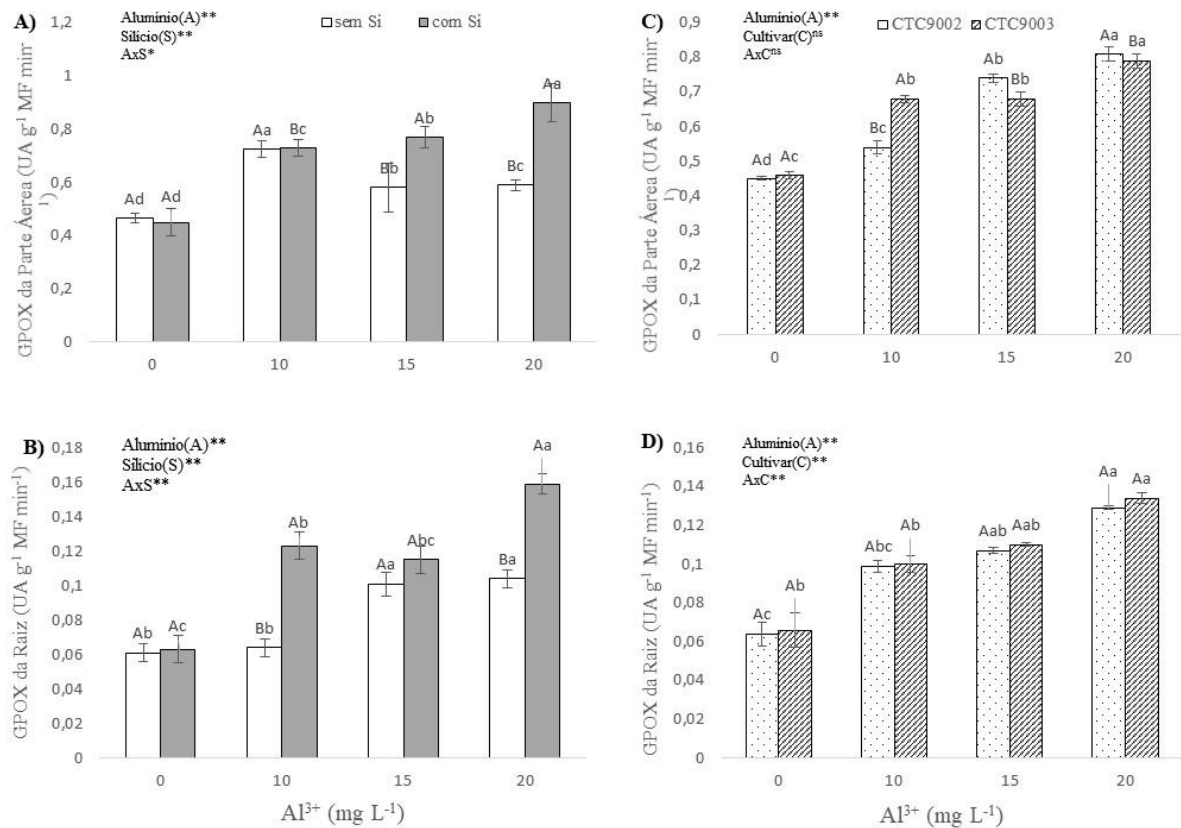


Figura 7: Atividade específica da guaiacol peroxidase (GPOX) (A) e (B) em plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si e (B) e (D) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al e letra minúscula iguais entre as concentrações de Al não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4 Crescimento

Todas as concentrações de Al reduziram a massa seca da parte aérea (Fig. 8A), das raízes (Fig. 8B) e a área foliar (Fig. 8C). A suplementação de Si reverteu estes efeitos, indicando maior crescimento das plantas estressadas (Fig. 8A-8C). Conforme o aumento das concentrações de Al, as plantas suplementadas com Si tiveram menor decréscimo do crescimento do que as plantas sem Si (Fig. 8A-8C). Na comparação das cultivares (Fig. 8F e 8G), não houve interação significativa, porém, a cultivar mostrou diferença significativa, indicando maior massa seca tanto

da parte aérea quanto nas raízes para a CTC9003. A área foliar da cv. CTC 9003 foi menos afetada em cada concentração de Al que a cv. CTC9002 (Fig. 8F).

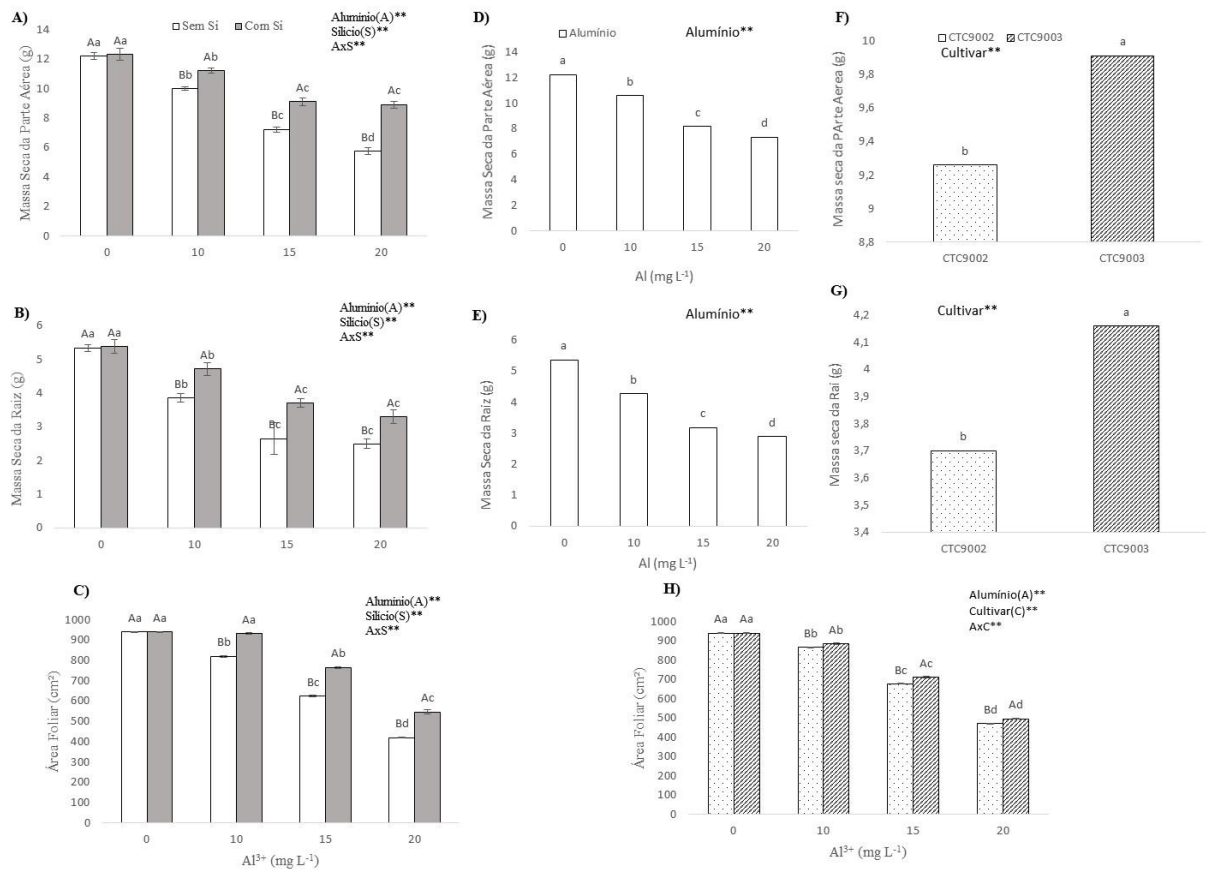


Figura 8: Crescimento (Massa seca da parte aérea (A), raiz (B) e área foliar (C)) de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si e Crescimento (Massa seca da parte aérea (D), raiz (E) e área foliar (F)) de cada cultivar sob concentrações de Al. Barras mostram erro padrão de média (n = 4). Letras maiúsculas iguais na concentração de Al, letra minúscula iguais entre as concentrações de Al e letras maiúsculas iguais em D) e E) entre as cultivares não mostram diferença pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

Os estresses abióticos impactam negativamente cada vez mais a produtividade agrícola e, conseqüentemente, a busca por substâncias que atenuem os efeitos deletérios nas plantas vêm se consolidando em muitos estudos nas últimas décadas. O Si está entre as substâncias atenuadoras promissora no combate aos vários estresses abióticos que vêm sendo propostas para uso no

campo. Neste trabalho estudamos alguns atributos bioquímicos e fisiológicos de plantas jovens de cana-de-açúcar sob estresse de Al e as respostas da suplementação de Si em cultivo hidropônico.

Verificamos que as respostas positivas da suplementação de Si nos teores de pigmentos vegetais, nas trocas gasosas, na densidade estomática e no estresse oxidativo em plantas estressadas com Al podem ter contribuído para a melhora do crescimento. De fato, os pigmentos vegetais são considerados biomarcadores dos estresses nas plantas e, principalmente, aqueles que atuam na fotossíntese como as Chls *a* Chls *b* e Cars sinalizam se as plantas serão produtivas sob condições adversas do ambiente. Nosso estudo revelou que nas plantas estressadas pelo Al houve decréscimo acentuado destes pigmentos (Fig. 1A-1C). Estes resultados são corroborados por Lazarevic, et al. (2014) e Dorneles et al. (2019) que relataram uma redução no teor de clorofila *a* clorofila *b* e carotenoides em pepino e batata, respectivamente, na presença de Al. Segundo Dorneles et al. (2019), esta redução no teor de pigmentos em plantas sob estresse de Al ocorre porque os efeitos tóxicos atuam na inibição de enzimas relacionadas com a síntese destes pigmentos. Lazarevic, et al. (2014) ressaltaram que a redução dos teores de clorofilas pode ser atribuída ao estresse oxidativo induzido por Al, que aumenta a produção de ERO levando a peroxidação lipídica e resultando na degradação das membranas dos tilacoides, onde estes pigmentos estão afixados para a coleta de luz e conversão em reações fotoquímicas.

O aumento da peroxidação lipídica (H_2O_2 e MDA) nas plantas estressadas pelo Al (Fig. 4A-4D) mostram que isto pode ter ocorrido para Chl *a* Chl *b* e Cars que estão afixadas nas membranas tilacoidiais. Nossas avaliações de Anths, revelaram que conforme houve aumento do estresse por Al houve redução deste pigmento. Provavelmente estes pigmentos tenham sido afetados mais pelos efeitos deletérios do Al na biossíntese do que na degradação da membrana tilacoidal, já que são pigmentos hidrossolúveis e localizados, principalmente, no vacúolo celular (Chalker-Scott, 1999). De fato, Winkel-Shirley (2002), verificaram que a toxicidade de Al limitou a biossíntese de Anths, inibindo o acúmulo deste pigmento.

A suplementação de Si ($2,0 \text{ mmol L}^{-1}$) utilizada no presente estudo causou menor decréscimo nos teores de pigmentos, Chl *a* Chl *b* e Cars de plantas jovens de

cana-de-açúcar sob toxicidade de Al (Fig. 1A-1C). Em feijão caupi sob toxicidade do Al e suplementação de Si, Jesus et al. (2017) verificaram resposta semelhante, evidenciando que o Si reduziu as ERO no tecido foliar, melhorando a biossíntese dos pigmentos fotossintéticos e promovendo impacto positivo no aparato fotossintético. Embora alguns autores tenham relatado os efeitos positivos da adição do Si nos teores de Anths em plantas sob estresses abióticos (Kim et al., 2017; Hussain et al., 2019), nossos resultados revelaram que não se pode afirmar que o Si aumentou os teores destes pigmentos por causa do estresse, já que mesmo nas plantas não estressadas (0 mgL^{-1} de Al) houve um aumento significativo dos teores de Anths (Fig. 1D).

A drástica redução das trocas gasosas g_s , E e A nas plantas estressadas por Al estudadas (Fig. 2A-2C) pode indicar relações diretas com a absorção de água pelas raízes, com a perda do vapor de água nas folhas e sequestro de CO_2 , pois E e A são dependentes de g_s . Além disso, pode-se afirmar que os resultados de g_s foram menores devido ao aumento da resistência estomática nas plantas estressadas, uma vez que o Al deve ter promovido menor absorção de água, devido aos efeitos deletérios causados no sistema radicular das plantas (Horst et al., 2010; Silva, 2012; Baluška e Mancuso, 2013; Emamverdian et al., 2015; Hodson e Evans, 2020). Os movimentos de abertura estomática que determinam a g_s dependem, sobretudo, da turgidez das células guardas, pois a entrada de água livre (Ψ) nos estômatos depende da maior hidratação do tecido foliar. Se a hidratação deste tecido for reduzida (menor Ψ), ocorre menor entrada de água nos estômatos e, então, qualquer fator que restrinja a absorção de água para a planta irá contribuir para a redução de g_s , i.e., menor abertura dos estômatos. Isto se reflete na perda de vapor de água, E , que também foi reduzida, menor g_s (Fig. 2A) e menor E (Fig. B), que nada mais é do que a transpiração. Esta estratégia das plantas em reduzir os efeitos da desidratação frente a menor absorção de água conduz a flacidez dos estômatos e, por fim, ao fechamento estomático. Isto pode ser considerado, um fator benéfico, mas implica em menor entrada de CO_2 atmosférico para fotossíntese. Neste caso, os efeitos do Al na redução de A de plantas jovens de cana-de-açúcar (Fig. 2C) pode ter levado a uma consequência mais drástica nas plantas afetadas pelo Al, que é o comprometimento de todo processo fotossintético. Segundo Jiang et

al. (2008) a interferência negativa da toxicidade do Al no sistema fotossintético provoca redução do transporte de elétrons, o que interfere na capacidade redox, conduzindo ao desequilíbrio da oxirredução tão necessária para as etapas fotoquímica e redutivas do CO₂. Em plantas suplementadas com Si, estes efeitos do Al foram revertidos, mostrando que a presença de Si causou menor redução de *gs*, *E* e *A* (Fig. 2A-2C).

A atenuação do estresse por Al pelo Si pode estar relacionada a função do Si em bloquear a intensificação dos efeitos deletérios do Al nas raízes, o que melhoraria a absorção de água e a hidratação das folhas. Muitos estudos nas últimas décadas apontam para o papel do Si na melhora da toxicidade do Al nas raízes (Cocker et al., 1998; Yamamoto et al., 2001; Wang et al., 2004; Singh et al., 2011; Lima et al., 2016; Jesus et al., 2017; Pontigo et al., 2017; Dorneles et al., 2019; Hudson e Evans, 2020). Com isso, o crescimento da planta não é afetado, como observou-se nesse estudo em que houve uma menor redução do crescimento das raízes e da parte aérea em plantas estressadas com adição de Si (Fig. 8A-8C). Como o crescimento também é dependente da capacidade fotossintética do vegetal (*A*), a atenuação do Si aos efeitos tóxicos do Al nos teores dos pigmentos fotossintéticos, Chls *a* e *b* e Cars, evidenciados em neste trabalho (Fig. 1A-1C), também deve ter contribuído para estes resultados de crescimento. Gong et al. (2005) observaram aumento da capacidade fotossintética em plantas de trigo sob estresse hídrico tratadas com Si. Ainda, o aumento da área foliar (Fig. 8C) pode ter sido fundamental para o aumento das trocas gasosas pois, de acordo com Wan et al. (2019), a suplementação de Si em plantas de arroz proporciona uma melhor arquitetura foliar, permitindo melhor absorção de luz e aumento da taxa fotossintética. Outro fato a ser considerado, é a maior densidade estomática proporcionada pelo Si nas plantas de cana estressadas pelo Al (Fig. 2A e 2B), o que também pode ter contribuído para a melhoria de *A* e crescimento. De acordo com Gao et al. (2006), o Si causa incremento na densidade estomática em plantas de milho sob estresse hídrico, o que permite melhor regulação do transporte de água e da transpiração. Porém, não foram encontrados estudos de densidade estomática em plantas sob estresse de Al e suplementadas com Si.

Os estresses abióticos induzem ao estresse oxidativo nos tecidos dos vegetais. A ligação do Al nas biomembranas conduz à rigidificação, o que parece facilitar as reações em cadeia radical por íons ferro (Fe) e aumentar a peroxidação de lipídios (Yamamoto et al., 2001; Guo et al., 2012; Nogueiro et al., 2015). Ainda, a maior produção de ERO em plantas sob estresse de Al, se deve ao fato de os metais atuarem como catalisadores na produção de ERO e induzir ao dano oxidativo em plantas (Silva, 2012). O estresse oxidativo nas plantas jovens de cana-de-açúcar foi verificado pela peroxidação lipídica (H_2O_2 e MDA) e pela atividade das enzimas antioxidantes (SOD, APX e GPOX). Considerando os resultados obtidos na parte aérea e nas raízes das plantas estressadas de ambas cultivares, verificou-se que, os efeitos tóxicos do Al na peroxidação lipídica foram similares em ambas as partes (4A-4D). Contudo, o sistema de defesa ao estresse pelas enzimas antioxidantes evidenciou que o estresse oxidativo foi sempre mais pronunciado nas raízes (5B, 6B e 7B) do que na parte aérea (5A, 6A e 7A). De acordo com Vitorello et al. (2005), devido o maior acúmulo de Al em raízes, os efeitos do Al são mais intensos nesta parte da planta, podendo se estender para outras partes posteriormente. Nossos resultados evidenciam que a atividade antioxidante das enzimas estudadas foi ora inibida, ora estimuladas. De fato, a atividade antioxidante da SOD na parte aérea foi inibida na maior concentração de Al estudada, 20 mg L^{-1} (Fig. 5A) quando comparada ao tratamento controle ($0,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Al). De acordo diversos estudos, elevadas concentrações de Al podem inibir a atividade antioxidante das enzimas (Pereira et al., 2010; Inostroza-Blancheteau et al., 2011; Nars et al., 2011; Ribeiro et al., 2012). Já nas raízes, a inibição da atividade da SOD ocorreu a partir de 15 mg L^{-1} (Fig. 5B) corroborando com os estudos de Vitorello et al. (2005) e Emamverdiam et al. (2015) que afirmam que os efeitos fitotóxicos são mais intensos nas raízes devido o maior acúmulo de Al. Ainda, Dorneles et al. (2019) salientam que a enzima SOD requer íons metálicos como Fe, Mn, Zn e Cu, e que o Al pode interferir na absorção/ligação destes íons ao sítio ativo da enzima. Também, a maior inibição da APX ocorreu na parte aérea (Fig. 6A) do que nas raízes (6B), indicando que esta enzima foi mais responsiva aos danos oxidativos ocorridos nas raízes. Sob toxicidade de Al, houve inibição da APX na parte aérea de plantas de arroz (Sharma e Dubey, 2007) e nas raízes de trigo (Nars et al., 2011). Estes resultados

contraditórios podem ser explicados pelos relatos de Zhu et al. (2014) e Anjum et al. (2016), os quais ressaltam que estresses por diferentes metais, como Cd, Cr, e Al, podem causar inibição ou ativação na APX no sistema de defesa e isto depende do tipo do metal, das concentrações, do tempo de exposição, das espécies e genótipos.

Embora Giannakoula et al. (2010) tenham salientado que diversas pesquisas têm mostrado que o estresse por Al pode aumentar a produção de ERO e ativar diversas enzimas antioxidantes nas células vegetais, nosso estudo revelou que dentre as enzimas estudadas, apenas a GPOX teve a atividade incrementada pelo Al, tanto na parte aérea quanto nas raízes das plantas estressadas (Fig. 7A e 7B). Neste caso, confirma-se que o estressor ativa a defesa antioxidante, no caso a enzima GPOX, como estratégia aos efeitos tóxicos proporcionados. A menor atividade antioxidante da GPOX em plantas não estressadas e a maior atividade em todas as concentrações de Al na parte aérea e raízes indicam que esta enzima combateu o estresse oxidativo provocado pelo Al nas plantas jovens de cana-de-açúcar.

Com a suplementação de Si houve redução da peroxidação lipídica, com menor produção de H_2O_2 e de MDA, tanto nas raízes quanto na parte aérea (Fig. 4A-4D). A atenuação do Si aos danos causados pelo Al na membrana celular é devida o Si atuar em vias metabólicas que removam mais radicais de oxigênio, neutralizando os impactos negativos deste estresse na peroxidação lipídica (Shahnaz et al., 2011; Dorneles et al., 2019). Além disso, o Si previne a deterioração estrutural e funcional da permeabilidade da membrana e estimula vias antioxidantes contra os danos oxidativos causado pela toxicidade do Al (Lima et al., 2016). Muitos autores salientam que, a ativação do sistema antioxidante enzimático e não enzimático pelo Si causa redução da peroxidação de lipídios de membrana em plantas sob toxicidade de Al (Gionco e Bohlen, 2011; Shen, et al., 2014; Vega et al., 2019), o que pode ser constatado em nossos resultados, em que houve menor peroxidação lipídica nas plantas sob Al e suplementadas com Si (Fig. 4A-4D). Ainda, o Si aumentou significativamente a atividade do sistema antioxidante enzimático, SOD (Fig. 5A e 5B), APX (Fig. 6A e 6B) e GPOX (Fig. 7A e 7B). Isto é muito interessante, porque SOD e APX tiveram a atividade inibida pelo Al e o Si atenuou o estresse disparando a atividade antioxidante destas enzimas. A GPOX, que já

estava tendo maior atividade antioxidante frente ao estressor, foi potencializada pelo Si que incrementou ainda mais a atividade antioxidante. Em batatas sob estresse de Al e suplementação de Si, Dorneles et al., (2019) verificaram ativação do sistema antioxidante da GPOX e da SOD, evidenciando que os efeitos atenuantes do Si nas plantas de cana-de-açúcar estressadas pelo Al observados em nosso trabalho, principalmente com relação ao aumento da SOD, uma vez que estas enzimas constituem a primeira linha de defesa contra as ERO e aumento da atividade tem sido identificado como indicador das atividades redox em plantas sob estresse de Al (Giannakoula et al., 2010). Segundo Shen et al. (2014) a aplicação de Si melhorou a atividade da APX em plantas de amendoim sob condição de estresse por Al, o que corrobora com os dados apresentados.

O crescimento de ambas as cultivares sob estresse do Al foi melhorado pela suplementação de Si (Fig.8A-8C). Estes resultados, evidenciam que o efeito positivo da suplementação de Si combateu os efeitos tóxicos do Al nas plantas jovens de cana-de-açúcar. O acentuado aumento da parte aérea (Fig. 8A), raízes (Fig. 8B) e área foliar (Fig. 8C) nas plantas sob Al e com SI, foi reflexo do aumento dos teores de pigmentos vegetais, das trocas gasosas, da redução das ERO pela diminuição da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo pela ativação da SOD, APX e GPOX.

Outras rotas do metabolismo vegetal, não estudadas no presente trabalho podem estar envolvidas na melhora do estresse por Al pela adição de Si, mas nossos resultados mostraram que as avaliações realizadas foram significativas para evidenciar os efeitos positivos do Si em plantas jovens de cana-de-açúcar sob Al.

Todos os parâmetros bioquímicos e fisiológicos estudados foram superiores na cv. CTC9003 em comparação com a cv. CTC9002, indicando que cv. CTC9003 é menos sensível aos efeitos tóxicos do Al na cv. CTC9003.

Futuros estudos em outras cultivares de cana-de-açúcar avaliando diferentes rotas metabólicas são necessários para maior entendimento das respostas da atenuação do Si na toxicidade de Al. Além disto, nossos resultados foram obtidos em cultivo hidropônico e um estudo com as respostas do cultivo em campo serão relevantes e necessárias para estabelecermos uma comparação visando a melhor produtividade da cultura em solos ácidos, como o ambiente de cerrado.

5. CONCLUSÃO

A toxicidade do Al causou redução dos teores de pigmentos vegetais, das trocas gasosas, da densidade estomática e aumento do estresse oxidativo, pela maior peroxidação lipídica e menor a atividade antioxidante da SOD e APX.

A atividade antioxidante da GPOX foi incrementada nas plantas sob Al, podendo ser indicadora do estresse por Al.

A suplementação de Si atenuou os efeitos de deletérios do Al pelo incremento dos teores de Chl *a*, *b* e Cars, das trocas gasosas, da densidade estomática e redução do estresse oxidativo pela menor peroxidação lipídica e maior a atividade antioxidante da SOD, APX e GPOX.

A cv. CTC9003 é menos sensível a toxicidade de Al que a cv. CTC9002. A suplementação de Si proporcionou atenuação em ambas cultivares.

REFERÊNCIAS

Adrees, M.; Ali, S.; Rizwan, M.; Zia-Ur-Rehman, M.; Ibrahim, M.; Abbas, F. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental** 119: 186-197.

Agati, Giovanni et al. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant science** 196: 67-76

Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell Environ** 24:1337–1344.

Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., Sofu, A. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. **Environmental science and pollution research** 23: 19002-19029.

Assovale (20160. **Associação Rural Vale do Rio Pardo**. Variedade de cana que produzem adaptadas ao cerrado brasileiro.

Bajpai, S.; Chandra, R. (2015). Effect of waterlogging stress on growth characteristics and SOD gene expression in sugarcane. **International Journal of Scientific and Research Publications** 5: 1-8.

- Baluška, F., & Mancuso, S. (2013). Root apex transition zone as oscillatory zone. **Frontiers in Plant Science** 4: 354.
- Barbosa, J.C., Maldonado Jr, W. (2011). **Agroestat - Sistema Para Análises Estatísticas De Ensaios Agrônômicos Versão 1.1.0.694**. Jaboticabal: Fcav/Unesp.
- Bhat, J. A., Shivaraj, S. M., Singh, P., Navadagi, D. B., Tripathi, D. K., Dash, P. K., ... & Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. **Plants** 8: 71.
- Borjas-Ventura, R., Alves, L. R., de Oliveira, R., Martínez, C. A., & Gratão, P. L. (2019). Impacts of warming and water deficit on antioxidant responses in *Panicum maximum* Jacq. **Physiologia plantarum**, 165: 413-426.
- Bradford, M. M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 71: 248-254.
- Caverzan, A., Casassola, A., & Brammer, S. P. (2016). Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and molecular biology**, 39: 1-6.
- Chandra, J., Parkhey, S., Varghese, D., Varghese, B., & Keshavkant, S. (2020). Aluminium Rhizotoxicity in *Cicer arietinum*. **Russian Journal of Plant Physiology** 67: 945-952.
- Chalker-Scott L (1999) Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. **Photochem Photobiol** 70:1–9.
- Clark, R. B. (1975). Characterization of phosphatase of intact maize roots. **J. Agric. Food Chem**, 23: 458-460.
- Cocker, K.M.; Evans, D.E.; Hodson, M.J. (1998) The amelioration of aluminium toxicity by silicon in higher plants: Solution chemistry or an in plant mechanism. **Physiol. Plant** 104: 608–614.
- Coskun, D., Deshmukh, R., et al. (2019). The controversies of silicon's role in plant biology. **New Phytologist** 221: 67-85.
- Deshmukh, R. K., MA, J. F., Bélanger, R. R. (2017). Role of silicon in plants. **Frontiers in Plant Science** 8: 1858.
- Devasirvatham, V., Gaur, P.M., Mallikarjuna, N., Raju, T.N., Trethowan, R.M., Tan, D.K.Y. (2012). Effect of high temperature on the reproductive development of chickpea genotypes under controlled environments. **Funct. Plant Biol.** 39: 1009-1018.
- Dorneles, A. O. S., Pereira, A. S., et al. (2019). Aluminum stress tolerance in potato genotypes grown with silicon. **Bragantia**, 78, 12-25.

- Emamverdian, A.; Ding, Y.; Mokhberdorran, F.; Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. **The Scientific World Journal** 1-19.
- Erofeeva, E. A. (2015). Dependence of guaiacol peroxidase activity and lipid peroxidation rate in drooping birch (*Betula pendula* Roth) and Tillet (*Tilia cordata* Mill) leaf on motor traffic pollution intensity. **Dose-Response**, 13: 1559325815588510.
- Gao, X., Zou, C., Wang, L., & Zhang, F. (2006). Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. **Journal of Plant Nutrition** 29: 1637-1647.
- Giannakoula, A., Moustakas, M., Syros, T., & Yupsanis, T. (2010). Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line. **Environmental and Experimental Botany** 67: 487-494.
- Giannopolitis, C. N.; Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology** 59: 309-314.
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Gill, R., Yadav, S., Hasanuzzaman, M., Fujita, M., ... & Tuteja, N. (2015). Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research** 22: 10375-10394.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, 48, 909-930.
- Giongo, V., & Bohnen, H. (2011). Relation between aluminum and silicon in maize genotypes resistant and sensitive at aluminum toxicity. **Bioscience Journal** 27: 348-356.
- Gomathi, R., Naveen Kumar, A. T., Gururaja Rao, P. N., Sundara, B., Rakkiyappan, P., & Geetha, V. (2011). Sugar metabolism of plant and ratoon crops in sugarcane. **Indian Journal of Plant Physiology** 16: 1.
- Gong HJ; Zhu XY; Chen KM; Wang SM; Zhang CC. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science** 169: 313-321.
- Granco, G., Caldas, M. M., Bergtold, J. S., & Sant'Anna, A. C. (2017). Exploring the policy and social factor influencing the expansion and shift of sugarcane production in the Brazilian Cerrado. **GeoJournal** 82: 63-80.
- Gratão, P. L., Monteiro, C. C., Tezotto, T., Carvalho, R. F., Alves, L. R., Peters, L. P., & Azevedo, R. A. (2015). Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. **Biometals**, 28: 803-816.

- Guntzer, F., Keller, C., & Meunier, J. D. (2012). Benefits of plant silicon for crops: a review. **Agronomy for Sustainable Development** 32: 201-213.
- Guo, T. R., Zhang G. P., Zhou M. X., Wu F. B., Chen J. X. (2012). Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere** 17: 505-512.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics** 125: 189-198.
- Hodson, M. J., & Evans, D. E. (2020). Aluminium–silicon interactions in higher plants: an update. **Journal of Experimental Botany**.
- Horst, W. J., Wang, Y., Eticha, D. (2010). The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of botany** 106: 185-197.
- Hussain, I., Parveen, A., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Ibrahim, M., Riaz, S., Iqbal, M. (2019). Exogenous Silicon Modulates Growth, Physio-Chemicals and Antioxidants in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Exposed to Different Temperature Regimes. **Silicon** 11: 2753-2762.
- Inostroza-Blancheteau, C., Rengel, Z., Alberdi, M., De La Luz Mora, M., Aquea, F., Arce-Johnson, P., Reyes-Díaz, M. (2001) Molecular and physiological strategies to increase aluminum resistance in plants. **Molecular biology reports** 39: 2069-2079.
- Jesus, L. R., Batista, B. L., & da Silva Lobato, A. K. (2017). Silicon reduces aluminum accumulation and mitigate stoxic effects in cowpea plants. **Acta Physiologiae Plantarum** 39: 138.
- Jiang, H.-X., Chen, L.-S., Zheng, J.-G., Han, S., Tang, N. and Smith, B. R. (2008). Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescen cetran sient. **Tree Physiol** 28: 1863-1871.
- Kim, Y. H., Khan, A. L., Waqas, M., & Lee, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. **Frontiers in Plant Science** 8: 510.
- Kovinich, N., Kayanja, G., Chanoca, A., Riedl, K., Otegui, M. S., & Grotewold, E. (2014). Not all anthocyanins are born equal: distinct patterns induced by stress in Arabidopsis. **Planta** 240: 931-940.
- Kovinich, N., Kayanja, G., Chanoca, A., Otegui, M. S., & Grotewold, E. (2015). Abiotic stresses induce different localizations of anthocyanins in Arabidopsis. **Plant signaling & behavior** 10: e1027850.

- Landi, M.; Tattini, M.; Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. **Environmental and Experimental Botany** 119: 4-17.
- Lazarević, B., Jurkić, V., Mušić, M., & Poljak, M. (2016). Effect of aluminium toxicity on concentration of photosynthetic pigments in two potato cultivars with different aluminium sensitivity. **In VI Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 1142**: 61-66.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in enzymology** 148: 350-382.
- Lima, M. D. R.; Barros JR, U. O.; Barbosa, M. A. M.; Segura, F. R.; Silva, F. F.; Batista, B. L.; Lobato, A. K. S. (2016). Silicon mitigates oxidative stress and has positive effects in *Eucalyptus platyphylla* under aluminium toxicity. **Plant Soil Environ** 62: 164-170.
- Luković, J., Maksimović, I., Zoric, L., Nagl, N., Perčić, M., Polic, D., Putnik-Delić, M. (2009). Histological characteristics of sugar beet leaves potentially linked to drought tolerance. **Industrial Crops and Products** 30: 281-286.
- Martin, W. J.; Stimart, D. P. (2005). Stomatal density in *Antirrhinum majus* L.: inheritance and trends with development. **Hort Science** 40: 1252-1258.
- Monteiro, C. C., Carvalho, R. F., Gratão, P. L., Carvalho, G., Tezotto, T., Medici, L. O., Azevedo, R. A. (2011). Biochemical responses of the ethylene-insensitive Never ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. **Environmental and Experimental Botany** 71: 306-320.
- Nasr, N., Carapetian, J., Heidari, R., Rezaei, S. A., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., & Ghezalbash, F. (2011). The effect of aluminium on enzyme activities in two wheat cultivars. **African Journal of Biotechnology**, 10: 3354-3364.
- Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., & Pogson, B. J. (2015). Carotenoid metabolism in plants. **Molecular plant** 8: 68-82.
- Nogueirol, R. C., Monteiro, F. A., Gratão, P. L., Borgo, L., & Azevedo, R. A. (2015). Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes. **Environmental monitoring and assessment**, 187: 73.
- Panda, S. K., Baluška, F., & Matsumoto, H. (2009). Aluminum stress signaling in plants. **Plant signaling & behavior** 4: 592-597.
- Panda, S. K.; Baluška, F. (Eds.). (2015). Aluminum Stress Adaptation in Plants (Vol. 24). **Springer**.

Passamani, L. Z., Barbosa, R. R., Reis, R. S., Heringer, A. S., Rangel, P. L., Santa-Catarina, C., ... & Silveira, V. (2017). Salt stress induces changes in the proteomic profile of micropropagated sugarcane shoots. **PloS one** 12: e 0176076.

Pereira, L. B., Mazzanti, C. M., et al.. (2010). Aluminium induced oxidative stress in cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry** 48: 683-689.

Pontigo, S., Godoy, K., Jiménez, H., Gutiérrez-Moraga, A., Mora, M. D. L. L., & Cartes, P. (2017). Silicon-mediated alleviation of aluminum toxicity by modulation of Al/Si uptake and antioxidant performance in ryegrass plants. **Frontiers in plant science** 8: 642.

RAMEL, F. et al. (2012). Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 109: 5535-5540.

Ribeiro, C., Cambraia, J., Peixoto, P. H. P., & Fonseca Júnior, É. M. D. (2012). Antioxidant system response induced by aluminum in two rice cultivars. **Journal of Plant Physiology** 24: 107-116.

Ribeiro, N. V.; Ferreira, L. G.; Ferreira, N. C. (2015). Padrões e impactos ambientais da expansão atual do cultivo da cana-de-açúcar: uma proposta para o seu ordenamento no bioma Cerrado. **Ateliê Geográfico** 9: 99-113.

Sacala, E. (2009). Role of silicon in plant resistance to water stress. **Journal of Elementology** 14: 619-630.

Santos, C. M. do; De Almeida Silva, M. (2015). Physiological and biochemical responses of sugarcane to oxidative stress induced by water deficit and paraquat. **Acta physiologiae plantarum** 37: 172.

Shahnaz, G.; Shekoofeh, E.; Kouros, D.; Moohamadbagher, B. (2011). Interactive effects of silicon and aluminum on the malondialdehyde (MDA), proline, protein and phenolic compounds in *Borago officinalis* L. **Journal of Medicinal Plants Research**, 24: 5818-5827.

Sharma, P., & Dubey, R. S. (2007). Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. **Plant cell reports** 26: 2027-2038.

Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. **Applied biochemistry and biotechnology** 167: 2225-2233.

Shen, S., Chen, D., Li, X., Li, T., Yuan, M., Zhou, Y., & Ding, C. (2014). Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from leaves of *Paris polyphylla*. **Carbohydrate polymers**, 104: 80-86.

- Silva, S. et al. (2017). Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. **Critical reviews in food science and nutrition** 57: 3072-3083.
- Souri, Z., Khanna, K., Karimi, N., & Ahmad, P. (2020). Silicon and Plants: Current Knowledge and Future Prospects. **Journal of Plant Growth Regulation**: 1-20.
- Streit, N. M. et al. (2005) As clorofilas. **Ciência Rural** 35: 748-755.
- Tripathy, B. C., & Oelmüller, R. (2012). Reactive oxygen species generation and signaling in plants. **Plant signaling & behavior** 7: 1621-1633.
- Turnbull, C. (2019). Changes in pigment accumulation as indicators of physical stress in *Eucalyptus pauciflora*. **Field Studies in Ecology**: 2.
- Vega, I., Nikolic, M., Pontigo, S., Godoy, K., Mora, M. de L.L., Cartes, P., (2019). Silicon improves the production of high antioxidant or structural phenolic compounds in barley cultivars under aluminum stress. **Agronomy** 9: 388.
- Vitorello, V. A., Capaldi, F. R., & Stefanuto, V. A. (2005). Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 129-143.
- Wahid, A. (2007). Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **Journal of plant Research** 120: 219-228.
- Wang, Y., Stass, A., & Horst, W. J. (2004). Apoplastic binding of aluminum is involved in silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in maize. **Plant physiology** 136: 3762-3770.
- Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Current opinion in plant biology** 5: 218-223.
- Yamamoto, Y. Kobayashi, and H. Matsumoto. (2001). "Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in Pea roots," **Plant Physiology** 125: 199–208.
- Zargar, S. M., Mahajan, R., Bhat, J. A., Nazir, M., & Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in plant stress tolerance: opportunities to achieve a sustainable cropping system. **Biotech** 9: 73.
- Zhu, Y., Gong, H., (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 455–472

CAPÍTULO 3 – SILÍCIO ATENUA A TOXICIDADE DE ALUMÍNIO, MELHORANDO O ACÚMULO DE LIGNINA, NUTRIENTES E A EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO EM PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo: O silício (Si) é um elemento utilizado para atenuar a toxicidade de Al nas plantas. No entanto, os mecanismos envolvidos na atenuação deste estresse em plantas de cana-de-açúcar não são totalmente compreendidos. Diante disto, este estudo teve por objetivo verificar o efeito atenuador do Si em plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al. O experimento foi montado em blocos casualizados em esquema fatorial 4X2X2, com quatro repetições. Os tratamentos foram 0, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de Al, na forma de Al₂(SO₄)₃.18H₂O, e a ausência e presença (2,0 mmol L⁻¹) de Si na forma de K₂SiO₃ em duas cultivares de cana-de-açúcar (CTC9003 e CTC9002). Acúmulo e eficiência de uso de macro e micronutrientes, teor de lignina e massa vegetal foram avaliados. Nossos resultados evidenciaram que as duas cultivares de cana-de-açúcar são sensíveis aos danos da toxicidade de Al. Isso foi evidenciado pelo alto acúmulo de Al nas raízes e na parte aérea, o que causou um distúrbio nutricional e afetou o crescimento das plantas. Nossa pesquisa sugere que o Si induziu tolerância à toxicidade de Al pela diminuição do acúmulo na planta, a partir do aumento de lignina resultando em maior acúmulo e eficiência de utilização dos nutrientes. Com isso, favoreceu a produção da massa seca da parte aérea de ambas as cultivares da cana-de-açúcar.

Palavra-chave: estresse abiótico, elemento benéfico, macronutrientes, micronutrientes, *Saccharum spp.*

CHAPTER 3 - SILICON ATTENUATES ALUMINUM TOXICITY, IMPROVING LIGNIN CONTENT, NUTRIENTS AND EFFICIENCY OF USE IN SUGARCANE PLANTS

ABSTRACT – Silicon (Si) is an element used to alleviate the Al toxicity in plants. However, the mechanisms involved in alleviating this stress in sugarcane plants are not completely understood. Therefore, this study aimed to verify the attenuating effect of Si in young sugar cane plants in Al toxicity. The experiment was performed using two sugarcane cultivars (CTC9003 e CTC9002) under four concentrations of Al (0, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ Al₂(SO₄)₃.18H₂O) in the absence and presence of Si application (0 and Si 2,0 mmol L⁻¹ K₂SiO₃). The accumulation and efficiency of macronutrients and micronutrients, lignin content and plant biomass were determined. Our results showed that the two sugarcane cultivars were sensitive to Al toxicity damage. This was evidenced by the high Al accumulation in roots and shoots, which caused nutritional disturbance and affected the plant growth. Our research suggests that Si induced tolerance to Al toxicity by decreasing Al in the plant, through an increased lignin content resulting in greater accumulation and efficiency of nutrient use. Hence, it contributed to the dry biomass production from the shoot of sugar cane cultivars.

Keywords: abiotic stress, beneficial element, macronutrients, micronutrients, *Saccharum spp.*

1. INTRODUÇÃO

O Al está presente em cerca de 40% dos solos aráveis em todo o mundo, o que o torna um problema agrônomico de âmbito global para a produção agrícola (Bian et al., 2013; Sade et al., 2016; Singh et al., 2017). Nos solos ácidos (pH < 5,0) predominam as formas Al [(H₂O)₆]³⁺ ou Al³⁺, que mesmo em quantidades muito baixas, são tóxicas para a maioria das espécies vegetais, incluindo a cana-de-açúcar (Silva et al., 2019). As plantas cultivadas nestes solos, mesmo em condições adequadas de nutrientes, não atingem produtividade ótima devido aos distúrbios estruturais no sistema radicular (Arunakumara et al., 2013; Emamverdian et al., 2015; Silva, 2012).

A toxicidade de Al³⁺ induz desequilíbrios nutricionais favorecendo a deficiência dos nutrientes nas plantas, tais como, nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), manganês (Mn), ferro (Fe), zinco (Zn), boro (B) e molibdênio (Mo). Isto ocorre devido à interferência do Al nos processos de absorção e utilização destes nutrientes pelas plantas (Panda e Baluška, 2015; Rahman et al., 2018; Silva, 2012).

O silício (Si) vem sendo utilizado na atenuação de vários estresses abióticos (Adrees et al., 2015; Etesami e Jeong, 2018), incluindo a toxicidade por Al como em arroz (Freitas et al., 2017; Singh et al., 2011), sorgo (Kopittke et al., 2017) e milho (Sousa et al., 2019). A função do Si no aumento da tolerância ao Al em pesquisas anteriores inclui a diminuição da absorção e translocação de Al, devido à formação de complexos de aluminossilicato biologicamente inativos (Al-Si) no meio externo e interno das raízes (Cocker et al., 1998; Wang et al., 2004; Kopittke et al., 2017; Qian et al., 2019). Também, estudos comprovaram que o Si pode atenuar a toxicidade de

Al devido ao aumento da absorção de nutrientes (Hodson e Evans, 2020; Kostic et al., 2017; Singh et al., 2011), e da eficiência nutricional (Alsaeedi et al., 2019; Calero et al., 2019). Outro fator muito importante é a função do Si no aumento da produção de compostos fenólicos (Mendonça et al., 2013) e da lignina (Suzuki et al., 2012). Isto é importante porque alguns compostos fenólicos podem formar complexos estáveis com o Al^{3+} , contribuindo para a desintoxicação nos tecidos (Barceló et al., 2002). A lignina, por exemplo, contribui para a redução dos danos causados pelo Al^{3+} devido ao consumo de compostos fenólicos durante a deposição na parede celular (Sasaki et al., 1996).

Existem relatos sobre a eficácia da aplicação de Si na atenuação da toxicidade de Al, que foram demonstradas em estudos anteriores em plantas de trigo, milho e arroz (Cocker et al., 1998, Wang et al. 2004, Qian et al., 2019; Singh et al., 2011), mas não há informações para a cana-de-açúcar

A cultura da cana-de-açúcar tem alta capacidade de absorção de Si, e isso pode ser um indicador que esse elemento benéfico pode promover a atenuação da toxicidade de Al. Este fato é importante porque a cultura é cultivada em diferentes regiões tropicais com predomínio de solos ácidos com alto teor de Al trocável (Castanho e Souto, 2014; Geraldo Oliveira et al., 2014).

Assim, tendo como hipótese que a aplicação de Si atenua a toxicidade de Al, no presente estudo foi verificado em duas cultivares de cana-de-açúcar (CTC9002 e CTC9003) se o Si mitiga este estresse pelo aumento dos teores de lignina e pela redução da absorção de Al, a qual favorece a absorção e a eficiência de uso dos macronutrientes e micronutrientes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) em estufa de vidro. As plantas foram mantidas a uma temperatura de $28,6 \pm 2,7^{\circ}\text{C}$ e uma umidade relativa de $60,0\% \pm 15\%$.

Foram utilizadas plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. CTC9002 e cv. CTC9003, primeiras cultivares desenvolvidas, especificamente, para o plantio no Cerrado Brasileiro (Assovale, 2019), isto significa que as características das cultivares atendem ao ambiente edafoclimático (solo e clima) específico desta região e, portanto, garantem um excedente de produtividade (Assovale, 2019).

CTC9002: Ambiente de produção C e D, a cultivar apresenta como características rusticidade com tolerância a seca para o cerrado, longevidade, porte ereto facilitando o manejo mecanizado e a colheita.

CTC9003: Ambiente de produção A, B e C, a cultivar apresenta alto perfilhamento e permite o plantio mecanizado.

2.2 Metodologia experimental

O experimento foi realizado em blocos casualizados, com quatro repetições em esquema fatorial $4 \times 2 \times 2$, sendo quatro concentrações de Al (0, 10, 15 e 20 mg L^{-1}), duas cultivares de cana-de-açúcar (CTC9002 e CTC9003), na ausência e na presença de Si (0,0 e $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$). Cada unidade experimental constou de um vaso de polietileno, com $0,04 \text{ m}^2$. Contendo 2,0L de solução nutritiva e uma planta.

2.3 Solução nutritiva

Após a obtenção de plantas jovens, cultivadas em areia lavada, sem estresse, por 30 dias, as mesmas foram transferidas para o sistema hidropônico, constituído de vasos preenchidos com solução nutritiva de Clark (1975), iniciando-se a 25% de

força iônica para aclimatar as plantas por cinco dias completos, aumentando para 50% por mais cinco dias e para 100% de solução quando iniciou os tratamentos com Al, por 15 dias. O sistema foi mantido sob arejamento constante da solução por borbulhamento de ar suprido por bomba de ventilação. O pH da solução nutritiva foi monitorado diariamente e mantido a $4,5 \pm 0,2$ usando solução de ácido clorídrico 1N (HCl) e a cada cinco dias realizada a troca de solução.

2.4 Tratamentos com Al e Si

As mudas foram expostas aos tratamentos com o sulfato de Al $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}]$, nas concentrações de 0; 10; 15 e 20 mg L⁻¹. Após 15 dias, as plantas estressadas com Al, foram tratadas com Si, permanecendo 20 dias na presença de 2,0 mmol L⁻¹ de silicato de potássio (K_2SiO_3), devido ao fato que a partir de uma concentração de 2,0mmol L⁻¹ de Si ocorre a precipitação do Si e, portanto, não é possível a utilização de uma concentração maior (COSTA, 2012). Houve o tratamento sem o K_2SiO_3 e neste foi realizada a complementação de potássio na solução, a fim de só se avaliar o efeito do Si na solução nutritiva.

2.5 Avaliações

2.5.1 Determinação do crescimento

Após 45 do transplântio as plantas foram lavadas com água destilada, solução detergente (0,2%), solução de ácido clorídrico (0,1%) e, finalmente, duas vezes com água deionizada para remover os resíduos.

As plantas foram separadas em raízes e parte aérea e colocadas em sacos de papel e a secagem foi realizada em estufa de ventilação forçada de ar em temperatura constante de 65°C até atingirem massa constante, então a massa seca foi obtida em balança digital.

2.5.2 Determinação do acúmulo do Al, de Si, de nutrientes e da eficiência de utilização

Os teores de Al foram obtidos tanto na raiz quanto na parte aérea, segundo a metodologia de Wang & Wood (1973), e expressado em mg kg^{-1} . O conteúdo de Si (mg kg^{-1}) foi avaliado na parte aérea, conforme descrito por Kraska & Breitenbeck (2010). As concentrações dos macronutrientes (nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S)) e dos micronutrientes (cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn)) foram determinados na parte aérea de acordo com o método descrito por Bataglia et al. (1983) e expressos em mg kg^{-1} e $\mu\text{g kg}^{-1}$ de massa seca, respectivamente.

O acúmulo total de Al, Si, macronutrientes e micronutrientes foi calculado com o teor destes elementos e nutrientes pela massa seca da planta (g planta^{-1}) segundo os critérios expostos anteriormente (Calero et al., 2019). A eficiência de utilização de nutrientes foi calculada como a massa seca da parte aérea das plantas (MSPA) dividida pelos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Zn e Mn (g MSPA mg^{-1}) de cada elemento de acordo com Siddiqi & Glass (1981).

2.5.3 Determinação da concentração de lignina

O teor de lignina foi determinado pelo método do brometo de acetila, descrito por Moreira-Vilar et al. (2014). Em 20 mg da amostra de parede celular livre de proteínas foram misturados 0,5 ml de brometo de acetila (v/v, em ácido acético glacial). A mistura permaneceu a 70°C por 30 minutos até completa digestão, foi resfriada em banho de gelo e adicionados 100 μl de hidroxilamina-HCl 5M, 0,9 ml de NaOH 2M e 6 ml de ácido acético glacial. A mistura foi centrifugada por cinco minutos a 1400 g e o sobrenadante coletado para leitura a 280 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como mg de lignina g^{-1} de parede celular.

2.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo software estatístico AgroEstat® (Barbosa e Maldonado Jr, 2015). Os dados foram submetidos à análise de variância

pelo teste F e as diferenças significativas entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3. Resultados

3.1. Acúmulo de Al e de Si

O Si atenuou altas concentrações de Al (maiores que 10 mg L^{-1}) quando comparado com o grupo controle. O aumento da oferta de Al na solução nutritiva causou um aumento significativo nas concentrações de Al na parte aérea e nas raízes das plantas sem a suplementação de Si (Figura 1A e 1B). O aumento das concentrações de Al em plantas tratadas com Si ocorreu em quantidades significativamente menores (Fig. 1A e 1B). Nas raízes a presença de Si reduziu o acúmulo de Al em 15 e 20 mg L^{-1} de Al quando comparado com as plantas sem Si, mas na concentração de 10 mg L^{-1} de Al não houve efeito significativo entre a ausência e presença de Si no acúmulo de Al (Fig. 1B).

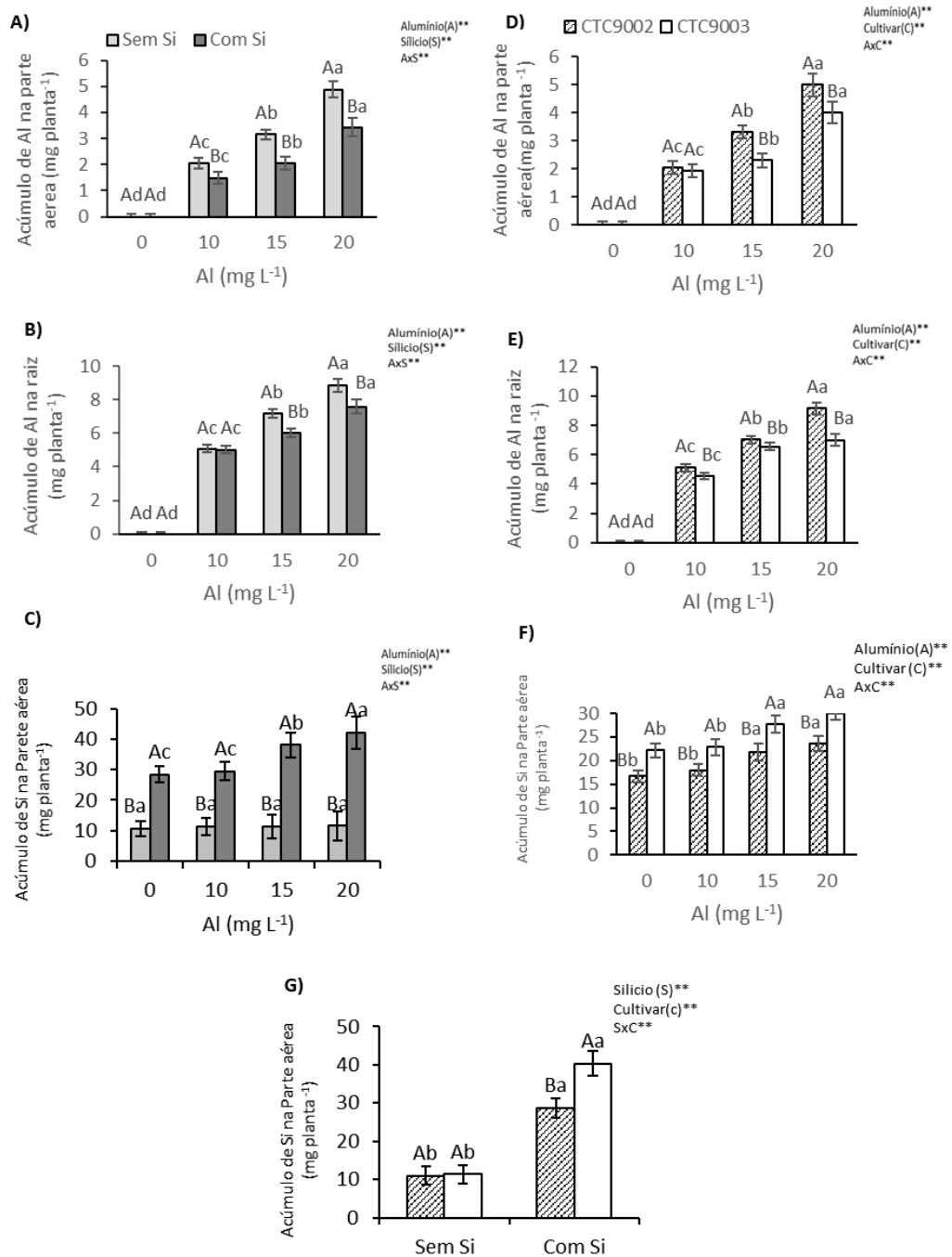


Figura 1. Acúmulo de Al e de Si em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A-C): Al na parte aérea (A), Al nas raízes (B), Si na parte aérea (C). Acúmulo de Al na cv. CTC9002 e CTC9003 sob toxicidade de Al (D-E): Al na parte aérea (D) e Al nas raízes (E). Acúmulo de Si na cv. CTC9002 e CTC9003 sob toxicidade de Al (F). Acúmulo de Si na cv. CTC9002 e CTC9003 com ou sem Si (G). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

Houve efeito significativo na interação Al e cultivar no acúmulo de Al na parte aérea e nas raízes das duas cultivares (Fig. 1D e 1E). O acúmulo de Al aumentou significativamente com o incremento das concentrações de Al nas raízes e na parte aérea nas cultivares, mesmo na presença de Si (2 mmol L^{-1}). No entanto, a cv. CTC9003 acumulou menor quantidade de Al em comparação com a cv. CTC9002 (Figura 1D e 1E).

As plantas jovens de cana-de-açúcar mostraram interação significativa no acúmulo de Si na parte aérea (Fig. 1C). Sem a suplementação de Si, ambas as cultivares evidenciaram o mesmo acúmulo de Si em todos os tratamentos com Al. Com a suplementação de Si, houve maior acúmulo de Si nas plantas nas maiores concentrações de Al, 15 e 20 mg L^{-1} de Al (Fig. 1C). Em ambas as cultivares (Fig. 1F) o acúmulo de Si aumentou quando houve o aumento das concentrações de Al, porém dentro das concentrações de Al foi possível observar que a CTC9003 acumulou uma maior quantidade de Si quando comparada com a CTC9002 (Fig. 1F). No entanto, a Fig. 1G demonstra que independente das concentrações de Al ambas as cultivares sem Si acabam tendo o mesmo acúmulo do elemento e quando ambas são suplementadas com Si a CTC9003 difere significativamente seu acúmulo de Si quando comparada com a CTC9002.

3.2. Acúmulo de nutrientes

Houve interações significativas AlxSi e AlxC no acúmulo dos macronutrientes na PA das plantas de cana-de-açúcar (Fig. 2A-2L). As plantas de cana apresentaram maior diminuição do acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S com o incremento das concentrações de Al e sem a suplementação de Si em comparação com as plantas tratadas com Si (Fig. 2A-2F). A adição de Si incrementou os teores de macronutrientes sob todas as concentrações de Al (Fig. 2A, 2B e 2E), exceto na concentração de 10 mg L^{-1} para K (Fig. 2C) e S (Fig. 2F). Em plantas não estressadas pelo Al ($0,0 \text{ mg L}^{-1}$), a adição de Si incrementou os teores de Ca (Figura 2D). Isto também foi verificado na comparação das cultivares (Fig. 2J), em que os teores de Ca foram incrementados na cv. CTC9003 pelo Si em comparação com a cv. CTC9002 (Fig. 2J).

Com o incremento das concentrações de Al (10, 15 e 20 mg L⁻¹), houve redução nos teores de N, P, K, Ca, Mg e S, tanto na cv. CTC 9002 e cv. CTC9003 (Fig. 2G-2L). Ainda, cv. CTC9003 sob toxicidade de Al mostrou menor redução destes macronutrientes que a cv. CTC9002 (Fig. 2G-2L). Na comparação das duas cultivares, pode-se ainda verificar que houve decréscimo dos teores de N e K apenas na maior concentração de Al, 20 mgL⁻¹ (Fig. 2G e 2I).

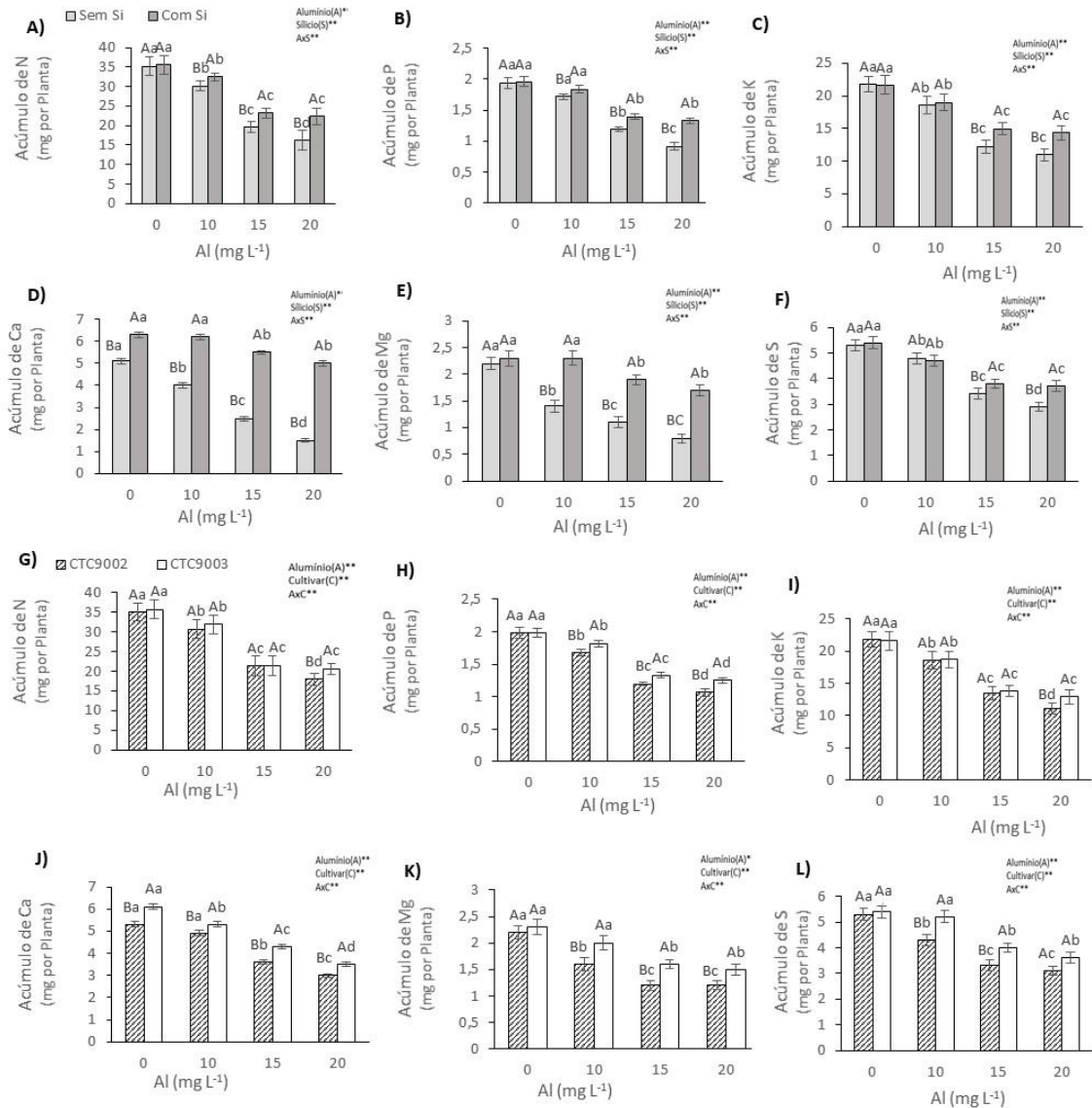


Figura 2. Acúmulo de macronutrientes em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A-F) e em cada cultivar (cv. CTC9002 e cv. CTC9003) sob toxicidade de Al (G-L): (A, G) N; (B, H) P; (C, I) K, (D, J) Ca, (E, K) Mg e (F, L) S. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). Os valores representam médias de quatro repetições (n = 4); barras verticais indicam erro padrão (± EP).

Como ocorreu com os macronutrientes, também os micronutrientes Fe, Mn Zn, Cu e B, foram reduzidos nas plantas sob toxicidade de Al e a significativa diminuição foi atenuada pela suplementação de Si (Figura 3). Houve interações significativas Al \times Si e Al \times C no acúmulo dos micronutrientes nas plantas de cana-de-açúcar (Fig. 3A-3E). As plantas de cana apresentaram maior diminuição do acúmulo de Fe, Mn, Zn, Cu e B com o incremento das concentrações de Al e sem a suplementação de Si em comparação com as plantas tratadas com Si (Fig. 3A-3E). A adição de Si incrementou os teores de micronutrientes, Mn Zn, Cu e B, sob todas as concentrações de Al (Fig. 3B-3E). Já os teores de Fe foram incrementados pelo Si apenas nas plantas sob 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 3A). Em plantas não estressadas pelo Al (0,0 mg L⁻¹), a adição de Si incrementou os teores de Cu (Fig. 3D) e de B (Fig. 3E). Isto também foi verificado na comparação das cultivares, onde os teores de Fe e B foram incrementados na cv. CTC9003 pelo Si em comparação com a cv. CTC9002 (Fig. 3F e 3J).

Com o incremento das concentrações de Al (10, 15 e 20 mg L⁻¹) houve redução nos teores de todos os micronutrientes, tanto na cv. CTC 9002 e cv. CTC9003 (Fig. 3F-3J). Ainda a cv. CTC9003 sob toxicidade de Al mostrou menor redução dos micronutrientes que a cv. CTC9002 (Fig. 3F-3J). Na comparação das duas cultivares, pode-se ainda verificar que não houve diferença significativa para os teores de Fe em cada concentração de Al (Fig. 3A) para o Mn e B em 15 e 20 mg L⁻¹ de Al (Fig. 3G e 3J) e para o Zn em 10 mgL⁻¹ de Al (Fig. 3H). O Al causou diminuição dos teores de Cu da cv. CTC9002 em comparação com a cv. CTC9003 (Fig. 3I).

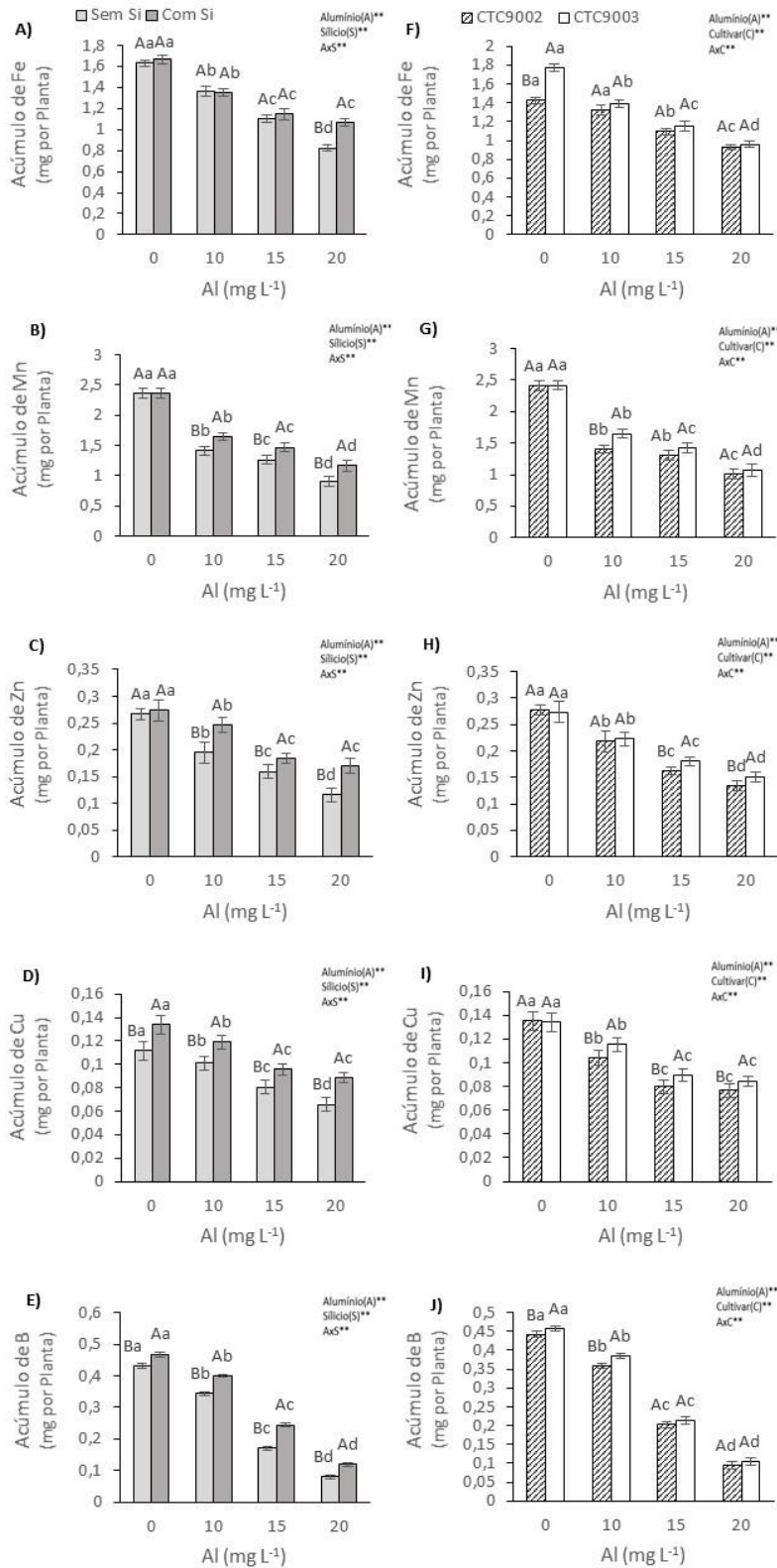


Figura 3. Acúmulo de micronutrientes em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A-E) e em cada cultivar (cv. CTC9002 e cv. CTC9003) sob toxicidade de Al (F-J): (A, F) Fe, (B, G) Mn, (C, H) Zn; (D, I) Cu e (E, J) B. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão ($\pm EP$).

3.3. Eficiência de utilização de nutrientes

Houve um efeito significativo e interativo da toxicidade de Al e Si na utilização de macronutrientes nas duas cultivares (Fig. 4). A eficiência de uso de N, P, K⁺, Ca, Mg e S teve um decréscimo quando houve o aumento da toxicidade, independentemente se as plantas estavam ou não na presença de Si (FIG. 4A-4E). Porém, na presença do Si o decréscimo da eficiência de uso dos macronutrientes foi menor quando comparada com as plantas na ausência de Si. Dentro de cada concentração, as plantas na presença do Si apresentaram diferença significativa da eficiência de uso de N, P, K, Mg, S quando comparadas com as plantas na ausência de Si (Fig. 4A-4C e 4E), exceto para o macronutriente Ca (Fig. 4D). O Si reduziu a eficiência do Ca em ambas cultivares sem estresse – testemunha (Fig. 4D), mas aumentou os teores de Ca como mostrado na Fig. 2D.

Na comparação das cultivares verifica-se que a toxicidade de Al causou diminuição da eficiência de uso de todos os macronutrientes (Fig. 4G-4L), mas a cv. CTC9003 apresentou maior eficiência de uso que a cv. CTC9002.

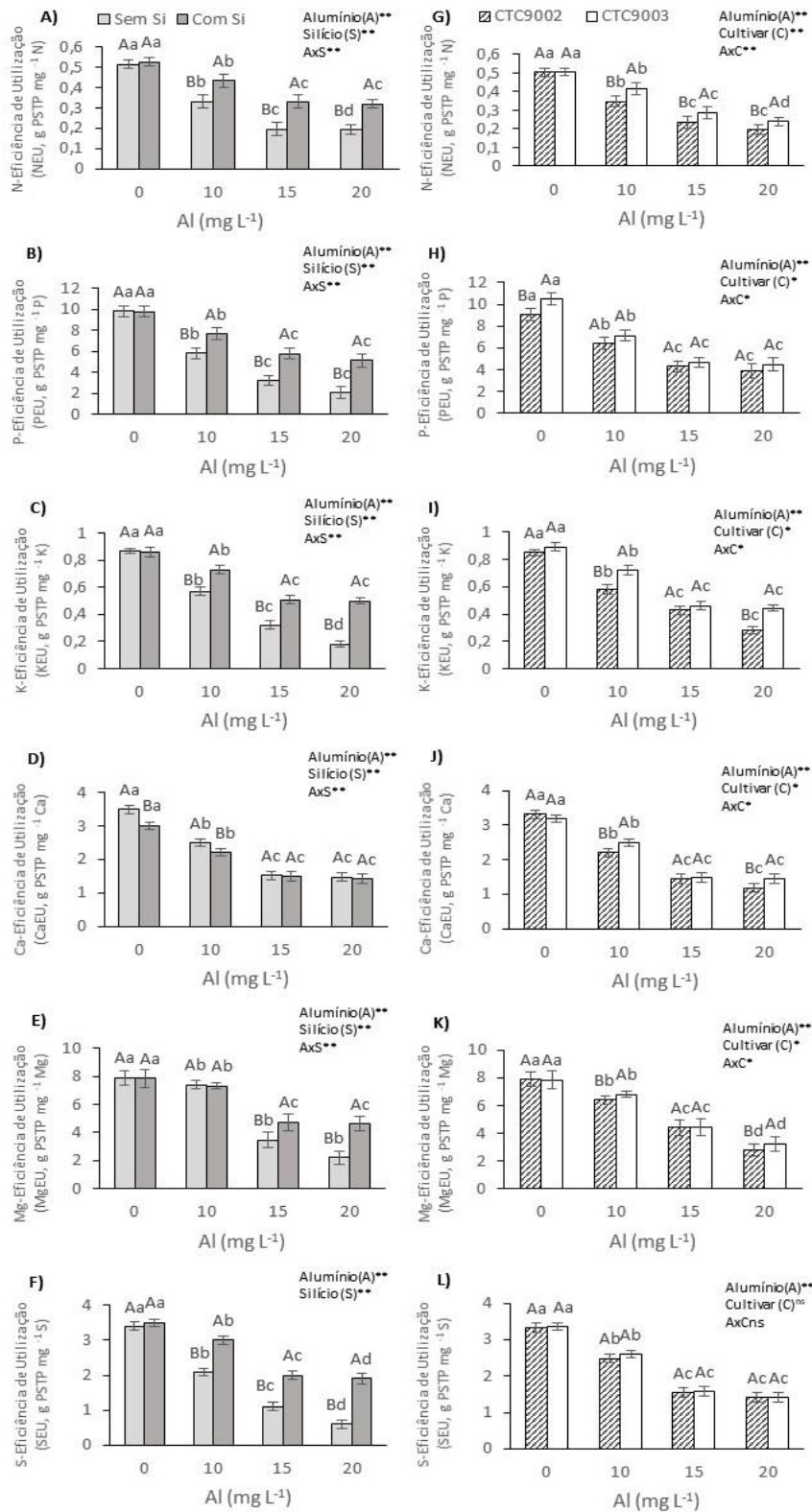


Figura 4. Eficiência do uso de macronutrientes em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A-F) e em cada cultivar (cv. CTC9002 e cv. CTC9003) sob toxicidade de Al (G-L): (A, G) N; (B, H) P; (C, I) K, (D, J) Ca, (E, K) Mg e (F, L) S. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão ($\pm EP$).

A eficiência de uso de Fe, Mn, Zn e Cu independente se as plantas estavam ou não na presença de Si foi decrescente conforme o aumento da toxicidade de Al (Fig. 5A-E). Porém na presença do Si o decréscimo foi significativamente menor quando comparado com as plantas na ausência de Si (Fig. 5A-E). Para o micronutriente B (Fig. 5E) a eficiência de uso teve resposta diferenciada dos outros micronutrientes na concentração de 20mg L^{-1} de Al, onde o micronutriente B apresentou um aumento significativo de sua eficiência de uso igual quando as plantas não estavam na presença do estressor. Para as cultivares (Fig. 5 F-J) observa-se que ambas independentes de estarem ou não na presença do Si evidenciaram redução significativa da eficiência de uso quando houve um aumento da toxicidade do Al. Porém, a cv. CTC9003 mostrou resultados de maior eficiência de uso dos micronutrientes comparada com a cv. CTC9002. As duas cultivares sob concentração de 10 e 20mg L^{-1} de Al evidenciaram diferença significativa para o B (Fig. 5J), com a cv. CTC9003 apresentando maior eficiência de uso comparada com a cv. CTC9002.

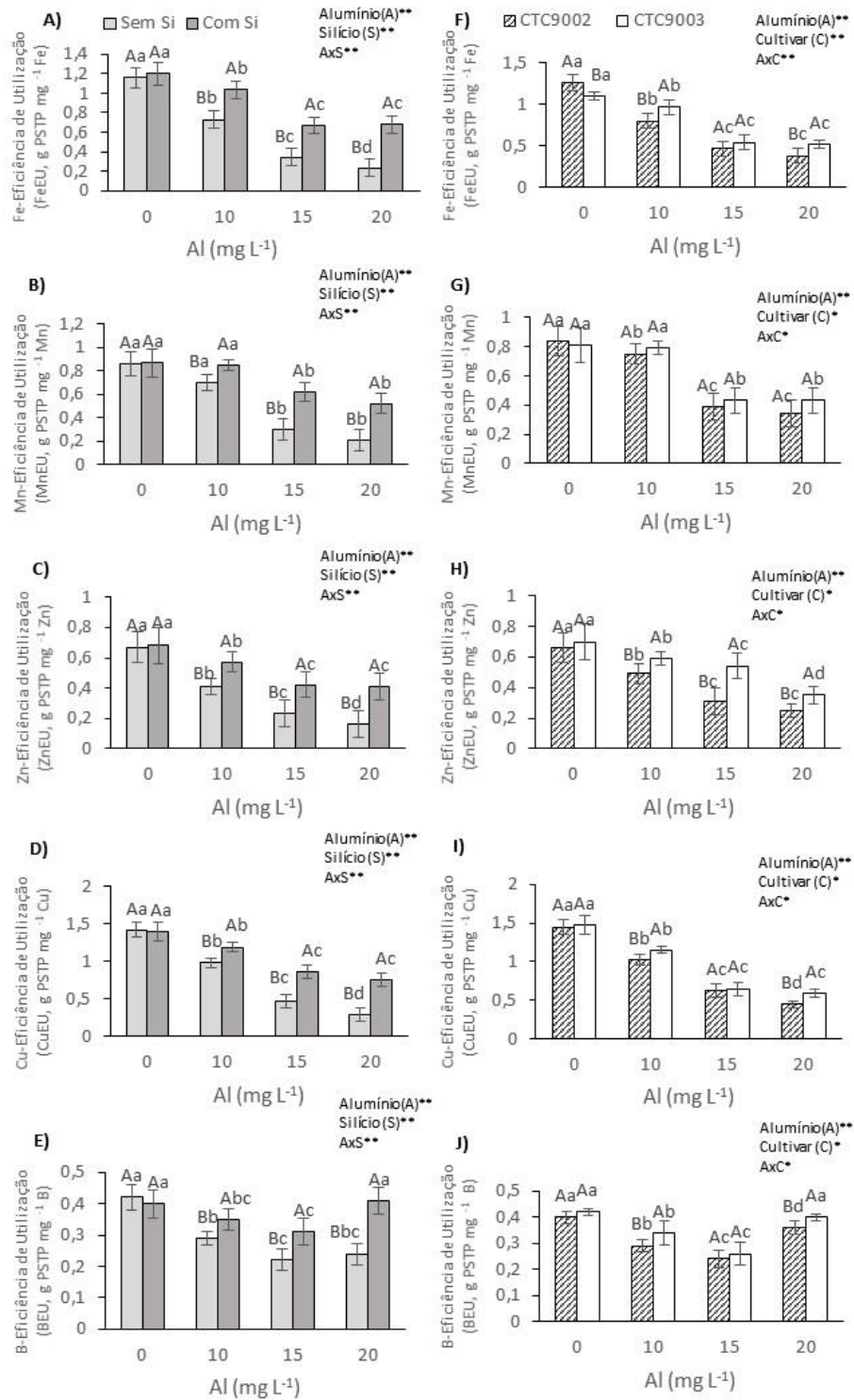


Figura 5. Eficiência da utilização de micronutrientes em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A-E) e em cada cultivar (cv. CTC9002 e cv. CTC9003) sob toxicidade de Al (F-J): (A, F) Fe, (B, G) Mn, (C, H) Zn; (D, I) Cu e (E, J) B. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão ($\pm EP$).

3.4. Teor de lignina

A interação Al e Si foi significativa para o conteúdo de lignina em ambas as cultivares (Fig. 6A) e entre as cultivares (Fig. 6B). O teor de lignina aumentou na presença do agente estressor, isto é, conforme houve aumento das concentrações de Al houve incremento de lignina (Fig. 6A). Com a suplementação de Si, ambas cultivares tiveram maior teor de lignina, independente do estresse de Al (Fig. 6A), indicando que o Si potencializa o conteúdo de lignina em plantas jovens de cana-de-açúcar. O aumento das concentrações de Al provocou maior conteúdo de lignina na cv CTC9002 e na cv. CTC9003 (Fig. 6B), e em cada concentração de Al a cv. CTC9003 apresentou maior teor que a cv. CTC9002 (Fig. 6B).

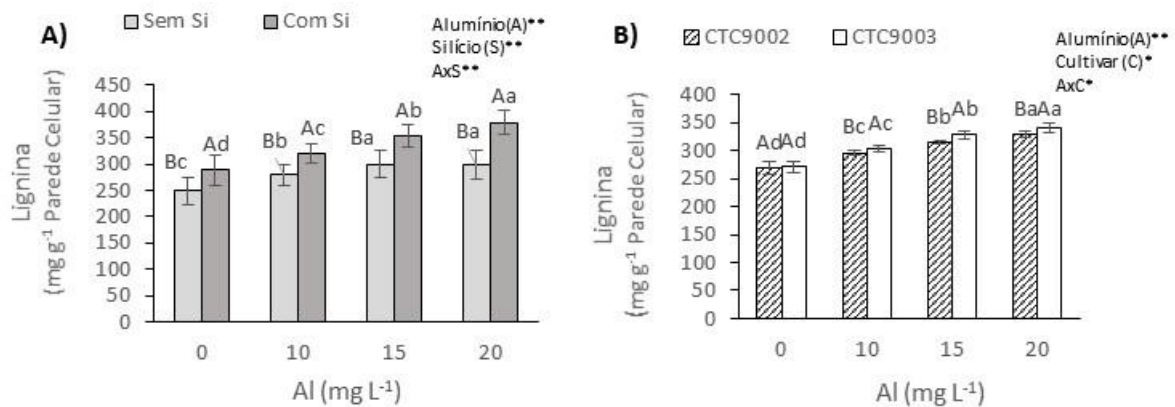


Figura 6. Teor lignina na parede celular da parte aérea em ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar sob toxicidade de Al, com e sem Si (A) e em cada cultivar (cv. CTC9002 e cv. CTC9003) sob toxicidade de Al (B). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

3.5. Crescimento

A toxicidade de Al reduziu significativamente a massa seca da parte aérea de ambas cultivares (Fig. 7A). Com a suplementação de Si, ainda houve redução do crescimento da parte aérea com o aumento da toxicidade do Al, mas esta redução foi menor (Fig. 7A). Em cada concentração de Al, a adição de Si reverteu os efeitos tóxicos do Al, causando maior crescimento em ambas as cultivares (Fig. 7A). Comparando as duas cultivares sob efeito do Al, pode-se verificar que os efeitos tóxicos do Al reduziram o crescimento da parte aérea das cultivares (Fig. 7B) e apesar disto, a cv. CTC9003 teve maior crescimento que a cv. CTC9002.

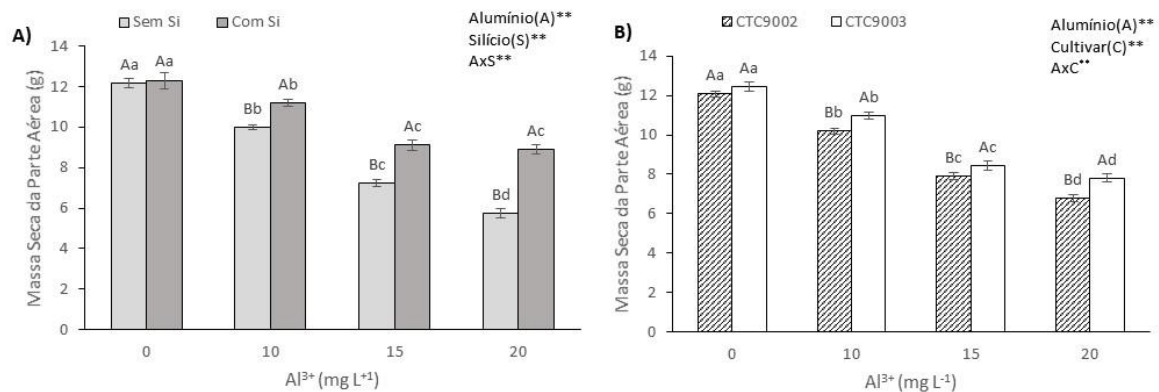


Figura 7. Crescimento (massa seca) da parte aérea (A), de plantas jovens de cana-de-açúcar sob concentrações de Al, na ausência e presença de Si e Crescimento (massa seca) da parte aérea (B) de cada cultivar sob concentrações de Al. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (em cada concentração de Al) e mesma letra minúscula (entre concentrações de Al) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores representam médias de quatro repetições ($n = 4$); barras verticais indicam erro padrão (\pm EP).

4. DISCUSSÃO

Plantas cultivadas sob toxicidade de Al apresentam danos que comprometem o adequado crescimento e desenvolvimento, com negativos impactos na produtividade. O Si está entre os elementos mais estudados para combater o estresse vegetal.

Os resultados apresentados evidenciaram que as concentrações de Al foram absorvidas pelas raízes (Fig. 1B) e transportadas para a parte aérea das plantas jovens de cana-de-açúcar (Fig. 1A). A suplementação de Si reduziu a absorção e

translocação do Al, diminuindo o acúmulo de Al nas raízes e na parte aérea nas duas cultivares (Fig. 1A-B). Isto ocorreu, presumivelmente, devido ao acúmulo de Si na parte aérea de cana-de-açúcar (Fig. 1C), evidenciando que com mais Si na solução nutritiva houve elevada absorção, o que resultou em maior acúmulo de Si, mesmo em cana-de-açúcar, planta naturalmente acumuladora de Si (Fig. 1C). Portanto, o acúmulo de Si na parte aérea (Fig. 1C) diminuiu a absorção de Al nas raízes e a translocação para a parte aérea (Fig. 1A e 1B). Alguns mecanismos podem explicar a diminuição da absorção de Al das plantas promovido pelo Si. Estes mecanismos sugerem a proteção das plantas contra a toxicidade de Al devido à menor absorção e exclusão de Al das raízes (Corrales et al., 1997). A presença de Si na solução nutritiva, provavelmente tenha favorecido a formação de complexos de aluminossilicato biologicamente inativos (Al-Si), diminuindo-se a disponibilidade e absorção de Al (Cocker et al., 1998; Wang et al., 2004). A formação de Al-Si no interior dos tecidos vegetais, é um mecanismo importante pelo qual o Si induz a tolerância nas plantas sob toxicidade de Al (Hodson e Evans, 2020). Além do mais, a co-deposição de Al e Si nas paredes epidérmicas da raiz é um importante mecanismo pelo qual o Si atenua a toxicidade do Al nas plantas (Wang et al., 2004; Hodson e Evans, 2020). Os resultados também evidenciaram que houve diferenças no acúmulo de Al entre as cultivares de cana-de-açúcar estudadas. A cv. CTC9003 apresentou menor acúmulo de Al na parte aérea e nas raízes que a cv. CTC9002 (Fig. 1D e 1E). Isto pode ter ocorrido devido as raízes da cv. CTC9003 terem absorvido menos Al e, conseqüentemente, translocando menos Al para a parte aérea, ou devido ao Al absorvido não ter sido acumulado nas raízes, porque nos tecidos radiculares mecanismos bioquímicos-fisiológicos reduziram a toxicidade ao Al, caracterizando maior tolerância comparada com a cv. CTC9002. Rincón e Gonzales (1992) mostraram que após a exposição ao Al, um genótipo sensível ao Al acumulou cerca de oito vezes mais Al no ápice da raiz do que um genótipo tolerante ao Al.

Nossos resultados evidenciaram que as duas cultivares aumentaram o acúmulo de Si conforme houve o aumento das concentrações de Al (Fig. 1F), com a CTC9003 acumulando uma quantidade significativamente maior em relação a CTC9002. Porém ambas possuem os mesmos teores de Si e com a adição do

elemento na solução nutritiva ambas absorveram o Si (Fig. 1G), com a cv. CTC9003 apresentando maior acúmulo de Si que a cv. CTC9002 (Fig. 1G), evidenciando melhor capacidade desta cultivar em absorver e acumular Si nas raízes e parte aérea. De fato, Ashraf et al. (2010) salientaram que plantas de cana-de-açúcar possuem alta tendência para captação e acúmulo de Si. Alzahrani et al. (2018) relataram que, plantas que mais absorvem e acumulam Si, apresentam melhores respostas sob condições de estresse, pois o Si tem importante função na melhoria do sistema defesa antioxidante. Assim, nossos resultados evidenciam que as quantidades de Si acumuladas nas duas cultivares de cana-de-açúcar possam conferir maior tolerância das plantas à toxicidade de Al.

O estresse por Al reduz o acúmulo dos nutrientes, por causa do estresse osmótico, desequilíbrio nutricional e toxicidade (Kochian et al. 2005; Liang et al. 2013). Estes resultados foram corroborados neste estudo, pois as concentrações mais elevadas de Al diminuíram o acúmulo de macro e de micronutrientes (Fig. 2 e 3). A suplementação com Si incrementou o acúmulo dos macros e micronutrientes na parte aérea de ambas as cultivares de plantas jovens de cana-de-açúcar

Observações semelhantes por Adrees et al. (2015) foram relatadas ressaltando a importância do Si na tolerância das plantas aos estresses por metais ao causar o aumento da absorção de macronutrientes. Este efeito se deve ao fato que o Si induz ativação de enzimas como H-ATPase que está envolvida no processo de absorção de nutrientes (Singh et al., 2017), favorecendo equilíbrio nutricional (Zhu e Gong, 2014). A adição de Si aumentou a absorção de N e K (Liang et al., 2001), P e Fe (Kostic et al., 2017), Ca e Mg (Rahman et al., 2018), Mn (Vega et al., 2019), Zn e B (Vaculík et al., 2020), melhorando à tolerância das plantas de cevada e trigo ao estresse por Al, corroborando com os nossos resultados.

A capacidade da planta em utilizar os nutrientes absorvidos para conversão em biomassa é um importante aspecto nutricional. Observamos que a adição do Al diminuiu a EU de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Zn, Cu e B na parte aérea das plantas de cana-de-açúcar (Fig. 4 e 5). Estes desequilíbrios nutricionais nas plantas ocasionados pelo estresse por Al já foram relatados na literatura (Kochian et al., 2005; Singh et al., 2017; Rahman et al., 2018). Nossos resultados indicaram que a baixa EU promovido pelo Al nas plantas de cana-de-açúcar foi revertida pela

suplementação de Si no meio de crescimento. A maior EU dos nutrientes observada com a aplicação de Si em cv. CTC9002 e cv. CTC9003 sob toxicidade de Al pode estar relacionada com a diminuição no acúmulo do Al na parte aérea e nas raízes (Fig. 1A e 1B), permitindo maior absorção e translocação dos nutrientes (Fig. 2 e 3) convertendo em massa seca da parte aérea PA (Fig. 7A e 7B). Recentes estudos salientam que, o Si aumentou a EU nas plântulas de arroz sob toxicidade de Al e isso refletiu em maior acúmulo de matéria seca (Singh et al., 2011).

As plantas de cana-de-açúcar cultivadas sob a toxicidade do Al apresentaram um aumento na concentração de lignina (Fig. 6). Descobertas semelhantes foram observadas anteriormente em plantas de trigo (Sasaki et al., 1996). No entanto, a suplementação de Si aumentou ainda mais a concentração de lignina em ambas as cultivares de cana-de-açúcar (Fig. 6A, B). Este aumento na concentração de lignina provavelmente ocorreu devido ao alto acúmulo de Si na parte aérea de ambas as cultivares de cana-de-açúcar (Fig. 1G). A literatura também indica que o Si pode ser imobilizado nas paredes celulares como opalinas ou fitólitos (Epstein, 1999; Kumar et al., 2017) e também aumenta os compostos constituintes da parede celular, como celulose e lignina (Schoelynck et al., 2010). Uma possível explicação para esse fenômeno poderia ser a reticulação covalente do Si com componentes da parede celular (hemicelulose, pectina e lignina) em plantas superiores, e pode desempenhar um papel crucial na estrutura e remodelação da parede celular vegetal e, portanto, no crescimento da planta e sua resistência contra estresses abióticos (Sheng e Chen, 2020). Além disso, o Si pode regular negativamente a expressão de genes transportadores de metal e, assim, reduzir a absorção do metal as células vegetais (Emamverdian et al., 2018). Outro papel importante do Si no alívio do estresse por Al é pela retenção de metais nas paredes celulares, especialmente a formação de complexos hemicelulose-metal, influenciando a síntese de lignina (Vaculík et al., 2020). Outra pesquisa sugeriu que o Si pode melhorar a concentração de lignina, aumentando a tolerância da planta à toxicidade de Al em azevém (Ribera-Fonseca et al., 2018) e trigo (Vega et al., 2020, 2019), embora esses processos precisem ser compreendidos em mais profundidade. Nossos resultados sugerem que o aumento exacerbado na concentração de lignina pela suplementação de Si pode levar a uma maior capacidade das plantas de lidar com os efeitos adversos da toxicidade por Al.

A toxicidade de Al reduziu drasticamente o crescimento da parte aérea das cultivares de cana-de-açúcar (Figura 7A e 7B). Estes resultados eram esperados, pelo fato que o crescimento é muito reduzido em plantas sob toxicidade de Al (Liang et al., 2001; Freitas et al., 2015; Castro, 2016; Dorneles et al., 2016; Pontigo et al., 2017).

Nossos resultados evidenciam que a inibição do crescimento induzida pelo Al em plantas jovens de cana-de-açúcar foi revertida pela suplementação de Si. O Si favoreceu o crescimento das plantas cultivadas sob a toxicidade de Al, corroborando com os resultados relatadas em diferentes culturas como a cevada (Liang et al., 2001), arroz (Freitas et al., 2017; Singh et al., 2011), sorgo (Kopittke et al., 2017), milho (Sousa et al., 2019) e trigo (Vega et al., 2020).

De fato, a absorção de Si favoreceu o incremento do teor de lignina induzindo diminuição da absorção e do acúmulo de Al contribuindo para o equilíbrio nutricional ao aumentar a absorção e a eficiência de utilização dos nutrientes para conversão em massa seca da parte aérea das plantas. Na comparação das cultivares, observamos que os efeitos benéficos do Si no crescimento das plantas jovens de cana-de-açúcar cultivadas sob toxicidade de Al, tornam-se mais evidentes na cv. CTC9003 que na cv. CTC9002 (Fig. 7B). Portanto, a hipótese testada no presente estudo de que o Si melhora as respostas nutricionais, aumenta os teores de lignina e isto tudo refletindo em maior acúmulo de biomassa em plantas jovens de cana-de-açúcar sob estresse por Al, pode, portanto, ser aceita.

5. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram que as duas cultivares de cana-de-açúcar são sensíveis aos danos da toxicidade de Al, pelo elevado acúmulo de Al nas raízes e na parte aérea das plantas que provocou distúrbio nutricional e prejudicou o crescimento das plantas. Este estudo sugere que o Si induziu tolerância à toxicidade de Al pela diminuição do acúmulo do metal na planta a partir do aumento da lignina, o que pode ter favorecido ao incremento do acúmulo e da eficiência de utilização dos nutrientes e, conseqüentemente, maior quantidade da biomassa da parte aérea das duas cultivares da cana-de-açúcar.

REFERENCIAS

- Adrees, Muhammad et al. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 119: 186-197.
- Ahmad, P., Abass, M., Alam, P., Nasser, M., Wijaya, L., Ali, S., Ashraf, M., (2019). Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] through the modifications of physio-biochemical attributes and key antioxidant enzymes. **J. Plant Growth Regul** 38: 70–82.
- Alsaeedi, A., El-Ramady, H., Alshaal, T., El-Garawani, M., Elhawat, N., Al-Otaibi, A., (2018). Exogenous nanosilica improves germination and growth of cucumber by maintaining K⁺/Na⁺ ratio under elevated Na⁺ stress. **Plant Physiol. Biochem** 125: 164–171.
- Alzahrani, Y., Kuşvuran, A., et al. (2018). The defensive role of silicon in wheat against stress conditions induced by drought, salinity or cadmium. **Ecotoxicol. Environ. Saf** 154: 187–196.
- Arunakumara, K. K. I. U., Walpola, B. C., YOON, M. (2013) Aluminum toxicity and tolerance mechanism in cereals and legumes—a review. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry** 56: 1-9.
- Ashraf, M., Afzal, M., et al. (2010). Alleviation of detrimental effects of NaCl by silicon nutrition in salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Plant Soil** 326: 381–391.
- Assovale (2016). **Associação Rural Vale do Rio Pardo**. Variedade de cana que produzem adaptadas ao cerrado brasileiro.
- Barbosa, J. C.; Maldonado Jr, W. (2015) **AgroEstat-Sistema para Análises Estatísticas de**.
- Barceló, J., Poschenrieder, C. (2002). Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: A review. **Environ. Exp. Bot.**
- Bataglia, O.C., Teixeira, J.P.F., Furlani, P.R., Furlani, A.M.C., Gallo, J.R. (1983). **Métodos de análise química de plantas**, 1st ed. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas.
- Bian, M., Zhou, M., Sun, D. et al., (2013) Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal** 1: 91-104
- Calero Hurtado, A., Chiconato, D.A., Prado, R. de M., Sousa Junior, G. da S., Gratão, P.L., Felisberto, G., Olivera Vicedo, D., Mathias dos Santos, D.M., (2020). Different methods of silicon application attenuate salt stress in sorghum and

sunflower by modifying the antioxidative defense mechanism. **Ecotoxicol. Environ. Saf** 203: 110964

Calero, A., Aparecida, D., Prado, R., Sousa Junior, G., Felisberto, G., (2019). Silicon attenuates sodium toxicity by improving nutritional efficiency in sorghum and sunflower plants. **Plant Physiol. Biochem.** 142: 224–233.

Castanho, R. B., Souto, T. S. (2014). A importância da orizicultura na constituição do espaço geográfico: evolução e dinâmica da produção de arroz no período de 1930 a 2010 em Ituiutaba (Minas Gerais-MG, Brasil) e a inserção de novas culturas. **Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía**, 23: 93-107.

Castro, P. R. C. **Fisiologia aplicada à cana-de-açúcar**: STAB, 2016. p. 19-29.

Clark, R.B., (1975). Characterization of Phosphatase of Intact Maize Roots. **J. Agric. Food Chem** 23: 458–460.

Cocker, K. M., Evans, D. E., Hodson, M. J. (1998). The amelioration of aluminium toxicity by silicon in wheat (*Triticum aestivum* L.): malate exudation as evidence for an in planta mechanism. **Planta** 204: 318-323.

Corrales, I., Poschenrieder, C., Barceló, J., (1997). Influence of silicon pretreatment on aluminium toxicity in maize roots. **Plant Soil** 190: 203–209.

Deshmukh, P., Unni, S., Krishnappa, G., Padmanabhan, B. (2017). The Keap1–Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. **Biophysical reviews** 9: 41-56.

Dorneles, A. O. S., Pereira, A. S., Rossato, L. V., Possebom, G., Sasso, V. M., Bernardy, K., Tabaldi, L. A. (2016). Silicon reduces aluminum content in tissues and ameliorates its toxic effects on potato plant growth. **Ciência Rural** 46: 506-512.

Emamverdian, A., Ding, Y., Xie, Y., Sangari, S., (2018). Silicon mechanisms to ameliorate heavy metal stress in plants. **Biomed Res.**

Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., & Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. **The Scientific World Journal.**

Epstein, E. (1999). Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Mol. Biol** 50: 641–664.

Etesami, H., & Jeong, B. R. (2018). Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. **Ecotoxicology and environmental safety** 147: 881-896.

Freitas, L.B., Fernandes, D.M., Maia, S.C.M., Fernandes, A.M., (2017). Effects of silicon on aluminum toxicity in upland rice plants. **Plant Soil** 420: 263–275.

Freitas, L. B. D., Fernandes, D. M., & Maia, S. C. M. (2015). Silicon on the mineral nutrition and aluminum accumulation in upland rice plants. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 45: 440-448.

Geraldo Oliveira, E., Miziara, F., Ferreira, M.E., (2014). Fatores determinantes e cenários futuros sobre a expansão da cana-de-açúcar na região de Cerrado no Centro-Oeste mineiro. **Ateliê Geográfico** 9, 3.

Hodson, M. J., Evans, D. E. (2020). Aluminium–silicon interactions in higher plants: an update. **Journal of Experimental Botany**.

Kochian, L. V., Hoekenga, O.A., Pineros, M. A. (2004) How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annu. Rev. Plant Biol** 55: 459-493.

Kostic, L., Nikolic, N., Bosnic, D., Samardzic, J., & Nikolic, M. (2017). Silicon increases phosphorus (P) uptake by wheat under low P acid soil conditions. **Plant and Soil** 419: 447-455.

Kumar, S., Milstein, Y., Bami, Y., Elbaum, M., Elbaum, R., (2017). Mechanism of silica deposition in sorghum silica cells. **New Phytol.** 213: 791–798.

Liang, Y., Yang, C., & Shi, H. (2001). Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminum. **Journal of Plant Nutrition** 24: 229-243.

Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y. G., & Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental pollution** 147: 422-428.

Liang, C., Piñeros, M. A., et al. (2013). Low pH, aluminum, and phosphorus coordinately regulate malate exudation through GmALMT1 to improve soybean adaptation to acid soils. **Plant Physiology** 161:1347-1361.

Ma, J.F., Yamaji, N., (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Sci.** 11: 392–397.

Mendonça, A. O., Tavares, L. C., Brunes, A. P., Monzón, D. L. R., Villela, F. A. (2013). Acúmulo de silício e compostos fenólicos na parte aérea de plantas de trigo após a adubação silicatada. **Bioscience Journal**, 29.

Moreira-Vilar, F. C., de Cássia S. R., et al. (2014). The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid methods. **PloS one** 9: 110000.

Panda, S. K., & Baluška, F. (Eds.). (2015). *Aluminum stress adaptation in plants. Switzerland: Springer International Publishing.*

- Pontigo, S., Godoy, K., Jiménez, H., Gutiérrez-Moraga, A., Mora, M. D. L. L., Cartes, P. (2017). Silicon-mediated alleviation of aluminum toxicity by modulation of Al/Si uptake and antioxidant performance in ryegrass plants. **Frontiers in Plant Science** 8: 642.
- Qian, L., Shang, X., et al. (2019). Enhanced removal of Cr (VI) by silicon rich biochar-supported nanoscale zero-valent iron. **Chemosphere** 215: 739-745.
- Rahman, M., Lee, S. H., Ji, H. C., Kabir, A. H., Jones, C. S., Lee, K. W. (2018). Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: current status and opportunities. **International journal of molecular sciences** 19: 3073.
- Ribera-Fonseca, A., Rumpel, C., Mora, M. de la L., Nikolic, M., Cartes, P., (2018). Sodium silicate and calcium silicate differentially affect silicon and aluminium uptake, antioxidant performance and phenolics metabolism of ryegrass in an acid Andisol. **Crop Pasture Sci** 69: 205.
- Rincón, M., & Gonzales, R. A. (1992). Aluminum partitioning in intact roots of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Plant Physiology** 99: 1021-1028.
- Sade, H., Meriga, B., Surapu, V., Gadi, J., Sunita, M. S. L., Suravajhala, P., & Kishor, P. K. (2016). Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. **Biometals** 29: 87-210
- Sasaki, M., Yamamoto, Y., & Matsumoto, H. (1996). Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots. **Physiologia Plantarum** 96: 193-198.
- Schoelynck, J., Bal, K., Backx, H., Okruszko, T., Meire, P., Struyf, E., (2010). Silica uptake in aquatic and wetland macrophytes: A strategic choice between silica, lignin and cellulose? **New Phytol.** 186: 385–391.
- Sheng, H., Chen, S., 2020. Plant silicon-cell wall complexes: Identification, model of covalent bond formation and biofunction. **Plant Physiol. Biochem.** 155: 13–19.
- Siddiqi, M. Y.; Glass, A. D. (1981). Utilization index: a modified phosphorous nutrition of eight forms of two clover species: *Trifolium ambiguum* and *T. repens*. **J Plant Nutr** 4: 289-302.
- Silva, R.G. da, Rosa-Santos, T.M., França, S. de C., Kottapalli, P., Kottapalli, K.R., Zingaretti, S.M., (2019). Microtranscriptome analysis of sugarcane cultivars in response to aluminum stress. **PLoS One** 14: e0217806.
- Silva, S. (2012). Aluminium toxicity targets in plants. **Journal of Botany**.

- Singh, V. P., Tripathi, D. K., Kumar, D., & Chauhan, D. K. (2011). Influence of exogenous silicon addition on aluminium tolerance in rice seedlings. **Biological Trace Element Research** 144: 1260-1274.
- Singh, S., Tripathi, D. K., Singh, S., Sharma, S., Dubey, N. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. **Environmental and Experimental Botany** 137: 177-193.
- Suzuki, S., Ma, J. F., Yamamoto, N., Hattori, T., Sakamoto, M., & Umezawa, T. (2012). Silicon deficiency promotes lignin accumulation in rice. **Plant Biotechnology** 29: 391-394.
- Sousa, A. de, Saleh, A.M., Habeeb, T.H., Hassan, Y.M., Zrieq, R., Wadaan, M.A.M., Hozzein, W.N., Selim, S., Matos, M., AbdElgawad, H., (2019). Silicon dioxide nanoparticles ameliorate the phytotoxic hazards of aluminum in maize grown on acidic soil. **Sci. Total Environ.** 693: 133636.
- Vaculík, M., Lukačová, Z., Bokor, B., Martinka, M., Tripathi, D.K., Lux, A., (2020). Alleviation mechanisms of metal(loid) stress in plants by silicon: a review. **J. Exp. Bot.**
- Vega, I., Nikolic, M., Pontigo, S., Godoy, K., Mora, M. de L.L., Cartes, P., (2019). Silicon improves the production of high antioxidant or structural phenolic compounds in barley cultivars under aluminum stress. **Agronomy** 9: 388.
- Vega, I., Rumpel, C., Ruíz, A., Mora, M. de la L., Calderini, D.F., Cartes, P., (2020). Silicon modulates the production and composition of phenols in barley under aluminum stress. **Agronomy** 10: 1138.
- Wang, C., Wood, F.A., (1973). A modified aluminon reagent for the determination of Aluminum after HNO₃-H₂SO₄ digestion. **Can. J. Soil Sci.** 53: 237-239.
- WANG, Y.X.; STASS, A.; HORST, W.J. (2004). Apoplastic binding of aluminum is involved in silicon-induced amelioration of aluminum toxicity in maize. **Plant Physiology** 136: 3762-3770.
- Zhu, Y., Gong, H. (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agron. Sustain.** 34: 455-472.