

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 16/12/2021.

OSVALDIR FELICIANO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO FOLIAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM PLANTAS DE RABANETE E
SEU POTENCIAL NA TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Botucatu

2020

OSVALDIR FELICIANO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO FOLIAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM PLANTAS DE RABANETE E
SEU POTENCIAL NA TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Tese de Doutorado, apresentada à
Faculdade de Ciências Agronômicas da
Unesp Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Irrigação e Drenagem)

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Botucatu

2020

S237a Santos, Osvaldir Feliciano dos
Aplicação foliar de ácido ascórbico em plantas de rabanete e seu potencial na tolerância à deficiência hídrica / Osvaldir Feliciano dos Santos. -- Botucatu, 2020
93 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Fernando Broetto

1. Estresse hídrico. 2. Produção Vegetal. 3. *Raphanus sativus*. 4. Vitamina C. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: APLICAÇÃO FOLIAR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM PLANTAS DE RABANETE E SEU POTENCIAL NA TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

AUTOR: OSVALDIR FELICIANO DOS SANTOS

ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:



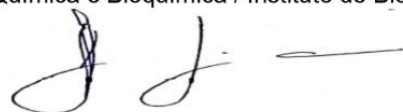
Prof. Dr. FERNANDO BROETTO (Participação Virtual)
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. EDILSON RAMOS GOMES (Participação Virtual)
Engenharia Agrônoma / Faculdades Integradas de Bauru - FIB



Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI (Participação Virtual)
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. SEBASTIÃO FERREIRA DE LIMA (Participação Virtual)
Agronomia / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Dr. MARCELO LEONARDO (Participação Virtual)
Casa da Agricultura / Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI

Botucatu, 16 de dezembro de 2020

Aos meus pais, Maria Aparecida Feliciano e Valdir Moreira dos Santos pelo
incentivo e apoio nas minhas decisões.

A minha irmã, Valdirene Feliciano dos Santos, pelo companheirismo e
amizade.

A minha namorada Josiana Jussara Nazaré Basílio, pelo companheirismo,
paciência e pelo incentivo em minhas decisões.

Ao meu Orientador, Fernando Broetto, pela oportunidade e auxílio em todos os
aspectos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas – Campus de Botucatu pela oportunidade da realização do curso de Doutorado.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Fernando Broetto, pela convivência diária e por toda orientação, confiança, paciência, oportunidades, incentivos e conselhos que me foram dados durante a pós-graduação.

Aos meus pais Maria Aparecida Feliciano e Valdir Moreira dos Santos a minha irmã Valdirene Feliciano dos Santos e a Josiana Jussara Nazaré Basílio que sempre me deram apoio, incentivo e confiança.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação, pelo conhecimento transmitido.

Aos amigos do laboratório, Fernando, Ícaro, Mara, Dariane, Tamires, Henrique, Luz Maria, João, Alessandro, Irineu, agradeço muito pela amizade e por todo o auxílio na execução do experimento e nos bons momentos de convivência.

A Rafaela Maria Vizenzzotto (Revista Irriga), por sempre estar me auxiliando seja no esclarecimento de dúvidas, ou quando necessário algum tipo de documentação em todo âmbito acadêmico.

Ao técnico de campo Gilberto do Departamento de Irrigação e Drenagem, pelo auxílio na execução do experimento.

Aos colegas de pós-graduação pela parceria, dentro e fora de sala de aula.

A todos os amigos da República Ratoeira, Renato, Fernando, Luiz, Charles, Irineu, Willian, Vitor, Bahia, pelos longos 3 anos de convivência, muitas risadas e momentos bons.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

RESUMO

O aumento da demanda de hortaliças no mundo, é recorrente aos elevados teores de nutrientes e minerais que tais plantas possuem. Neste aspecto o rabanete se destaca devido a suas diversas propriedades nutracêuticas, além de bons teores de vitaminas. Assim como outras hortaliças, possui grande suscetibilidade a deficiência hídrica (DH), o qual impacta negativamente sobre seu rendimento. A aplicação exógena de vitaminas pode tornar-se possível alternativa na atenuação deste estresse, em decorrência de sua ação indireta em diversos componentes da planta. O objetivo dos experimentos foi determinar efeitos fisiológicos, bioquímicos, biométricos e nutricionais da DH e a influência do ácido ascórbico (AsA) na mitigação desses efeitos em plantas de rabanete cultivadas em ambiente protegido. Os ensaios foram conduzidos em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, adotando-se duas tensões de água no solo (10 e 30 kPa) e, nas subparcelas, cinco doses de ácido ascórbico (0, 250, 500, 750 e 1000 ppm). Em outro experimento complementar, aplicou-se duas tensões de água no solo de (10 e 20 kPa) e nas subparcelas quatro períodos de aplicação de AsA na dosagem de 1000 ppm (controle, 3, 6 e 9 dias), com quatro repetições. Verificou-se que a DH alterou todos os padrões de parâmetros morfológicos, bioquímicos, fisiológicos e nutricionais das plantas. Independentemente do fator hídrico, houve maior incremento das variáveis quando as plantas foram tratadas com 1000 ppm de AsA. A maximização da eficácia desta dosagem em plantas submetidas ao DH foi registrada em frequências de aplicações a cada 9 dias. Pode-se concluir que a aplicação de AsA apresenta potencial para mitigar o impacto da DH em plantas de rabanete além de proporcionar maior rendimento da cultura, mesmo em ambientes com boa disponibilidade hídrica.

Palavras-chave: Estresse hídrico. Produção vegetal. *Raphanus sativus*. Vitamina C.

ABSTRACT

The increase in the demand for vegetables in the world is recurrent to the high levels of nutrients and minerals that such plants have. In this respect, the radish stands out due to its various nutraceutical properties, in addition to good levels of vitamins. Like other vegetables, it is highly susceptible to water deficiency (DH), which negatively impacts its yield. The exogenous application of vitamins may become a possible alternative to alleviate this stress, due to its indirect action on several components of the plant. The purpose of the experiments was to determine the physiological, biochemical, biometric and nutritional effects of DH and the influence of ascorbic acid (AsA) in mitigating these effects in radish plants grown in a protected environment. The tests were carried out in randomized blocks in a split plot scheme, adopting two water tensions in the soil (10 and 30 kPa) and, in the subplots, five doses of ascorbic acid (0, 250, 500, 750 and 1000 ppm). In another complementary experiment, two water tensions were applied to the soil of (10 and 20 kPa) and in the subplots four periods of application of AsA at 1000 ppm (control, 3, 6 and 9 days), with four repetitions. It was found that DH altered all patterns of morphological, biochemical, physiological and nutritional parameters of plants. Regardless of the water factor, there was a greater increase in variables when the plants were treated with 1000 ppm AsA. The maximization of the effectiveness of this dosage in plants submitted to DH was registered in frequency of applications every 9 days. It can be concluded that the application of AsA has the potential to mitigate the impact of DH on radish plants in addition to providing greater crop yield, even in environments with good water availability.

Keywords: Water stress. Plant production. *Raphanus sativus*. Vitamin C.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - ÁCIDO ASCÓRBICO, UMA ALTERNATIVA PARA MINIMIZAR OS EFEITOS DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM RABANETE	18
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	20
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
1.4 CONCLUSÕES.....	26
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2 – APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ASCÓRBICO E MITIGAÇÃO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE RABANETE ..	30
2.1 INTRODUÇÃO.....	32
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.3 RESULTADOS	37
2.4 DISCUSSÃO.....	49
2.5 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
CAPÍTULO 3 - INTERVALOS DE APLICAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO REDUZ EFEITOS DELETÉRIOS DO DÉFICE HÍDRICO EM PLANTAS DE RABANETE	57
3.1 INTRODUÇÃO.....	60
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	61
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.4 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS	91

INTRODUÇÃO GERAL

O consumo de hortaliças tem aumentado em nível mundial, considerando-se seu potencial nutritivo (SHAHBAZ et al., 2012). O rabanete (*Raphanus sativus* L.) possui destaque neste cenário por apresentar bons teores de vitaminas do complexo B, C e A e nutrientes como magnésio, fósforo, cálcio, potássio, sódio e ferro (GOYENECHÉ et al., 2015). Seu consumo ocorre em vários países, principalmente na região asiática, sendo este, consumido na forma de saladas (KIM; CHAE; PARK, 2013), além deste, o rabanete tem sido utilizado como uma planta medicinal (VIJAYARENGAN, 2012). O rabanete é uma hortaliça sensível à disponibilidade hídrica, tornando-a susceptível aos fatores deletérios que o DH pode ocasionar (SILVA et al., 2015). Entre esses fatores, destacam-se aspectos comercialmente negativos, como a rachadura da raiz, alterações na dimensão e palatabilidade.

O estresse hídrico é um dos principais precursores da redução na produtividade agrícola, afetando diretamente importantes culturas (ZADRAŽNIK et al., 2013). Isto, porque, a água é o constituinte principal das plantas e está diretamente relacionada a todos seus processos metabólicos. Logo, sua baixa disponibilidade influencia diretamente no crescimento e, conseqüentemente, na produtividade das plantas (OZTURK et al., 2002).

Dentre os principais efeitos deletérios da deficiência hídrica (DH) sobre as plantas, destaca-se a redução do potencial hídrico foliar, redução da taxa fotossintética e a abscisão foliar, dentre outras (FERRARI; PAZ; CARVALHO, 2015). Estes autores ainda relatam uma série de alterações no metabolismo, na morfologia e fisiologia da planta, cuja função é a de se adaptar ao ambiente adverso.

A resposta das plantas frente ao estresse hídrico é variada podendo estar associada a alterações morfológicas, bioquímicas, fisiológicas e moleculares (CLAVEL et al., 2005). Estas alterações permitem com que as plantas possam tolerar, adiar ou evitar os efeitos do estresse, embora muitas vezes não sejam suficientes para minimizar os efeitos da redução da disponibilidade de água (RAMALHO et al., 2014).

O efeito tóxico produzido pela deficiência hídrica é resultante da elevada produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que acabam culminando em estresse oxidativo na planta (ARORA; SAIRAM; SRIVASTAVA, 2002). O fato de serem extremamente reativas, ou seja, poderem interagir com vários metabólitos e

moléculas celulares, podem levar a planta a atingir disfunção metabólica irreparável com sua possível morte (ALAM et al., 2013).

Os mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Sistema de resposta antioxidativa) permitem com que as plantas controlem a produção de EROs através da sua dismutação (ASHRAF, 2009). Dentre os principais antioxidantes enzimáticos destaca-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e peroxidase (POD) (MITTLER, 2002). Além destes, o autor ainda relata que os tocoferóis e o ácido ascórbico (AsA) são os principais antioxidantes não enzimáticos explorados pelas plantas em condições de estresse.

O ácido ascórbico (AsA) e ascorbato-glutationa desempenham papel importante na desintoxicação de EROs além da modulação de outras funções fundamentais na planta em condições de estresse (AKRAM; SHAFIQ; ASHRAF, 2017). Isto ocorre porque eles são capazes de eliminar EROs de forma direta ou atuando como cofatores em reações enzimáticas, envolvendo enzimas como o ascorbato peroxidase e glutathione redutase (LASPINA et al., 2005).

A participação das vitaminas de forma indireta no desenvolvimento da planta, tem despertado atenção por parte de pesquisadores, onde relata-se aumento de forma endógena de giberelinas e citocininas, além de incremento no desenvolvimento da planta, (EL-BAZ et al., 2016). Nota-se também que a variação de sua disponibilidade está associada a absorção de nutrientes, biossíntese de hormônios, além da síntese de clorofila e proteínas (JAMIL et al., 2015; KHAN; MAZID; MOHAMMAD, 2012).

A utilização de vitaminas como alternativa para minimizar o estresse oxidativo tornar-se interessante, devido a suas características antioxidantes (AL-WASFY, 2013; MCCUE et al., 2000), como é o caso do AsA. Além desse, a utilização de determinados nutrientes essenciais, osmoprotetores, antioxidantes, reguladores de crescimento e outros aminoácidos podem ser considerados para essas práticas (ASHRAF et al., 2011; SHAFIQ et al., 2014).

Oleráceas em geral, são espécies que apresentam elevada sensibilidade a deficiência hídrica. Assim, práticas agrícolas que visem induzir a tolerância a esses fatores, são importantes para garantir a produção de boa qualidade. Apesar de alguns autores relatarem a eficácia do ácido ascórbico em minimizar os efeitos deletérios do DH em grandes culturas, são escassas as informações quanto a sua eficácia em olerícolas. A análise de variáveis bioquímicas, fisiológicos e nutricionais podem

elucidar possíveis mecanismos de atuação do AsA nas plantas, para compreender a tolerância ao estresse.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi determinar se aplicações exógenas de AsA podem induzir respostas fisiológicas, bioquímicas e nutricionais em plantas de rabanete, submetidas ao déficit hídrico. Nos experimentos, serão estudados os efeitos combinados de dosagens e intervalos de aplicação da vitamina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nos resultados dos experimentos realizados, pode-se afirmar que o rabanete é susceptível aos efeitos deletérios provocados pela deficiência hídrica, sendo que, nos experimentos este estresse provocou diversos distúrbios, seja nos parâmetros fotossintéticos, bioquímicos, biométricos e nutricionais.

A aplicação de ácido ascórbico proporcionou influência sobre os parâmetros analisados, independente da lâmina de água utilizada. Sendo que, em condições hídricas favoráveis (capacidade de campo) o ácido ascórbico apresentou maior eficácia.

Recomenda-se a utilização de dosagens de 1000 ppm de ácido ascórbico independente do regime hídrico adotado, pois este é capaz de proporcionar maiores acúmulos de massa fresca radicular do rabanete. Quanto ao intervalo de aplicação, é recomendável uma aplicação a cada 9 dias até a finalização do ciclo da cultura.

REFERÊNCIAS

- AKRAM, N. A.; SHAFIQ, F.; ASHRAF, M. Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. April, 2017.
- AL- WASFY, M. M. Response of Sakkoti Date Palms to Foliar Application of Royal Jelly, Silicon and Vitamins B. **Journal of American Science**, New York, v. 9, n. 5, p. 315–321, 2013. Disponível em: <dx.doi.org/10.7537/marsjas090513.39>
- ALAM, M. M.; HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Exogenous salicylic acid ameliorates short-term drought stress in mustard (*Brassica juncea* L.) seedlings by up-regulating the antioxidant defense and glyoxalase system. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 7, n. 7, p. 1053–1063, 2013.
- ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science**, New York, v. 82, n. 10, p. 1227–1238, 2002.
- ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Biotechnology Advances**, New York, v. 27, n. 1, p. 84–93, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>>
- ASHRAF, M.; AKRAM, N. A.; AL-QURAINY, F.; FOOLAD, M. R. **Drought Tolerance. Roles of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients**. 1. ed. Amsterdam-Duivendrecht : Elsevier Inc., 2011. v. 111 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-387689-8.00002-3>>
- CLAVEL, D.; DRAME, N. K.; ROY-MACAULEY, H.; BRACONNIER, S.; LAFFRAY, D. Analysis of early responses to drought associated with field drought adaptation in four Sahelian groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 219–230, 2005.
- EL-BAZ, E. E. T.; ARAFAT, L. A.; IBRAHIUM, E. G.; EL-DEEB, M. R. I. Effect of Cobalt and some Vitamins as Foliar Application Treatments on Productivity and Quality of Williams Banana Cultivar. **Journal of Plant Production**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 777–786, 2016.
- FERRARI, E.; PAZ, A.; CARVALHO, A. Déficit Hídrico No Metabolismo Da Soja Em Semeaduras Antecipadas No Mato Grosso. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, Sinop, v. 3, n. 1, p. 67–77, 2015.
- GOYENECHÉ, R.; ROURA, S.; PONCE, A.; VEGA-GÁLVEZ, A.; QUISPE-FUENTES, I.; URIBE, E.; DI SCALA, K. Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 16, p. 256–264, 2015.
- JAMIL, S.; ALI, Q.; IQBAL, M.; JAVED, M. T.; IFTIKHAR, W.; SHAHZAD, F.; PERVEEN, R. Modulations in plant water relations and tissue-specific osmoregulation by foliar-applied ascorbic acid and the induction of salt tolerance in maize plants. **Revista Brasileira de Botanica**, Heidelberg, v. 38, n. 3, p. 527–538,

2015.

KHAN, T.; MAZID, M.; MOHAMMAD, F. A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. **Journal of Agrobiology**, Ceske Budejovice, v. 28, n. 2, p. 97–111, 2012.

KIM, S. J.; CHAE, S. C.; PARK, S. U. Glucosinolate accumulation in three important radish (*Raphanus sativus*) cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 7, n. 12, p. 1843–1847, 2013.

LASPINA, N. V.; GROPPA, M. D.; TOMARO, M. L.; BENAVIDES, M. P. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. **Plant Science**, Amsterdam, v. 169, n. 2, p. 323–330, 2005.

MCCUE, P.; ZHENG, Z.; PINKHAM, J. L.; SHETTY, K. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Process Biochemistry**, London, v. 35, n. 6, p. 603–613, 2000.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

OZTURK, Z. N.; TALAMÉ, V.; DEYHOLOS, M.; MICHALOWSKI, C. B.; GALBRAITH, D. W.; GOZUKIRMIZI, N.; TUBEROSA, R.; BOHNERT, H. J. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 48, n. 5–6, p. 551–573, 2002.

RAMALHO, J. C.; ZLATEV, Z. S.; LEITÃO, A. E.; PAIS, I. P.; FORTUNATO, A. S.; LIDON, F. C. Moderate water stress causes different stomatal and non-stomatal changes in the photosynthetic functioning of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes. **Plant Biology**, Chichester, v. 16, n. 1, p. 133–146, 2014.

SHAFIQ, S.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M.; ARSHAD, A. Synergistic effects of drought and ascorbic acid on growth, mineral nutrients and oxidative defense system in canola (*Brassica napus* L.) plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 36, n. 6, p. 1539–1553, 2014.

SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M.; AL-QURAINY, F.; HARRIS, P. J. C. Salt Tolerance in Selected Vegetable Crops. **Critical Reviews in Plant Sciences**, New York, v. 31, n. 4, p. 303–320, 2012.

SILVA, A. O.; SILVA, Ê. F. F.; BASSOI, L. H.; KLAR, A. E. Desenvolvimento de cultivares de beterraba sob diferentes tensões da água no solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 12–18, 2015.

VIJAYARENGAN, P. Growth and biochemical variations in radish under zinc applications. **International Journal of Plant Research**, Rosemead, v. 2, n. 3, p. 43–49, 2012.

ZADRAŽNIK, T.; HOLLUNG, K.; EGGE-JACOBSEN, W.; MEGLIČ, V.; ŠUŠTAR-VOZLIČ, J. Differential proteomic analysis of drought stress response in leaves of

common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Proteomics**, Amsterdam, v. 78, p. 254–272, 2013.