

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR E DE CANA-
ENERGIA À APLICAÇÃO DE MANGANÊS COM SILÍCIO VIA
RADICULAR E FOLIAR**

Kamilla Silva Oliveira
Engenheira agrônoma

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR E DE CANA-
ENERGIA À APLICAÇÃO DE MANGANÊS COM SILÍCIO VIA
RADICULAR E FOLIAR**

Kamilla Silva Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Coorientadora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

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

Oliveira, Kamilla Silva

O48r Respostas de cana-de-açúcar e de cana-energia à aplicação de manganês com silício via radicular e foliar / Kamilla Silva Oliveira. -- Jaboticabal, 2022
127 p. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Renato de Mello Prado

Coorientadora: Priscila Lupino Gratão

1. Deficiência nutricional. 2. Fotossíntese. 3. Metabolismo oxidativo.
4. Saccharum officinarum L.. 5. Saccharum spontaneum L.. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: RESPOSTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR E DE CANA-ENERGIA À APLICAÇÃO DE MANGANÊS COM SILÍCIO VIA RADICULAR E FOLIAR

AUTORA: KAMILA SILVA OLIVEIRA

ORIENTADOR: RENATO DE MELLO PRADO

COORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:

X Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

Pesquisador Dr. ESTEVÃO VICARI MELLIS (Participação Virtual)
Instituto Agronômico de Campinas (IAC) / Campinas/SP

Prof. Dr. FÁBIO LUIZ CHECCHIO MINGOTTE (Participação Virtual)
Colégio Técnico Agrícola - CTA / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. CID NAUDI SILVA CAMPOS (Participação Virtual)
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS / Chapadão do Sul/MS

Prof. Dr. ARTHUR BERNARDES CECILIO FILHO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 13 de abril de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

KAMILLA SILVA OLIVEIRA, nascida em Imperatriz – MA, Brasil, em 24 de maio de 1992, filha de Marlene Rodrigues da Silva e Joseilson Almeida de Oliveira. Possui título de Engenheira Agrônoma (2017) pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, câmpus Araguatins. Nesta instituição foi voluntária em pesquisa científica (2011 a 2016) e bolsista de iniciação científica (2013 a 2016), onde realizou trabalhos nas áreas de nutrição de plantas, fertilidade do solo e sensoriamento remoto e, ainda, programas de docência, sendo monitora de bioquímica. Foi bolsista de Graduação Sanduíche em Toulouse, França, no período de setembro de 2012 a setembro de 2013 onde cursou dois semestres do curso de Agronomia na École Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (INP-ENSAT) e foi estagiária por um mês no Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) na área de Fitopatologia acompanhando pesquisa dentro do Laboratoire Interactions Plantes Microorganismes (LIPM) e pesquisa na área de produção vegetal. Em agosto de 2017 ingressou no curso de pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Jaboticabal - SP em nível de mestrado. Durante o mestrado realizou estágio em docência na disciplina de nutrição de plantas do curso de graduação em Agronomia da Unesp de Jaboticabal, coorientou estudantes e publicou capítulo de livro. Em março de 2019 obteve o título de mestre em Agronomia (Ciência do Solo) sob orientação do Prof. Dr. Renato de Mello Prado com dissertação intitulada “Pulverização foliar de manganês com adição de silício é viável para plantas de milho e de sorgo”. Em março de 2019 ingressou no programa de pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo) em nível de doutorado na mesma instituição, onde publicou artigos científicos, capítulo de livro, coorientou estudantes de Agronomia, participou de bancas de defesa de trabalho de conclusão de curso de estudantes de Agronomia e realizou mais um estágio em docência em nutrição de plantas. Desde 2017 compõe o Grupo de Estudos em Nutrição de Plantas da Unesp (GENPLANT).

“Mas como está escrito: o que Deus preparou para os que o amam é algo que os olhos jamais viram, nem os ouvidos ouviram, nem coração algum jamais pressentiu.”

1 Coríntios 2:9

À minha família, minha mãe Marlene Rodrigues da Silva pelo exemplo diário de generosidade, amor e humildade. Ao meu paiho (*in memoriam*) Joseilson Almeida de Oliveira por me ensinar o caminho da fé e da alegria e ser exemplo de vida em Deus. Às minhas irmãs Kananda e Karoline, pela alegria e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Deus, Aquele que sempre me deu forças, por meio de seus ensinamentos. Pelo Seu agir em minha vida, por ser o alicerce que nunca me deixou cair apesar dos desafios, por ser meu refúgio a qualquer momento.

À minha família, por ser a melhor família que eu poderia ter. Exemplo de união, amor, alegria e fé. À minha mãe Marlene Rodrigues da Silva e meu pai Joseilson Almeida de Oliveira (*in memoriam*) por me ensinarem todos os valores e princípios que fizeram ser o que sou hoje. Por nunca medirem esforços e apoiarem cada passo do meu caminho para que eu pudesse realizar o que me dispusesse a fazer, mesmo que isso indicasse sacrifícios. Por me ensinarem o valor da busca pelo melhor, mas sem perder a humildade e o amor.

Às minhas irmãs Kananda Silva Oliveira e Karoline Silva Oliveira, que apesar de toda dificuldade que já enfrentamos por não estarmos sempre juntas, são parte de mim com os galhos de uma árvore. Agradeço a união que sempre tivemos e ajuda em todos os momentos, inclusive nos meus experimentos.

Ao meu amor, Leandro Guimarães Maranha, por ser tão companheiro, compreensivo e dar-me forças em todos os momentos de dificuldade, pelo amor e carinho desde a época da graduação e incentivo. Por ter partilhado sua vida comigo, e por estar presente em todos os momentos, sejam bons ou ruins.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato de Mello Prado, pela confiança, disponibilidade, paciência, e, por todos os ensinamentos repassados de forma tão humilde e valiosa para meu crescimento durante o período do mestrado e doutorado. Sem sua disponibilidade em ensinar e generosidade, talvez não teria alcançado tamanho crescimento profissional. Meu profundo agradecimento pela sua orientação e saiba que sua conduta profissional espelha muitos de seus orientandos, eu sou uma delas.

À minha coorientadora Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão, pelo acompanhamento, disponibilidade e conhecimento passado durante todo meu doutorado.

À Unesp Jaboticabal, pelo acolhimento e por proporcionar momentos de crescimento e evolução pessoal e profissional.

A todos os professores que contribuíram de alguma forma a minha formação no mestrado e doutorado, Dr. Arthur Bernardes, Dra. Mara Cristina, Dr. Pedro Luís, Dr. José Carlos Barbosa, Dra. Durvalina Mathias, Dr. Glauco, Dr. Jairo, Dr. Manoel Evaristo, Dr. Wanderley e Dr. Rinaldo por favorecerem meu crescimento na profissão, cedendo ensinamentos valiosos sobre Agronomia nos mais variados campos.

Aos meus companheiros do grupo GENPLANT da Unesp, Marcilene dos Santos, Gelza Carliane, Guilherme Felisberto, Rafael Barreto, Victor Guedes, José Lucas, Ian, Dalila, Antônio Buchelt, Jonas Pereira, Alexander, Dilier, Milton, Mariana, Luis, Lívia, Carol, Márcia, os quais dividiram aprendizados e descobertas de suas pesquisas para benefício e desenvolvimento de todos.

Aos amigos que pude conhecer na Unesp em Jaboticabal além do grupo de pesquisa, Bruno Souza, Sabrina Nascimento, Isaías dos Santos, Diego Sodré, Antônio Márcio, Paula, Jonathan, Laura, e todos que fizeram os dias serem mais descontraídos e leves.

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

Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1 Introdução.....	1
2 Revisão de literatura.....	4
2.1 Produção de cana-de-açúcar e de cana-energia.....	4
2.2 Funções do manganês nas plantas.....	6
2.3 Nutrição com manganês em cana-de-açúcar e cana-energia.....	9
2.4 Efeitos da deficiência de manganês em cana-de-açúcar e cana-energia.....	12
2.5 Silício como atenuador dos efeitos da deficiência de micronutrientes e potencializador da nutrição nas plantas	16
3 Referências.....	20
CAPÍTULO 2 - SILÍCIO VIA SOLUÇÃO NUTRITIVA MODULA SISTEMA ANTIOXIDANTE DA CANA-DE-AÇÚCAR E DA CANA-ENERGIA DEFICIENTES E SUFICIENTES EM MANGANÊS	32
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	33
1 Introdução.....	34
2 Material e métodos.....	37
2.1 Condições de instalação e crescimento vegetal.....	37
2.2 Delineamento experimental e tratamentos	37
2.3 Análises	38
2.3.1 Acúmulo de Mn e Si e eficiência de uso de Mn	38
2.3.2 Peroxidação lipídica (MDA)	39
2.3.3 Extração de proteína	39

2.3.4 Atividade da superóxido dismutase (SOD)	40
2.3.5 Atividade da guaiacol peroxidase (GPOX)	40
2.3.6 Teor de fenóis totais	40
2.3.7 Clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> e carotenoides.....	40
2.3.8 Eficiência quântica do FSII	41
2.3.9 Crescimento	41
2.4 Análise estatística	41
3 Resultados.....	42
4 Discussão	50
5 Conclusão.....	57
6 Referências.....	58
CAPÍTULO 3 - INTERAÇÃO SILÍCIO E MANGANÊS EM ASPECTOS	
NUTRICIONAIS E FISIOLÓGICOS DA CANA-ENERGIA COM ALTO TEOR DE	
FIBRA	66
RESUMO.....	66
ABSTRACT.....	67
1 Introdução.....	68
2 Material e métodos.....	71
2.1 Instalação do experimento	71
2.2 Análises.....	72
2.2.1 Acúmulo de Mn e Si, eficiência de absorção de Mn	72
2.2.2 Determinação do teor de H ₂ O ₂	72
2.2.3 Peroxidação lipídica (MDA)	72
2.2.4 Extração de proteína	73
2.2.5 Ensaio da superóxido dismutase (SOD).....	73
2.2.6 Ensaio da guaiacol peroxidase (GPOX)	73

2.2.7 Determinação do teor de fenóis totais	74
2.2.8 Teores de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> e carotenoides	74
2.2.9 Eficiência quântica do FSII (Fv/Fm).....	74
2.2.10 Crescimento	74
2.3 Análise estatística	75
3 Resultados.....	75
4 Discussão	80
5 Conclusão.....	88
6 Referências.....	88
CAPÍTULO 4 - A PULVERIZAÇÃO FOLIAR DE MANGANÊS COM ADIÇÃO DE SILÍCIO NA SOLUÇÃO POTENCIALIZA A RESPOSTA DA CANA-DE-AÇÚCAR E DA CANA-ENERGIA POR AUMENTAR O ACÚMULO DE MANGANÊS NA PLANTA E POR DIMINUIR O ESTRESSE OXIDATIVO	96
RESUMO.....	96
ABSTRACT.....	97
1 Introdução.....	98
2 Material e métodos.....	101
2.1 Condições de crescimento	101
2.2 Delineamento experimental e tratamentos	102
2.3 Análises.....	103
2.3.1 Acúmulo de Mn e Si	103
2.3.2 Teor de malondialdeído (MDA).....	104
2.3.3 Extração de proteína.....	104
2.3.4 Atividade da superóxido dismutase (SOD).....	104
2.3.5 Atividade da ascorbato peroxidase (APX).....	105
2.3.6 Eficiência quântica do FSII (Fv/ Fm).....	105

2.3.7 Índice relativo de clorofila.....	105
2.3.8 Crescimento das plantas.....	105
2.4 Análise estatística	106
3 Resultados	106
4 Discussão	113
5 Conclusão.....	120
6 Referências.....	120
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127

RESPOSTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR E DE CANA-ENERGIA À APLICAÇÃO DE MANGANÊS COM SILÍCIO VIA RADICULAR E FOLIAR

RESUMO – O cultivo de cana-de-açúcar e de cana-energia tem ampliado para áreas com deficiência de manganês (Mn) no Brasil, além de ser um dos micronutrientes mais requeridos pela cultura, o que pode limitar o crescimento destas espécies, os estudos são muito restritos. Em caso de deficiência identificada durante o ciclo das plantas, a correção de deficiência é feita em sua maioria pela aplicação foliar, contudo, é incerta a responsividade destas espécies a esta prática, e não se conhece as concentrações ideais. Faz-se necessário, portanto, avaliar os fatores bioquímicos e fisiológicos da nutrição de Mn nestas espécies e formas de amenizar os danos da deficiência, bem como formas de melhorar a eficiência da adubação. O fornecimento de silício (Si) pode favorecer a nutrição com Mn via raiz e atenuar os danos bioquímicos e fisiológicos. Além disso, o uso de Si em associação com o Mn via foliar poderia melhorar a nutrição com Mn e reduzir a dose necessária. A pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos do fornecimento de Mn com e sem associação com Si via radicular e foliar em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia, os mecanismos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais do Si de melhorar a nutrição com Mn e atenuar o estresse da deficiência do micronutriente. Para isso realizou-se cinco experimentos em casa de vegetação. Inicialmente foram realizados experimentos em arranjo fatorial 2 x 2 em solução nutritiva avaliando o efeito do fornecimento de Si (2,0 mmol L⁻¹), e sua ausência, na nutrição com Mn e mecanismos de atenuação da deficiência (peroxidação lipídica, sistema de defesa antioxidante e componentes fisiológicos) via solução nutritiva em plantas de cana-de-açúcar (experimento I), cana-energia tipo I (experimento II) e cana-energia tipo II (experimento III) sob suficiência e deficiência de Mn. Posteriormente, foi investigado o fornecimento via foliar de 4 concentrações de Mn (0,0; 0,32; 0,68 e 0,96 g L⁻¹) em arranjo fatorial 4 x 2, com Si (0,476 g L⁻¹) e sem associação com Si na calda em plantas de cana-de-açúcar (experimento IV) e cana-energia tipo I (experimento V) sob deficiência de Mn. A deficiência de Mn reduziu o crescimento das plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia por aumentar o estresse oxidativo, reduzir compostos antioxidantes e prejudicar o metabolismo fisiológico, principalmente nos genótipos de cana-energia. O fornecimento de Si via solução nutritiva melhorou a nutrição de Mn e as respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas sob suficiência e deficiência de Mn, mas, plantas de cana-de-açúcar e cana-energia tipo I apresentaram melhor resposta na suficiência, enquanto na deficiência, os genótipos de cana-energia tiveram maiores benefícios bioquímicos e fisiológicos pelo Si. O fornecimento foliar de concentrações de Mn que induziu melhor resultado em crescimento e melhorou a nutrição das plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia corrigindo a deficiência. Quando o Si esteve presente na calda de aplicação foliar houve maior acúmulo de Mn, redução do estresse oxidativo e modulação de enzimas antioxidantes, melhorando o crescimento. O uso de Si pode ser ferramenta para melhorar a nutrição de cana-de-açúcar e de cana-energia, e forma eficiente de atenuar os danos da deficiência de Mn, principalmente em cana-energia. A aplicação foliar é viável para corrigir a deficiência de Mn em ambas as espécies.

Palavras-chave: Deficiência nutricional, Fotossíntese, Metabolismo oxidativo, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

RESPONSES OF SUGARCANE AND ENERGY CANE TO THE APPLICATION OF MANGANESE WITH SILICON VIA ROOT AND LEAF

ABSTRACT - The cultivation of sugarcane and energy cane has expanded to areas with manganese (Mn) deficiency in Brazil, in addition to being one of the micronutrients most required by the crop, and which can limit the growth of these species, but studies are very limited. In case of deficiency identified during the plant cycle the correction of deficiency is mostly made by leaf application, however it is uncertain the responsiveness of these species to this practice and the ideal concentrations. Therefore, it is necessary to evaluate the factors biochemical and physiological of Mn nutrition in these species and ways to mitigate the damages of deficiency, as well as ways to increase fertilization efficiency. The supply of silicon (Si) can favor nutrition with Mn via root and mitigate physiological and biochemical damage. In addition, the use of Si in association with Mn via foliar could enhance nutrition with Mn and reduce the required dose. This research aimed to evaluate the effects of Mn supply with and without Si association by the root and leaves in sugarcane and energy cane plants and the biochemical, physiological, and nutritional mechanisms of Si of potentiating nutrition with Mn and attenuating the stress of micronutrient deficiency. For this, five experiments were carried out in a greenhouse. Initially, experiments were carried out in a 2 x 2 factorial arrangement in nutrient solution, evaluating the effect of Si supply (2.0 mmol L^{-1}) and its absence in nutrition with Mn and deficiency attenuation mechanisms (lipid peroxidation, antioxidant defense system and physiological compounds) via nutrient solution in sugarcane plants (experiment I), type I energy cane (experiment II) and type II energy cane (experiment III) under sufficiency and deficiency of Mn. Subsequently, the foliar supply of 4 Mn concentrations (0.0 ; 0.32 ; 0.68 e 0.96 g L^{-1}) in 4 x 2 factorial arrangement, with and without association with Si (0.476 g L^{-1}) in the syrup in sugarcane plants (experiment IV) and type I energy cane (experiment V) under Mn deficiency was investigated. Mn deficiency reduced the growth of sugarcane and energy cane plants by increasing oxidative stress, reducing antioxidant compounds, and impairing physiological metabolism, especially in energy cane genotypes. The supply of Si via nutrient solution improved Mn nutrition, biochemical and physiological responses in plants under sufficiency and deficiency of Mn, but sugarcane and energy cane plants type I, showed better response in sufficiency, while in deficiency, the genotypes of energy cane had greater biochemical and physiological benefits by Si. The foliar supply of Mn concentrations that induced better results in growth and improved the nutrition of sugarcane and energy cane plants correcting the deficiency. When Si was present in the leaf application solution, there was a greater Mn accumulation, reduction of oxidative stress and modulation of antioxidant enzymes, improving growth. The use of Si can be a tool to improve the nutrition of sugarcane and energy cane and an efficient way to mitigate the damage of Mn deficiency, especially in energy cane. Leaf application is feasible to correct Mn deficiency in both species.

Keywords: Nutritional deficiency, Photosynthesis, Oxidative metabolism, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1 Introdução

O cultivo de cana-de-açúcar no Brasil (*Saccharum officinarum* L.) tem sido expandido cada vez mais para alavancar a produção de açúcar e etanol após o incentivo à produção de biocombustíveis (Chandel et al., 2021) e o Brasil é o país de maior de maior produção mundial desta cultura. Além da finalidade de produção de açúcar e etanol, o material vegetal da cana-de-açúcar pode ser aproveitado para geração de etanol lignocelulósico e energia elétrica (Carvalho-Netto et al., 2014; Carpio e de Souza, 2019), contudo seu rendimento na cana-de-açúcar não compensa os custos.

Genótipos chamados de cana-energia com maior teor de fibras provenientes principalmente da espécie *Saccharum spontaneum* L. têm sido explorados para sanar essa lacuna e aumentar a produtividade de biocombustíveis e energia (de Souza Barbosa et al., 2020). Com isso, a cana-de-açúcar e a cana-energia têm sido exploradas em regiões com solos que apresentam carências nutricionais, principalmente de micronutrientes, ou solos que eram férteis, mas foram exauridos pelos anos de extração das culturas e falta da prática de adubação com micronutrientes na cultura da cana-de-açúcar (Mellis et al., 2018; Silva et al., 2019), induzindo deficiência nutricional. Soma-se a isso, o Mn é o segundo micronutriente mais extraído e exportado pela cana-de-açúcar (Orlando Filho et al., 1993) e com alta extração também por genótipos de cana-energia, podendo nestes últimos, ser bem maior que a cana-de-açúcar (Boschiero et al., 2019), favorecendo a incidência de deficiência de Mn nas plantas.

A ocorrência de deficiência de Mn em várias regiões do mundo se deve a alcalinidade dos solos (Husted et al., 2009; Schmidt et al., 2016), ou especialmente em regiões tropicais, como o caso do Brasil, por excesso de calcário aplicado superficialmente e/ou mal incorporado (Hue e Mai, 2002; Mousavi et al., 2011), solos de textura arenosa (Uthman et al. 2020) e com baixos teores do micronutriente. A deficiência de Mn no metabolismo vegetal afeta muitos processos fisiológicos,

induzindo danos à funcionalidade e estrutura de componentes indispensáveis a fotossíntese e ao metabolismo oxidativo, bem como afeta a biossíntese de diversos compostos importantes ao funcionamento metabólico.

A deficiência de Mn afeta a fotossíntese pois ele é importante para o fotossistema II (FSII) na quebra da molécula de água e evolução do oxigênio (Schmidt et al., 2016; Alejandro et al., 2020), influenciando a síntese de ATP (Blankenship, 2017), e conteúdo de proteínas do FSII (Bondarava et al., 2007; Cao et al., 2015; De Bang et al., 2015). Além disso, a síntese de pigmentos como carotenoides (Wilkinson e Ohki, 1988; Burnell, 1988) pode ser reduzida afetando a absorção de luz.

Além desses elementos, a má funcionalidade do FSII no transporte de elétrons é uma das principais geradoras de espécies reativas de oxigênio (ERO) durante a fotossíntese nos cloroplastos, que em excesso oxidam as membranas celulares, pigmentos, organelas, proteínas (Sharma et al., 2012) acarretando a peroxidação lipídica e morte celular. Como o Mn compõe a isoforma Mn-SOD, importante componente do sistema antioxidante, a nutrição insuficiente com o micronutriente pode contribuir para elevar as concentrações de ERO nas plantas pela alteração na atividade desta enzima (Millaleo et al., 2010; Broadley et al., 2012). Inclusive, além dos carotenoides que são antioxidantes não enzimáticos, o Mn é importante para a síntese de fenóis que também participa do sistema defesa das plantas (Burnell, 1988). Ainda, por influenciar a síntese de lignina, pectina e hemicelulose (Ness e Woolhouse 1980), que são componentes da fibra vegetal, a falta de Mn pode acarretar maiores danos ao metabolismo da cana-energia, mas isso precisa ser estudado.

Frente a isso, o estresse oxidativo pode limitar o crescimento e o desenvolvimento vegetal pela falta de Mn, principalmente em plantas exigentes nesse micronutriente como a cana-de-açúcar, mas também pode afetar a cana-energia por necessitar do Mn na síntese de fibras. Além disso, o fornecimento de concentração adequada do micronutriente também precisa ser investigado, pois a pulverização foliar de micronutrientes é técnica bastante utilizada quando se identifica situações de deficiência e necessita-se de correção.

Diante do estresse da deficiência de Mn e danos a fotossíntese, o uso de silício (Si) pode favorecer o desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar e de cana-

energia, pois *Saccharum* spp. fazem parte das poáceas consideradas acumuladoras de Si (Yan et al., 2018; Camargo e Keeping, 2021) podendo se beneficiar de seus efeitos. O Si quando fornecido em plantas sob estresses diversos incluindo deficiência nutricional tem ampliado a defesa antioxidante das plantas e/ou proporcionado reduções dos danos oxidativo a partir da ação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Kim et al., 2017; Silva e Prado, 2021; de Oliveira et al., 2019). Além desses efeitos, o Si tem beneficiado a absorção de micronutrientes em condições de baixo fornecimento ou sem fornecimento (Gonzalo et al., 2013; Pavlovic et al., 2013; Pavlovic et al., 2016; Bityutskii et al., 2014; Nikolic et al., 2019), podendo refletir em processos bioquímicos e fisiológicos das plantas de forma a atenuar a deficiência.

Na nutrição foliar com Mn o Si pode ser fornecido na mesma calda de aplicação quando o Mn se encontra na forma de quelato, sem afetar a disponibilidade de ambos os elementos e melhorar a nutrição com Mn reduzindo a dose de máximo rendimento (Oliveira et al., 2020; de Oliveira Rocha et al., 2022). Somado a isto, tem relato de que quando aplicado individualmente de forma foliar em plantas deficientes, ameniza os danos oxidativos e favorece a fisiologia (Souza Junior et al., 2019; de Farias Guedes et al., 2020), aumentando o crescimento das plantas. Em gramíneas o Si ampliou a absorção de Mn inclusive em plantas sem estresse (Greger et al., 2018). Isso poderia beneficiar a fisiologia das plantas nutridas adequadamente pelo aumento do Mn na parte aérea, mas ainda não foi demonstrado.

Contudo, apesar de alguns relatos, a maioria dos estudos se concentram em espécies não acumuladoras ou de acumulação intermediária de Si via radicular e com avaliações em pequenos períodos de estresse. E os trabalhos com pulverização foliar não avaliaram as defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas das plantas. Ainda existe essa lacuna quanto a ação do Si na deficiência de Mn em plantas acumuladoras de Si como a cana-energia e genótipos de cana-energia e se o Si beneficiaria também plantas sem estresse nutricional.

Desta forma, este estudo teve como hipóteses: (i) que a aplicação de Si na solução nutritiva pode aumentar o acúmulo de Mn em plantas sob suficiência de Mn independentemente da espécie, mas que os benefícios bioquímicos, fisiológicos e de crescimento do Si dependem da espécie estudada. (ii) que o fornecimento de Si via

solução nutritiva em plantas sob deficiência de Mn atenua a deficiência nos genótipos de cana-energia por modular as respostas do sistema antioxidante enzimático e não enzimático, ampliar a eficiência fotoquímica e os conteúdos de pigmentos por influenciar positivamente a absorção de Mn. (iii) que a pulverização de Mn em cana-de-açúcar e a cana-energia é eficiente para correção da deficiência de Mn por reduzir o estresse oxidativo e melhorar a fisiologia e o crescimento. (iv) que a associação de Mn com Si na calda de pulverização foliar aumenta o acúmulo de Mn dependendo da concentração de Mn, e modula a atividade antioxidante e aumenta o crescimento em cana-de-açúcar e cana-energia.

Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o fornecimento de Mn, com ou sem Si, via raízes e via foliar, quanto aos aspectos nutricionais, bioquímicos, fisiológicos e de crescimento em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia.

2 Revisão de literatura

2.1 Produção de cana-de-açúcar e de cana-energia

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) do mundo e tem como principal finalidade a produção de açúcar e etanol. Na safra de 2020/2021 o Brasil produziu 654,5 milhões de toneladas de cana-de-açúcar que renderam 41,2 milhões de toneladas de açúcar e 29,7 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2021a). A parcela de produção de etanol em relação a produção de açúcar tem ampliado nos últimos anos e na safra 2020/2021 de todo o açúcar total recuperável (ATR) produzido pela cana-de-açúcar no país, 54,1% foram destinados a produção de etanol (CONAB, 2021b). Este avanço se deu principalmente a partir de 2017 quando em 27 de dezembro deste mesmo ano foi aprovada a Lei nº13.576 que incentiva a produção de biocombustíveis, entre eles, o etanol (Chandel et al., 2021).

O etanol produzido a partir do açúcar da cana-de-açúcar para indústria de combustíveis já é consolidado no Brasil, conhecido por etanol de primeira geração (1G), contudo, a biomassa produzida pela cana-de-açúcar é elevada e tem sido destinada a produção de etanol de segunda geração (2G) e a produção de energia

pelo seu conteúdo em fibras (Chandel et al., 2021). O etanol 2G é obtido a partir da palha da cana-de-açúcar e o bagaço gerado depois dos processos industriais que passa por digestão (Carpio e de Souza, 2019). O bagaço é composto principalmente de celulose (32–45%), hemicelulose (20–32%), lignina (17–32%) e 1,0–9,0% de cinzas e alguns extrativos (Alokika et al., 2021). A produção de energia é possível através da combustão do material vegetal para geração de calor e eletricidade (Carvalho-Netto et al., 2014). No entanto, para que a utilização do bagaço seja competitiva faz-se necessário melhorar ainda mais a produção de biomassa para sanar os custos produtivos (Matsuoka e Rubio, 2019). Isso é um entrave quando se utiliza a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) que é cultivada principalmente para produção de açúcar e etanol, pois tem maior concentração de açúcar e menor teor de fibras e longevidade, resultando em menor rendimento quando se trata de produção de bioenergia e etanol 2G (Tew e Cobill, 2008).

Os híbridos modernos de cana-de-açúcar possuem em torno de 80% de material genético da espécie rica em sacarose (*Saccharum officinarum* L.) e 20% de espécie mais selvagem (*Saccharum spontaneum* L.) como resultado da hibridização interespecífica para obter alta concentração de sacarose aliada a boa resistência a doenças (Sharma et al., 2018). Apesar do melhoramento genético da cana-de-açúcar historicamente ter sido direcionado ao aumento do teor de sacarose, com a busca cada vez maior por meios de minimizar as emissões de gases do efeito estufa através do incentivo ao desenvolvimento e uso de biocombustíveis e fontes renováveis de energia, o setor de biocombustíveis e bioenergia tem empenhado esforços para o desenvolvimento de híbridos de cana-de-açúcar cada vez mais produtivos e ricos em biomassa lignocelulósica e com potencial produtivo de açúcar e etanol (Matsuoka et al., 2014; Matsuoka, 2017; de Abreu et al., 2020), ou apenas energia.

Como resultado, genótipos recentes chamados de cana-energia foram desenvolvidos através de cruzamentos entre espécies selvagens (com maior teor de fibras e produção de biomassa) como a espécie *Saccharum spontaneum* L., com híbridos modernos de cana-de-açúcar, originando materiais que apresentam maior longevidade (número de soqueiras) e maior teor de fibras, aumentando a geração de etanol com base lignocelulósica e bioenergia (Carvalho-Netto et al., 2014; de Souza

Barbosa et al., 2020). Esta prática resulta, portanto, mantêm material genético da *S. spontaneum* L. em maiores proporções nas variedades de cana-energia (Matsuoka, 2017; Matsuoka e Rubio, 2019) em relação aos híbridos de cana-de-açúcar.

A cana-energia tem como foco a produção de fibras, deste modo, a partição do carbono é voltada para esta finalidade. Como a cana-energia possui alta produtividade de biomassa por área, é ferramenta importante para contornar a limitação da *Saccharum officinarum*, aumentando o retorno econômico pois o ATR total supera o da cana-de-açúcar convencional (de Abreu et al., 2020).

De acordo com o teor de fibras nas variedades de cana-energia elas são classificadas em duas variedades principais: (i) cana-energia tipo I – variedade de cana selecionada que apresenta em torno de 13% de açúcar e 17% de fibras, e (ii) cana-energia tipo II – em torno de 30% de fibra e 6% de açúcar, contra 12% de fibras e 13% de açúcar da cana-de-açúcar (Tew e Cobill, 2008). Deste modo, a cana-energia tipo I tem destinação tanto para produção de açúcar como etanol e energia, já a cana-energia tipo II, preferencialmente destina-se a produção de etanol 1G e 2G, energia e outros derivados da fibra (Cursi et al., 2021).

Diante da importância da cana-de-açúcar e da cana-energia, há a preocupação de como serão afetadas pelas condições nutricionais, principalmente de micronutrientes, pois os estudos sobre esta resposta são restritos na cana-de-açúcar e ainda inexistentes na cana-energia. Desta forma, deve-se investigar como essas espécies se comportam em ambientes de menor fertilidade, dada a importância dos micronutrientes no metabolismo vegetal.

2.2 Funções do manganês nas plantas

As plantas absorvem Mn na sua forma bivalente (Mn^{2+}), mas na solução do solo pode ser encontrado nas formas Mn^{3+} que é instável, e Mn^{4+} que forma óxidos que possuem baixa solubilidade e precipitados (Schmidt e Husted, 2019). Solos que apresentam pH alcalino o Mn^{2+} é oxidado gerando óxidos de Mn insolúveis (Schmidt et al., 2016). A matéria orgânica presente nos solos também altera a dinâmica do Mn, pois tem capacidade de adsorver o micronutriente nas partículas carregadas

negativamente formando complexos que indisponibilizam o Mn às plantas (Millaleo et al., 2010).

Após absorvido a forma Mn^{2+} predomina no transporte para a parte aérea devido baixa instabilidade do Mn ligado ao ácido cítrico com quelante. Apesar disso, é possível existir Mn ligado a compostos nitrogenados de baixo peso molecular (Prado, 2021). Na parte aérea tem redistribuição baixa mobilidade nos tecidos vegetais (Marschner, 1986) e em caso de deficiência, o sintoma ocorre em folhas novas.

No metabolismo o Mn é micronutriente que tem funções principalmente ligadas a ativação e composição de centenas de enzimas no metabolismo vegetal (Prado, 2021). Ele possui grande capacidade de mudar de estado de valência ao receber ou doar elétrons, o que faz com que esta característica seja importante para exercer suas funções como catalisador de inúmeras reações que são catalisadas por enzimas, como reações de oxirredução, fosforilação, descarboxilação e hidrólise (Schmidt e Husted, 2019) que estão inseridas principalmente na fotossíntese, respiração, eliminação de espécies reativas de oxigênio, defesa contra patógenos e sinalização hormonal (Alejandro et al., 2020).

Uma das suas principais funções e a mais estudada está associada a fotossíntese, na organela cloroplasto, envolvendo a quebra da molécula de água e evolução do oxigênio (O_2) no FSII. No cloroplasto, mais especificamente, na membrana dos tilacóides, está inserida o complexo de evolução do oxigênio (CEO) que possui Mn, Ca e O (Mn_4CaO_5) ligados a proteína do centro de reação (Schmidt e Husted, 2019). Em cada CEO quatro átomos de Mn apresentam oxidações sucessivas e mudanças no estado de oxidação (Blankenship, 2017). As mudanças no estado de oxidação do Mn são resultado do acúmulo de quatro cargas positivas que tem como objetivo oxidar duas moléculas de água liberando uma molécula de O_2 e quatro prótons (H^+) (Millaleo et al., 2010).

Devido a capacidade única do Mn em poder transportar até cinco cargas positivas, ele é essencial para o CEO obter energia necessária para a oxidação da água (Lubitz et al., 2019; Schmidt e Husted, 2019). Os elétrons gerados pela quebra das moléculas de água são utilizados na cadeia de transporte de elétrons e os prótons

contribuem para o potencial eletroquímico que impulsiona a formação do ATP pela ATP-sintase (Blankenship, 2017).

Associado ainda ao FSII, existem evidências que uma das proteínas extrínsecas do FSII, a PsbP é uma chaperona de Mn, pois foram identificados dois íons de Mn ligados a esta proteína (Cao et al., 2015). Com isso, ela seria responsável por carrear o Mn para o centro de reação no CEO, que em associação com as proteínas PsbO e PsbQ protegem e estabilizam o complexo enzimático de Mn no FSII, mantendo a eficiência fotoquímica e o ciclo de reparo do FSII (Bondarava et al., 2007; De Bang et al., 2015). Portanto, diante da importante função do Mn associado ao FSII e a síntese de ATP, ele é essencial para o processo fotossintético vegetal e para o crescimento.

Outra função importante do Mn é no metabolismo oxidativo. Ele compõe uma das isoformas da enzima superóxido dismutase (SOD), a Mn-SOD (Millaleo et al., 2010; Broadley et al., 2012) que exerce papel crucial na dismutação dos íons superóxidos ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Sharma et al., 2012), contribuindo para a manutenção da homeostase entre produção e eliminação de ERO, protegendo as células do estresse oxidativo. Ainda associado a defesa, a enzima oxalato oxidase é dependente de Mn e atua no apoplasto (Requena e Bornemann, 1999) na defesa contra patógenos, destruindo toxinas fúngicas e auxiliando na lignificação pela produção H_2O_2 utilizado nas reações de síntese (Darvill et al., 1980).

Como ativador enzimático o Mn está envolvido na rota de biossíntese de isoprenoides que são precursores dos carotenoides ativando diretamente a enzima fitoeno sintase e podendo ativar a enzima ent-caureno sintase na síntese de giberelinas (Wilkinson e Ohki, 1988). Ele ainda ativa as enzimas da rota do ácido chiquímico como DAHP-sintase e fenilalanina amônia liase (PAL) que são essenciais para a síntese dos flavonoides, cumarinas, fenóis, lignina e AIA (Bunell, 1988).

A síntese de proteína também pode ser influenciada pelo Mn pois ele ativa a enzima RNA polimerase e várias glicosil transferases, enzimas da glicosilação das proteínas e síntese de polímeros de pectina e hemicelulose (Ness e Woolhouse 1980; Strasser et al., 2007; Basu et al. 2015). Além disso, o Mn ainda atua na ativação de

enzimas da síntese de esteróis e clorofila (Wilkinson e Ohki, 1988; Lidon et al., 2004) e no sistema de reparo de DNA (Takahashi et al., 2007).

O Mn exerce função importante na ativação direta de duas das três enzimas da carboxilação em plantas C4 (NAD-ME málica e fosfoenolpiruvato carboxicinas) e ainda pode ativar PEP carboxilase e a NADP-ME pois elas requerem cátions metálicos bivalentes para atividade podendo ser Mn ou Mg (Burnell, 1988). A enzima NADP-ME é a enzima de carboxilação da espécie *Saccharum* spp. (Rao e Dixon, 2016).

Algumas enzimas do metabolismo do N como a alantoato amidohidrolase (AAHs) e a arginase são dependentes do Mn (Broadley et al., 2012). As enzimas AAHs hidrolisam o ureídio alantoato que é importante forma de reciclar o nitrogênio do anel purínico em todas as plantas. As leguminosas como a soja, transportam o nitrogênio que é fixado nas formas de alantoína e alantoato para a parte aérea e compõe uma fonte geral de nitrogênio (Werner et al., 2008). A reação de hidrólise realizada pela L-arginase no aminoácido L-arginina formando ureia também é dependente de Mn, sendo importante passo para reciclar o nitrogênio que é armazenado nas plantas em sua maior parte como arginina (Siddappa e Marathe, 2020).

O Mn dessa forma, exerce importantes funções que afetam um amplo espectro do metabolismo vegetal. Portanto, a nutrição adequada com Mn é essencial para manter a produtividade e o crescimento das culturas com manutenção dos processos fotossintéticos, respiratórios e também hormonais e antioxidantes.

2.3 Nutrição com manganês em cana-de-açúcar e cana-energia

A nutrição com micronutrientes na cana-de-açúcar é pouco explorada pelas regiões produtoras. Isto se deve ao fato de que por muitos anos a maior parte dos ensaios de adubação com micronutrientes não evidenciaram resposta produtiva da espécie, contudo, estes resultados estão associados a cultivos em solos mais férteis e com aplicação de resíduos das usinas e destilaria (Cantarella e Rosseto, 2010; Mishra et al., 2014; Silva et al., 2017). Este cenário tem mudado pois os cultivos têm

se direcionado para regiões com solos de baixa fertilidade natural, e áreas antes férteis com cultivos sucessivos, exauriram-se de micronutrientes pela extração das plantas e processos erosivos (Mellis et al., 2018). Um estudo avaliando os cultivos de cana-de-açúcar dos estados da Paraíba e Pernambuco indicou que próximo de 45% de amostras de 0 a 20 cm foram empobrecidos de Mn em relação aos teores anteriormente relatados para os solos da área, e as reservas de Mn e outros micronutrientes em todas as áreas analisadas se encontravam abaixo dos valores de referência para a região, refletindo a alta extração pela planta (Silva et al., 2019).

O Mn é o segundo micronutriente mais extraído e exportado pela cana-de-açúcar com uma exigência nutricional de 2839 g de Mn para produção de 100 toneladas (Orlando Filho, 1993). Teores no solo abaixo de 1,3 mg dm³ de Mn (DTPA) são considerados baixos para o cultivo (Raij et al., 1997) indicando alta probabilidade de resposta da cultura a aplicação deste nutriente.

A recomendação atual para o estado de São Paulo para aplicação via solo é de 6,0 kg ha⁻¹ de Mn sempre que os teores no solo estiverem baixos (Spironello et al., 1997). Contudo as pesquisas com micronutrientes desenvolvidas pelo IAC apontam que doses mais altas de micronutrientes tem elevado a produtividade (Mellis et al., 2018). Isso demonstra necessidade de adequação nos valores de referência e adubação para a cultura.

A adubação com micronutrientes nos últimos anos tem ganhado mais espaço no manejo nutricional da cultura com respostas positivas devido ao aumento do cultivo em áreas de baixa fertilidade. Os poucos trabalhos demonstram incrementos importantes em produção e qualidade de produto quando se fornece Mn às plantas de cana-de-açúcar. Em estudo de Mellis et al. (2016) avaliando a aplicação de micronutrientes em 11 locais de produção de cana-de-açúcar verificaram que o Mn foi o segundo micronutriente que mais incrementou a produtividade (12 t ha⁻¹) aplicando 10 kg ha⁻¹ de Mn no sulco de plantio. O crescimento da parte aérea também foi favorecido pelo fornecimento de Mn em relação as plantas que não receberam o micronutriente (Singh et al., 2002). De forma semelhante, a aplicação de 6,9 e 6,6 kg ha⁻¹ de Mn no sulco de plantio, aumentaram o número de internódios e diâmetro do colmo de cana-de-açúcar, respectivamente (Benett et al., 2011).

A nutrição com Mn é importante para a cana-de-açúcar também para produção de sacarose e qualidade do caldo. Em estudo de Jain et al. (2013) foi observado que o fornecimento de Mn via pulverização foliar (5mM) aumentou em 35% o teor de sacarose 300 dias após o plantio por aumentar a atividade da sacarose sintase e sacarose fosfato sintase envolvidas na síntese de sacarose, pois o Mn tem poder de ativar estas enzimas. Um estudo testando doses de Mn no sulco de até 10 kg ha⁻¹, verificou-se que essa aplicação aumentou o ATR por hectare e tonelada de pol por hectare na cana-planta (Benett et al., 2012).

Doses maiores que a recomendação atual tem sido frequentes nos escassos relatos do fornecimento de Mn em cana-de-açúcar. Mellis et al. (2018) enfatizam que o fornecimento de doses elevadas de micronutrientes no solo apresentam dificuldades na aplicação e exigem maior uniformidade. Diante disso, o fornecimento de Mn através de pulverizações foliares, principalmente em casos em que faz-se necessária a correção de deficiência, pode ser uma estratégia, pois pode-se ampliar o número de aplicações devido ciclo longo da cultura. A fertilização foliar em relação a aplicação via solo é forma viável de fornecimento de micronutrientes pois a absorção é rápida associado a menor demanda (Prado, 2021) o que tem favorecido a adoção desta técnica nos cultivos, contudo, estudos envolvendo essa prática e a resposta bioquímica, fisiológica e de crescimento em cana-de-açúcar são escassos e não se tem estudos com concentrações de Mn para identificar a melhor resposta. O que mais se utiliza é uma recomendação geral de aplicação de solução 1% de MnSO₄ (Orlando Filho et al., 1994) que é a mesma para correção de Fe.

Existe um estudo aplicando Mn via foliar em que a maior produtividade de açúcar (9,25 t ha⁻¹) foi obtida com três pulverizações foliares de 1 % MnSO₄ na cultura da cana-de-açúcar (Mishra et al., 2014). Quando se associa as informações escassas da nutrição de Mn na cana-de-açúcar tanto via solo como via foliar ao amplo desenvolvimento de híbridos de cana-de-açúcar pelo melhoramento genético, gera preocupação, visto que, em condições de solo empobrecido a fertilização com Mn tem ótima resposta em incremento de produção, qualidade e rendimento industrial.

Frente a essa lacuna, as informações nutricionais para cana-energia em relação aos micronutrientes, e neste caso o Mn são desconhecidas, mas já tem

indicação de que estes genótipos extraem muito mais nutrientes que a cana-de-açúcar e que pode variar em relação ao genótipo de cana-energia (Boschiero et al., 2019). Neste estudo, os autores avaliando seis genótipos de cana-energia em relação a cana-de-açúcar verificaram que pelo menos em dois genótipos de cana-energia a remoção total de Mn foi 1,5 vezes maior que na cana-de-açúcar, com média de exigência de Mn de 6,3 g por Mg de cana-energia produzida.

O Mn aplicado na cana-de-açúcar resulta em incremento da lignificação (Mesquita et al., 2019) podendo ser uma característica interessante para a cana-energia, pois o conteúdo de fibras é importante para o rendimento em etanol 2G e energia e o C é direcionado para a produção de fibras. Associado a isto, há a preocupação de como estas espécies serão afetadas pelas condições nutricionais defasadas das regiões tropicais compostas por solos intemperizados. Ainda mais, quando se considera a deficiência do Mn pelo fato de ser micronutriente participante da síntese de lignina, celulose e hemicelulose componente da fibra vegetal, e pode ter papel relevante na nutrição da cana-energia.

Portanto, associado a maior extração de Mn já demonstrada, é essencial que os estudos envolvendo a nutrição com Mn em cana-de-açúcar e principalmente, em cana-energia sejam priorizados a fim de ampliar os conhecimentos sobre os efeitos deste nutriente em processos bioquímicos, fisiológicos e no crescimento da planta cultivada em solos com baixo teor de Mn. Aliado a isso, desvendar concentrações de Mn ideais para aplicação foliar tanto em cana-de-açúcar como em cana-energia como forma de satisfazer as necessidades nutricionais de forma eficiente como alternativa às elevadas doses do elemento que normalmente é empregada em aplicações via solo especialmente a adubação corretiva.

2.4 Efeitos da deficiência de manganês em cana-de-açúcar e cana-energia

A redução da disponibilidade de Mn em solos acontece por diversas condições que englobam as características intrínsecas ao solo, como alto teor de matéria orgânica (Alejandro et al., 2020), solos com material de origem que apresenta teor baixo de Mn (Broadley et al., 2012), solos calcáreos e arenosos (Lindsay, 1979;

Schmidt et al., 2016; Uthman et al., 2020). Além disso, o manejo antrópico inadequado pode reduzir a disponibilidade de Mn na solução do solo, como aporte excessivo de calcário e/ou a má incorporação, aumentando a alcalinidade em superfície. Soma-se ainda, a falta de reposição do micronutriente extraído e exportado pelas culturas agrícolas (de Oliveira et al., 2019) que exaurem o solo reduzindo as concentrações do micronutriente na solução.

As condições de valor pH, teor de água, porosidade e microorganismos presentes nos solos afetam a disponibilidade de Mn alterando seu estado de valência (Schmidt et al., 2016). As plantas absorvem Mn na forma bivalente (Mn^{2+}) e em solos com reação alcalina e de textura arenosa aumentam a oxidação do Mn^{2+} a formas insolúveis, incapacitando a absorção pelas plantas (Husted et al., 2005). Em solos com presença de altos teores de matéria orgânica o Mn é adsorvido a partículas carregadas negativamente formando complexos (Millaleo et al., 2010). Portanto, plantas cultivadas sob estas condições tendem a desenvolver deficiência de Mn.

Para cana-de-açúcar, teores foliares de Mn abaixo de 25 mg kg⁻¹ são considerados abaixo do ideal (Raij et al., 1997) e, portanto, induzem mudanças metabólicas pela falta do micronutriente no metabolismo. Oliveira et al. (2019) avaliaram o estado nutricional de plantas de três variedades de cana-de-açúcar no ciclo cana-planta e primeira rebrota e verificaram que todas apresentaram teores foliares de Mn abaixo do adequado no nordeste brasileiro. No solo, as concentrações de micronutrientes incluindo o Mn, de 890 amostras de cultivos de cana-de-açúcar no estado de São Paulo foram analisadas e mais de 80% das amostras apresentavam teores abaixo do adequado (Vale et al., 2008).

Seguindo a tendência do cultivo da cana-de-açúcar em regiões de menor concentração desse micronutriente, associado a falta de reposição via adubação do que é extraído, a ocorrência de deficiência é eminente. Apesar de absorvido em menores quantidades em relação aos macronutrientes, a deficiência de Mn acarreta distúrbios graves nas plantas, que muitas vezes se desenrolam como um evento em cascata devido as funções do Mn estarem relacionadas aos mais importantes processos do metabolismo vegetal.

A deficiência de Mn nas plantas afeta todo o aparato fotossintético. Em plantas de milho, sorgo e soja, a deficiência de Mn reduziu conteúdos de clorofila e carotenoides (Qu et al., 2012; Oliveira et al., 2020; de Oliveira Rocha et al., 2022). Em citrus, houve redução no número e tamanho dos cloroplastos, bem como desorganização da estrutura dos tilacoides (Papadakis et al., 2007). O FSII apresenta grandes danos pela deficiência de Mn pela menor abundância das proteínas extrínsecas PsbP e PsbQ (De Bang et al., 2015), aumento da fluorescência da clorofila a e reduções na proteína D1 do FSII (Schmidt et al., 2013) como visto em cevada, reduzindo a estabilidade e a eficiência quântica do FSII no transporte de elétrons (Oliveira et al., 2020; Chen et al., 2019; de Oliveira Rocha et al., 2022), fatos estes, demonstrados em milho e sorgo, cevada e em soja, respectivamente.

O metabolismo de defesa da planta é ativado na deficiência de Mn (Hajiboland, 2012), principalmente pela atividade da SOD e peroxidases como APX que varia entre as espécies, aumentando o estresse oxidativo. Na deficiência de Mn é comum reduções na atividade da SOD como vista em plantas de sorgo (de Oliveira et al., 2019) e em tabaco (Yu et al., 1998), contudo, aumentos da SOD também podem ocorrer como resposta ao estresse (Yu et al., 1999; Shenker et al., 2004). Além disso, redução na atividade de peroxidases como APX tem sido relatada (Yu et al., 1998) o que aumenta o acúmulo de ERO em plantas deficientes. Em plantas de trigo houve acúmulo de H_2O_2 e $O_2^{\cdot-}$ (Tahura e Kabir, 2021), o que leva a aumento da peroxidação lipídica e estresse oxidativo (de Oliveira et al., 2019) resultando em oxidação das membranas celulares, com danos em proteínas, pigmentos, organelas e vazamento de conteúdo celular (Oliveira et al., 2020).

Como consequência destas alterações há redução da fotossíntese e do crescimento. Em plantas de sorgo a fotossíntese foi reduzida (de Oliveira et al., 2019), e em cevada a transpiração aumentou em até quatro vezes na deficiência de Mn (Hebbern et al., 2009). Em soja sem aporte de Mn foi apontada reduções no fluxo de CO_2 da fotossíntese (Moreira et al., 2018) e menor conteúdo de proteína em grãos de soja (de Oliveira Rocha et al., 2022).

Em razão dos danos fisiológicos da deficiência de Mn, a redução na produção e na produtividade das culturas é resposta das modificações em diferentes níveis, pois

quando ocorre perdas produtivas, as modificações já ocorreram a nível molecular, subcelular, celular até chegar a nível de tecido quando são perceptíveis visualmente. Diversas espécies têm apresentado respostas negativas de crescimento frente a deficiência de Mn, como observado em soja (Kwano et al., 2016; Alt et al., 2018; de Oliveira Rocha et al., 2022), sorgo (de Oliveira et al., 2019; Oliveira et al., 2020), milho (Nozulaid et al., 2016; Oliveira et al., 2020), algodão (Dordas, 2009), trigo (Barman et al., 2017; Tahura e Kabir, 2021), arroz (Snyder et al., 1990) e cevada (Schmidt et al., 2013).

Mesmo diante de tais efeitos deletérios da deficiência de Mn em ampla gama de espécies, em cana-de-açúcar os estudos envolvendo o fornecimento de Mn ou os efeitos da deficiência são restritos e não avaliaram as modificações ocorridas a nível fisiológico ou bioquímico. Existem relatos de menor rendimento de parte aérea em (Singh et al., 2002; Mellis et al., 2016), número de internódios e diâmetro do colmo (Benett et al., 2011) em plantas de cana-de-açúcar sem Mn em relação às que receberam aplicação do micronutriente. Estes resultados podem ter sido reflexos de diversas modificações metabólicas pela falta de Mn, mas não foram investigadas nos estudos.

As pesquisas até o momento em cana-de-açúcar refletem menores produções de sacarose e rendimento de açúcar na deficiência de Mn. Singh et al. (2002) avaliando aplicação de Mn no sulco, constataram que as plantas que não havia recebido o micronutriente apresentaram menor porcentagem de sacarose no caldo aos 10 e 12 meses. De forma semelhante, houve redução no açúcar total recuperável por ha e tonelada de pol por ha em cana-de-açúcar com deficiência de Mn (Benett et al., 2012). Mishra et al. (2014) em experimento conduzido na Índia por 3 anos, constataram que as plantas de cana-de-açúcar que não receberam aplicações de Mn apresentaram menor produtividade de açúcar. Estes resultados podem ter ligação com a atuação do Mn na atividade enzimática associada com a síntese de sacarose na cana-de-açúcar, pois em trabalho de Jain et al. (2012) atividades de duas enzimas envolvidas na rota de síntese da sacarose reduziram quando não houve fornecimento do micronutriente. Além da produtividade em sacarose, a qualidade do caldo é reduzida na deficiência de Mn devido alterações na síntese de metabólitos

secundários aumentando as concentrações de fenóis e amido, que modifica a cor e o sabor do caldo (Chaves e Farias, 2009).

Para cana-energia os estudos são inexistentes quanto aos efeitos da deficiência de Mn no metabolismo e na produção desse genótipo rico em fibra. Mas, espera-se que o Mn tenha grande influência metabólica devido sua importante participação na síntese dos componentes da fibra vegetal. Até mesmo em cana-de-açúcar já foi relatado que em plantas sob ataque fúngico que não receberam aplicações de Mn, apresentaram menores conteúdos de lignina nas células do mesófilo que contribuiu para que os danos do patógeno fossem mais severos (Mesquita et al., 2019). Portanto, isto gera preocupação, pois é a partir do aumento de fibra vegetal da cana-de-açúcar e principalmente da cana-energia que as produções de etanol e energia se sustentam, e diante do cultivo em solos de baixa fertilidade, podem penalizar a produção das plantas.

Diante destes possíveis danos da deficiência de Mn na cana-de-açúcar e na cana-energia, deve-se buscar estratégias no manejo destas espécies que possibilitem corrigir a deficiência de Mn de forma adequada e eficiente. Além disso, buscar formas de potencializar a adubação com Mn e ampliar a resposta das plantas, favorecendo a viabilidade do manejo de micronutrientes, principalmente o Mn, nos sistemas produtivos destas espécies, fato ainda distante nos cultivos nacionais atuais.

2.5 Silício como atenuador dos efeitos da deficiência de micronutrientes e potencializador da nutrição nas plantas

O Si é elemento abundante na crosta terrestre e considerado benéfico para a ampla maioria de espécies sob estresses bióticos ou abióticos (Epstein, 2009). Em condições naturais ele está na forma de sílica (SiO_2) (Ma e Takahashi, 2002), mas, na solução do solo, ele se encontra como ácido monossilícico (H_4SiO_4) que é a forma absorvida pelas plantas (Katz et al., 2021). Esta forma solúvel de Si se encontra em concentrações baixas no solo que variam de 0,0-2,0 mM (Karathanasis, 2002), mas a maioria dos solos apresenta teores de 0,1-0,6 mM (Epstein, 2001; Sommer et al., 2006).

As plantas podem transportar Si de forma ativa, passiva ou exclusora (Debona et al., 2017), o que afeta o poder acumulativo das espécies crescendo em condições naturais de Si. Elas são então classificadas como acumuladoras ($> 10 \text{ g kg}^{-1}$ de Si na parte aérea), acumuladoras intermediárias ($5 \text{ a } 10 \text{ g kg}^{-1}$ de Si) e exclusoras ($< 5 \text{ g kg}^{-1}$ de Si) (Ma e Takahashi, 2002). Como o efeito positivo do Si nas plantas está mais evidenciado em plantas acumuladoras do elemento, o alto poder de absorção, acúmulo e transporte eficiente de Si é primordial para ampliar as respostas benéficas nas plantas (Bokor et al., 2021).

A cana-de-açúcar é considerada acumuladora de Si (Savant et al., 1999; Yan et al., 2018; Camargo e Keeping, 2021) devido as poáceas apresentarem transportadores eficientes nas membranas celulares das raízes (Mitani-Ueno e Ma, 2020; Deshmukh et al., 2020). A cana-de-açúcar sendo grande acumuladora de Si pode apresentar grande resposta ao fornecimento do elemento, principalmente em condições de estresse. Os efeitos do Si atenuando estresses bióticos e abióticos são amplos nas plantas, inclusive em cana-de-açúcar (Majumdar e Prakash, 2020; Ranjan et al., 2021; Bokor et al., 2021). Contudo, o estresse por distúrbios nutricionais ainda é pouco explorado para micronutrientes nas plantas quando se trata de deficiência e em cana-de-açúcar não se tem relatos. Em revisão de Pavlovic et al. (2021) abordando a interação do Si e nutrientes de plantas, os estudos com Si são mais abundantes se tratando de toxicidade de micronutrientes em relação a deficiência. A falta de informação reduz as opções de manejo, principalmente em cana-de-açúcar que tem potencial de benefício do Si.

Na deficiência nutricional o Si tem beneficiado muitos processos, que vão desde a absorção do nutriente até os processos bioquímicos e fisiológicos. Sobre trabalhos de deficiência de micronutrientes e interação com Si, as informações são restritas havendo mais relatados para Fe (Gonzalo et al., 2013; Pavlovic et al., 2013; Pavlovic et al., 2016; Bityutskii et al., 2014; Nikolic et al., 2019) e Zn (Bityutskii et al., 2014; Mehrabanjoubani et al., 2015; Pascual et al., 2016; Felisberto, 2018; de Farias Guedes et al., 2020) e em menor proporção para o B (Souza Junior et al., 2019; Barros et al., 2019).

Em plantas de pepino e de soja sob deficiência de Fe o fornecimento de Si em meio hidropônico reduziu os sintomas de deficiência em soja e em pepino por retardar a degradação da clorofila e ainda, maior remobilização do Fe em soja (Gonzalo et al., 2013). Ainda, Pavlovic et al. (2013) comprovaram que em plantas de pepino deficientes em Fe quando cultivadas com Si na solução nutritiva aumentaram a mobilização do Fe do apoplasto da raiz e aquisição de Fe pelo aumento da expressão de genes de proteínas envolvidas na aquisição de Fe, de compostos mobilizadores de Fe nas raízes, e de citrato responsável pelo transporte de Fe via xilema. Estas modificações aumentaram a translocação de Fe e o índice SPAD das plantas, que foi também observado por Bityutskii et al. (2014) em pepino. Além da aquisição e do transporte de Fe, Pavlovic et al. (2016) avaliaram o efeito do Si na redistribuição de Fe de folhas velhas para folhas novas de plantas de pepino deficientes, e observaram que o Si ampliou a concentração de quelante de Fe e a expressão de genes envolvidos na sua síntese, bem como de transportadores que descarregam Fe no floema, o que aumentou a concentração do micronutriente em folhas novas.

As poáceas também apresentaram melhorias na deficiência de Fe pelo uso de Si (Nikolic et al., 2019). Os autores demonstraram que em cevada deficiente em Fe o Si aumentou o Fe nas folhas jovens associadas a aumento no nível transcricional de genes envolvidos na aquisição de Fe de estratégia II, aumentando acúmulo de Fe. Associado a isto, o estresse oxidativo também foi reduzido aumentando a atividade de enzimas antioxidantes. Em plantas de sorgo deficientes em Fe o uso de Si via solução nutritiva aumentou o acúmulo de Fe em folhas novas, o conteúdo de clorofila e o crescimento pela melhoria da eficiência de transporte e redistribuição de Fe, e redução da peroxidação lipídica (Teixeira et al., 2020).

Na deficiência de Zn, plantas de pepino tratadas com Si radicular apresentaram redução nos sintomas de deficiências associados a defesa antioxidante e aumento na concentração de citrato e fumarato nas raízes que mobilizam metais, e de oxalato nas folhas, o que contribuiu para melhorar a eficiência de uso do nutriente (Bityutskii et al., 2014). O Si aumentou a absorção e a translocação de Zn das raízes à parte aérea, casca e sementes de plantas de arroz sob deficiência de Zn (Mehrabanjoubani et al., 2015) e dobrou o teor de Zn da parte aérea de plantas de soja por aumentar a

remobilização de Zn do apoplasto radicular causando maior índice de cor verde e diminuição do sintoma visual de deficiência (Pascual et al., 2016).

A defesa antioxidante foi diretamente quantificada por Felisberto (2018) em plantas de arroz e soja deficientes em Zn. O autor verificou que a aplicação de Si aumentou a atividade da SOD e reduziu teores de H_2O_2 e o vazamento de eletrólitos, aumentando o índice de cor verde das plantas. Em soja, houve menor teor de MDA com aplicação de Si foliar e radicular. Em plantas de sorgo, a pulverização foliar de Si reduziu os danos da deficiência de Zn por reduzir o vazamento de eletrólitos celulares, aumentar os conteúdos de pigmentos e proteínas totais (de Farias Guedes et al., 2020).

Na deficiência de B em plantas de algodão que receberam Si principalmente foliar, reduziram-se os danos da deficiência de B aumentando produção de biomassa, conteúdos de clorofila, eficiência quântica do FSII (Souza Junior et al., 2019) e a produtividade (Barros et al., 2019).

Em plantas sob deficiência de Mn os estudos são restritos, com pouquíssimos estudos relatados e em pequena variedade de espécies (Bityutskii et al., 2014; de Oliveira et al., 2019; Oliveira et al., 2020). Em plantas de pepino (Bityutskii et al., 2014) fornecendo Si via solução nutritiva observou-se redução parcial dos sintomas de deficiência, os autores atribuíram a possível ação do Si no sistema de defesa, pois não verificaram efeito na absorção ou acúmulo de Mn. Em plantas de sorgo que acumulam Si por outro lado, quando não abastecidas com Mn, mas com Si via solução nutritiva e foliar houve maior produção de massa seca das plantas pela ativação do sistema antioxidante e aumento da eficiência do uso do Mn (de Oliveira et al., 2019).

Em alguns estudos recentes o Si tem ampliado o acúmulo de Mn em plantas deficientes e até potencializado a nutrição com Mn quando associados na pulverização foliar, como observado por Oliveira et al. (2020) em plantas de sorgo e de milho deficientes, em que o Si quando aplicado sozinho ou em associação com o Mn aumentou o acúmulo de Mn, proporcionando menor extravasamento de eletrólitos, maior índice relativo de clorofila, eficiência quântica do FSII e massa seca indicando interação positiva na nutrição foliar.

Em soja, além destes benefícios ainda houve aumento do conteúdo de fenóis das plantas deficientes e conteúdo de proteínas dos grãos (de Oliveira Rocha et al., 2022). Nestes estudos, quando se associou o Si na calda junto com o Mn houve redução da concentração ideal em relação a aplicação de Mn individual. Contudo, esses trabalhos não avaliaram os efeitos do Si no sistema enzimático de defesa e em culturas semiperenes como a cana-de-açúcar e a cana-energia.

Em plantas sem estresse o aporte de Si no solo favoreceu o acúmulo de Mn em milho e em trigo (Greger et al., 2018) em diferentes tipos de solo. Diante dos avanços recentes é possível que o Si possa favorecer a nutrição radicular de Mn, mas isso ainda precisa ser pesquisado, principalmente em cana-de-açúcar e em cana-energia pois a resposta pode ser diferente a depender da espécie, pois a genética envolvida na cana-energia difere em muito da cana-de-açúcar.

Diante problemática que engloba a escassez de matéria-prima para produção de fertilizantes e que um dos maiores custos de produção da cana-de-açúcar é com adubação (Verma e Solanki, 2020), aumentar a eficiência da adubação, reduzindo o aporte de fertilizantes sem perder produtividade é um objetivo a ser alcançado visando a sustentabilidade. Portanto, o uso do elemento Si poderia ser estratégia viável nessa espécie de ciclo longo que exige grande quantidade de nutrientes a fim de manter a produção da cultura sustentável economicamente.

3 Referências

Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E (2020) Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science** 11:300. doi: 10.3389/fpls.2020.00300

Alokika, Anu, Kumar A, Kumar V, Singh B (2021) Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: Potential, challenges and future perspective. **International Journal of Biological Macromolecules** 169: 564–582. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.12.175

Alt D, Ng SJ, Grusenmeyer J, Lindsey LE (2018) Seed Yield and Quality of Transgenic High-Oleic and Conventional Soybean as Influenced by Foliar Manganese Application. **Crop Science** 58: 874. doi:10.2135/cropsci2017.06.0391

Barman A, Pandey RA, Singh B, Bappa Das (2017) Manganese deficiency in wheat genotypes: Physiological responses and manganese deficiency tolerance index. **Journal of Plant Nutrition** 40: 2691-2708. doi:10.1080/01904167.2017.1381717

Barros TC, Prado RM, Roque CG, Arf MV, Vilela RG (2019) Silicon and salicylic acid in the physiology and yield of cotton. **Journal of Plant Nutrition** 42:458–465. doi:10.1080/01904167.2019.1567765

Basu D, Tian L, Wang W, Bobbs S, Herock H, Travers A, Showalter AM (2015). A small multigene hydroxyproline-O-galactosyltransferase family functions in arabinogalactan-protein glycosylation, growth and development in Arabidopsis. **BMC Plant Biology** 15: 295. doi:10.1186/s12870-015-0670-7

Benett CGS, Buzetti S, Silva KS, Teixeira Filho, MCM (2011) Produtividade e desenvolvimento da cana-planta e soca em função de doses e fontes de manganês. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 35: 1661-1667. doi:10.1590/S0100-06832011000500020

Benett CGS, Buzzetti S, Silva KS (2012). Qualidade e produtividade da cana planta e cana soca em função de doses e fontes de manganês. **Bioscience Journal** 28(2): 198-205.

Bityutskii N, Pavlovic J, Yakkonen K, Maksimović V, Nikolic M (2014) Contrasting effect of silicon on iron, zinc and manganese status and accumulation of metal-mobilizing compounds in micronutrient-deficient cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry** 74: 205–221. doi:10.1016/j.plaphy.2013.11.015

Blankenship RE (2017) Fotossíntese: Reações Luminosas. In.: Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy Angus (Orgs.) **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**, 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, p.171-202.

Bokor B, Santos CS, Kostoláni D, Machado J, da Silva MN, Carvalho SMP, Vaculík M, Vasconcelos MW (2021) Mitigation of climate change and environmental hazards in plants: Potential role of the beneficial metalloid silicon. **Journal of Hazardous Materials**. 416: 126193. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.126193

Bondarava N, Un S, Krieger-Liszkay A (2007) Manganese binding to the 23 kDa extrinsic protein of photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics** 1767: 583–588. doi: 10.1016/j.bbabbio.2007.01.001

Boschiero BN, de Castro SGQ, da Rocha AEC, Franco HCJ, Carvalho JLN, Soriano HL, dos Santos JA, Bressiani JA, Kölln OT (2019). Biomass Production and Nutrient Removal of Energy Cane Genotypes in Northeastern Brazil. **Crop Science** 59: 379. doi:10.2135/cropsci2018.07.0458

Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: micronutrients. In.: Marschner P (Ed.) **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd Edn, Oxford: Elsevier, p.191–249.

Burnell JN (1988) The biochemistry of manganese in plants. In.: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC (Eds.) **Manganese in Soils and Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 125-137.

Camargo MS, Keeping MG (2021) Silicon in Sugarcane: Availability in Soil, Fertilization, and Uptake. **Silicon** 13: 3691-3701. doi:10.1007/s12633-020-00935-y

Cantarella H, Rossetto R (2010) Fertilizers for sugar cane. In.: Cortez LAB (Coord.) **Sugarcane Bioethanol – R&D for Productivity and Sustainability**. Blucher, p. 404-422.

Cao P, Xie Y, Li M, Pan X, Zhang H, Zhao X, Su X, Cheng, T, Chang W (2015) Crystal structure analysis of extrinsic PsbP protein of photosystem II reveals a manganese-induced conformational change. **Molecular Plant** 8: 664–666. doi:10.1016/j.molp.2015.01.002

Carpio TLG, de Souza SSF (2019) Competition between Second-Generation Ethanol and Bioelectricity using the Residual Biomass of Sugarcane: Effects of Uncertainty on the Production Mix. **Molecules** 24:369. doi:10.3390/molecules24020369

Carvalho-Netto OV, Bressiani JA, Soriano HL, Fiori CS, Santos JM, Barbosa GV, Xavier MA, Landell MG, Pereira GA (2014) The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture** 1:20. doi:10.1186/s40538-014-0020-2

Chandel AK, Forte MBS, Gonçalves IS, Milessi TS, Arruda PV, Carvalho W, Mussatto SI (2021) Brazilian biorefineries from second generation biomass: critical insights from industry and future perspectives. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**. doi:10.1002/bbb.2234

Chaves LHG, Farias CHA (2009) Variabilidade espacial de cobre e manganês em Argissolo sob cultivo de cana-de-açúcar. **Revista Ciência Agronômica** 40:211-218.

Chen A, Husted S, Salt DE, Schjoerring JK, Persson DP (2019) The Intensity of Manganese Deficiency Strongly Affects Root Endodermal Suberization and Ion Homeostasis. **Plant Physiology** 181: 729-742. doi:10.1104/pp.19.00507

CONAB (2021a) **Série histórica de safras: Cana-de-açúcar - Agrícola**. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: Acesso em 23 de dez de 2021.

CONAB (2021b) **Série histórica de safras: Cana-de-açúcar - Indústria**. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>. Acesso em 23 de dez de 2021.

Cursi DE, Hoffmann HP, Barbosa G VS, Bressiani JA, Gazaffi R, Chapola RG, Fernandes Junior AR, Balsalobre TWA, Diniz CA, Santos JM, Carneiro MS (2021) History and current status of sugarcane breeding, germplasm development and molecular genetics in Brazil. **Sugar Tech** 1:1-22. doi:10.1007/s12355-021-00951-1

Darvill JE, McNeil M, Darvill AG, Albersheim P (1980) Structure of Plant Cell Walls: XI. Glucuronoarabinoxylan, a second hemicellulose in the primary cell walls of suspension-cultured sycamore cells. **Plant Physiology** 1980; 66; 1135–1139. doi:10.1104/pp.66.6.1135

de Abreu LGF, Grassi MCB, de Carvalho LM, da Silva JJB, Oliveira JVC, Bressiani JA, Pereira GAG (2020) Energy cane vs sugarcane Watching the race in plant development. **Industrial Crops and Products** 156: 112868. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112868

De Bang TC, Petersen J, Pedas PR, Rogowska-Wrzesinska A, Jensen ON, Schjoerring JK, Jensen PE, Thelen JJ, Husted S (2015) A laser ablation ICP-MS based method for multiplexed immunoblot analysis: applications to manganese-dependent protein dynamics of photosystem II in barley (*Hordeum vulgare* L.). **The Plant journal** 83:555–565. doi: 10.1111/tpj.12906

de Farias Guedes VH, de Mello Prado R, Frazão JJ, Oliveira KS, Cazetta JO (2020) Foliar-applied silicon in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) alleviate zinc deficiency. **Silicon**. 14:281-287. doi:10.1007/s12633-020-00825-3

de Oliveira RLL, de Mello Prado R, Felisberto G, Checchio MV, Gratão PL (2019) Silicon Mitigates Manganese Deficiency Stress by Regulating the Physiology and Activity of Antioxidant Enzymes in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 19: 524-534. doi: 10.1007/s42729-019-00051-w

de Oliveira Rocha IL, de Mello Prado R, Oliveira KS, da Silva DL, Abreu-Junior CH (2022) Foliar spraying of Mn with addition of Si increases phenolic compound, photosynthetic efficiency, productivity and the protein content of the soybean crop. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. doi:10.1007/s42729-022-00780-5

de Souza Barbosa GV, dos Santos JM, Diniz CA, Cursi DE, Hoffmann HP (2020). Energy cane breeding. In.: Santos F, Rabelo SC, De Matos M, Eichler P (Eds) **Sugarcane Biorefinery, Technology and Perspectives**. Academic Press, p. 103-116. doi:10.1016/B978-0-12-814236-3.00006-8

Debona D, Rodrigues FA, Datnoff LE (2017) Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. **Annual Review of Phytopathology** 55: 85–107. doi:10.1146/annurev-phyto-080516-035312

Deshmukh R, Sonah H, Belanger R (2020) New evidence defining the evolutionary path of aquaporins regulating silicon uptake in land plants. **Journal of Experimental Botany** 71: 6775-6788. doi:10.1093/jxb/eraa342

Dordas C (2009) Foliar Application of Manganese Increases Seed Yield and Improves Seed Quality of Cotton Grown on Calcareous Soils. **Journal of Plant Nutrition** 32:160-176. doi:10.1080/01904160802609013

Epstein E (2001) Silicon in plants: facts vs. concepts. Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (Eds.) **Silicon in Agriculture**. Studies in Plant Science 8, Amsterdam: Elsevier, p. 1-15.

Epstein E (2009) Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology** 155: 155–160. doi:10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x

Felisberto G (2018) **Silício na mitigação de estresse por deficiência de zinco em plantas de arroz e soja**. 63p. Tese (Doutorado em Agronomia) - UNESP, Jaboticabal. 63p.

Gonzalo MJ, Lucena JJ, Hernández-Apaolaza L (2013) Effect of silicon addition on soybean (*Glycine max*) and cucumber (*Cucumis sativus*) plants grown under iron deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry** 70: 455–461. doi:10.1016/j.plaphy.2013.06.007

Greger M, Landberg T, Vaculík M (2018) Silicon Influences Soil Availability and Accumulation of Mineral Nutrients in Various Plant Species. **Plants** 7: 41. doi:10.3390/plants7020041

Hajiboland R (2012) Effect of micronutrient deficiencies on plants stress responses. In.: Ahmad P, Prasad M (Eds.) **Abiotic Stress Responses in Plants**. New York, NY: Springer), p. 283–329. doi: 10.1007/978-1-4614-0634-1_16

Hebbern CA, Laursen KH, Ladegaard AH, Schmidt SB, Pedas P, Bruhn D, Schjoerring JK, Wulfsohn, Husted S (2009) Latent manganese deficiency increases transpiration in barley (*Hordeum vulgare*). **Physiologia Plantarum** 135: 307–316. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01188.x

Hue N, Mai Y (2002) Manganese toxicity in watermelon as affected by lime and compost amended to a Hawaiian acid Oxisol. **HortScience** 37: 656-661; doi:10.21273/HORTSCI.37.4.656

Husted S, Laursen KH, Hebbern CA, Schmidt SB, Pedas P, Haldrup A, Jensen PE (2009) Manganese Deficiency Leads to Genotype-Specific Changes in Fluorescence Induction Kinetics and State Transitions. **Plant Physiology** 150: 825–833. doi:10.1104/pp.108.134601

Husted S, Thomsen UM, Mattsson M, Schjoerring JK (2005) Influence of nitrogen and sulphur form on manganese acquisition by barley (shape *Hordeum vulgare*). **Plant and Soil** 268: 309–317. doi:10.1007/s11104-004-0317-1

Jain R, Chandra A, Solomon S (2013) Impact of Exogenously Applied Enzymes Effectors on Sucrose Metabolizing Enzymes (SPS, SS and SAI) and Sucrose Content in Sugarcane. **Sugar Tech** 15: 370–378. doi:10.1007/s12355-013-0211-3

Karathanasis AD (2002) Mineral equilibrium in environmental soil systems. In.: Dixon JB, Schulze DG (Eds) **Soil mineralogy with environmental applications**. Soil Science Society of America, Inc. p. 109–151

Katz O, Puppe D, Kaczorek D, Prakash NB, Schaller J (2021) Silicon in the soil–plant continuum: Intricate feedback mechanisms within ecosystems. **Plants** 10:1–36. doi:10.3390/plants10040652

Kim Y-H, Khan AL, 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. doi: 10.3389/fpls.2017.00510

Kwano BH, Moreira A, Moraes LAC, Nogueira MA (2016) Magnesium-manganese interaction in soybean cultivars with different nutritional requirements. **Journal of Plant Nutrition** 40: 372–381. doi:10.1080/01904167.2016.1240198

Lidon FC, Barreiro MC, Ramalho JC (2004) Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology** 161: 1235–1244. doi: 10.1016/j.jplph.2004.02.003

Lindsay WL (1979) **Chemical equilibria in soils**. New York, US: John Wiley & Sons, p. 472.

Lubitz W, Chrysina M, Cox N (2019) Water oxidation in photosystem II. **Photosynthesis Research** 142: 105–125. doi:10.1007/s11120-019-00648-3

Ma JF, Takahashi E (2002) **Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan**. Amsterdam: Elsevier.

Majumdar S, Prakash NB (2020) An Overview on the Potential of Silicon in Promoting Defence Against Biotic and Abiotic Stresses in Sugarcane. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 1969–1998. doi:10.1007/s42729-020-00269-z

Marschner H (1986) Mineral nutrition of higher plants, Academic Press: London, 674p.

Matsuoka S (2017) Free fiber level drives resilience and hybrid vigor in energy cane. **Journal of Scientific Achievements** 2:1–35.

Matsuoka S, Kennedy AJ, Santos EGD, Tomazela AL, Rubio LCS (2014) Energy cane: Its concept, development, characteristics, and prospects. **Advances in Botany** 1:1–13. <https://doi.org/10.1155/2014/597275>

Matsuoka S, Rubio LCS (2019) Energy Cane: A Sound Alternative of a Bioenergy Crop for Tropics and Subtropics. In.: Khan M, Khan I (Eds.) **Sugarcane Biofuels**. Springer, Cham. p. 39-66. doi:10.1007/978-3-030-18597-8_3

Mehrabanjoubani P, Abdolzadeh A, Sadeghipour H, Aghdasi M (2015) Impacts of silicon nutrition on growth and nutrient status of rice plants grown under varying zinc regimes. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**. 27: 19–29. doi:10.1007/s40626-014-0028-9

Mellis EV, Quaggio JA, Cantarella H, Teixeira LAJ, Cavalli E. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar: micronutrientes (2018). In.: Prado, RM, Campos CNS (eds). **Nutrição e adubação de grandes culturas**. Jaboticabal: FCAV, p.301-326.

Mellis EV, Quaggio JA, Becari GRG, Teixeira LAJ, Cantarella H, Dias FLF (2016) Effect of Micronutrients Soil Supplementation on Sugarcane in Different Production Environments: Cane Plant Cycle. **Agronomy Journal** 108: 2060-2070. doi:10.2134/agronj2015.0563

Mesquita GL, Tanaka FAO, et al. (2019) Foliar application of manganese increases sugarcane resistance to orange rust. **Plant Pathology** 68:1296-1307. <https://doi.org/10.1111/ppa.13041>

Millaleo M, Reyes-Diaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M (2010) Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 10: 470-481. doi: 10.4067/S0718-95162010000200008

Mishra AK, Shukla SK, Yadav DV, Awasthi SK (2014) Iron, Manganese and Sulphur Uptake and Nutrients Availability in Sugarcane Based System in Subtropical India. **Sugar Tech** 16: 300-310. doi:10.1007/s12355-013-0269-y

Mitani-Ueno N, Ma JF (2020) Linking transport system of silicon with its accumulation in different plant species. **Soil Science and Plant Nutrition** 67: 10-17. doi:10.1080/00380768.2020.1845972

Moreira A, Moraes LAC, Aquino GS (2018) Iron and manganese effect on soil chemical properties, yield components, and nutritional status of soybean. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 49: 1844–1854. doi:10.1080/00103624.2018.1475564

Mousavi SR, Shahsavari M, Rezaei M (2011) A General Overview On Manganese (Mn) Importance For Crops Production. **Australian Journal of Basic Applied Sciences** 5: 1799–1803.

Ness PJ, Woolhouse HW (1980) RNA synthesis in Phaseolus chloroplasts: I. Ribonucleic acid synthesis in chloroplast preparations from *Phaseolus vulgaris* L. Leaves and solubilization of the RNA polymerase. **Journal of Experimental Botany** 31: 223–233.

Nikolic DB, Nesic S, Bosnic D, Kostic L, Nikolic M, Samardzic J (2019) Silicon Alleviates Iron Deficiency in Barley by Enhancing Expression of Strategy II Genes and Metal Redistribution. **Frontiers in Plant Science** 10: 416. doi:10.3389/fpls.2019.00416

Nozulaidi N, Nurlnani M, Khairi M, Jahan SMD (2016). Production of Corn; Effects of Manganese Application on Plant Parameters. **Journal of Agricultural Research** 1: 1-7. doi: 10.23880/OAJAR-16000109

Oliveira DCd, de Oliveira MW, da Silva VSG, Oliveira TBA, do Nascimento HHC, Chaves, SSF (2019) Nutritional status of three sugarcane varieties grown in the northeast region of Brazil. **African Journal of Agricultural Research** 14: 532–538. doi:10.5897/ajar2019.13859

Oliveira KS, de Mello Prado R, Guedes VH (2020) Leaf spraying of manganese with silicon addition is agronomically viable for corn and sorghum plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 872-880. doi: 10.1007/s42729-020-00173-6

Orlando Filho J (1993) Calagem e adubação da cana-de-açúcar. In.: Câmara GMS, Oliveira EAM (Ed.) **Produção de Cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, p.133-46.

Orlando Filho J, Macedo N, Tokeshi H (1994) **Seja o doutor do seu canavial**. Piracicaba: POTAFOS.

Papadakis IE, Giannakoula A, Therios IN, Bosabalidis AM, Moustakas M, Nastou A (2007) Mn-induced changes in leaf structure and chloroplast ultrastructure of *Citrus volkameriana* (L.) plants. **Journal of Plant Physiology** 164: 100–103. doi:10.1016/j.jplph.2006.04.011

Pascual MB, Echevarria V, Gonzalo MJ, Hernández-Apaolaza L (2016) Silicon addition to soybean (*Glycine max* L) plants alleviates zinc deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**. 108:132–138. doi:10.1016/j.plaphy.2016.07.008

Pavlovic J, Samardzic J, Kostic L, Laursen KH, Natic M, Timotijevic G, Schjorring JK, Nikolic M (2016) Silicon enhances leaf remobilization of iron in cucumber under limited iron conditions. **Annals of Botany** 118: 271–280. doi: 10.1093/aob/mcw105

Pavlovic J, Kostic L, Bosnic P, Kirkby EA, Nikolic M (2021) Interactions of Silicon With Essential and Beneficial Elements in Plants. **Frontiers in Plant Science** 12:697592. doi: 10.3389/fpls.2021.697592

Pavlovic J, Samardzic J, et al. (2013) Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. **New Phytologist** 199: 1096–1107; doi:10.1111/nph.12213

Prado R de M (Ed) (2021) Mineral nutrition of tropical plants, Springer: International Publishing, 392p. doi: 10.1007/978-3-030-71262-4

Qu C, Gong X, Liu C, Hong M, Wang L, Hong F (2012) Effects of manganese deficiency and added cerium on photochemical efficiency of maize chloroplasts. **Biological Trace Element Research** 146: 94–100; doi:10.1007/s12011-011-9218-3

Raij BV, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani ÂMC (1997) **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**, Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 285 p. (Boletim 100, 2ª edição).

Ranjan A, Sinha R, Bala M, Pareek A, Singla-Pareek SL, Singh AK (2021) Silicon-mediated abiotic and biotic stress mitigation in plants: Underlying mechanisms and potential for stress resilient agriculture. **Plant Physiology and Biochemistry** 163 :15-25. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.03.044

Rao X, Dixon R (2016) The Differences between NAD-ME and NADP-ME Subtypes of C4 Photosynthesis: More than Decarboxylating Enzymes. **Frontiers in Plant Science** 7: 2016. doi:10.3389/fpls.2016.01525

Requena L, Bornemann S (1999) Barley (*Hordeum vulgare*) oxalate oxidase is a manganese-containing enzyme. **Biochemical Journal** 343; 185–190. doi:10.1042/bj3430185

Savant NK, Korndörfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: a review. **Journal of Plant Nutrition** 22: 1853–1903. doi: 10.1080/01904169909365761

Schmidt SB, Jensen PE, Husted S (2016) Manganese deficiency in plants: The impact on photosystem II. **Trends in Plant Science** 21: 622-632. doi:10.1016/j.tplants.2016.03.001

Schmidt SB, Pedas P, Laursen KH, Schjoerring JK, Husted S (2013) Latent manganese deficiency in barley can be diagnosed and remediated on the basis of chlorophyll a fluorescence measurements. **Plant and Soil** 372: 417–429. doi:10.1007/s11104-013-1702-4

Schmidt SB, Husted S (2019) The Biochemical Properties of Manganese in Plants. **Plants** 8: 381. doi: 10.3390/plants8100381

Sharma A, Song J, Lin Q, Singh R, Ramos N, Wang K, Zhang J, Ming R, Yu Q (2018) Comparative Analysis of Homologous Sequences of *Saccharum officinarum* and *Saccharum spontaneum* Reveals Independent Polyploidization Events. **Frontier in Plant Science** 9:2018. doi:10.3389/fpls.2018.01414

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany** 2012: 1–26. doi: 10.1155/2012/217037

Shenker M, Plessner OE, Tel-Or E (2004) Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. **Journal of Plant Physiology** 161: 197–202. doi: 10.1078/0176-1617-00931

Siddappa S, Marathe GK (2020) What we know about plant arginases? **Plant Physiology and Biochemistry** 156: 600-610. doi:10.1016/j.plaphy.2020.10.002

Silva JLF da, Prado RM (2021) Elucidating the action mechanisms of silicon in the mitigation of phosphorus deficiency and enhancement of its response in sorghum plants. **Journal of Plant Nutrition** 44: 1-11. doi:10.1080/01904167.2021.1918155

Silva RCF, Silva FBV, Biondi CM, do Nascimento CWA, de Oliveira ECA (2019). Assessing the content of micronutrients in soils and sugarcane in different pedogeological contexts of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 43:e0180228. doi:10.1590/18069657rbcs20180228

Silva VSG, Oliveira MW, Oliveira DC, Oliveira TBA, Pereira MG, Nogueira CHC (2017). Nutritional diagnosis of sugarcane varieties in a Yellow Oxisol during three agricultural seasons. **African Journal of Agricultural Research** 12: 50-57. doi:10.5897/AJAR2016.11865

Singh A, Gupta AK, Srivastava RN, Lal K, Singh SB (2002) Response of zinc and manganese to sugarcane. **Sugar Tech** 4: 74–76. doi:/10.1007/bf02956887

Snyder GH, Jones DB, Coale FJ (1990) Occurrence and Correction of Manganese Deficiency in Histosol-Grown Rice. **Soil Science Society of America Journal** 54:1634. doi:10.2136/sssaj1990.03615995005

Sommer M, Kaczorek D, Kuzyakov Y, Breuer J (2006) Silicon pools and fluxes in soils and landscapes-a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 169: 310-329. doi:10.1002/jpln.200521981

Souza Junior JP, de Mello Prado R, dos Santos Sarah MM, Felisberto G (2019) Silicon mitigates boron deficiency and toxicity in cotton cultivated in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 182: 805-814. doi: 10.1002/jpln.201800398

Spironello A, Raj BV, Penatti CP, Cantarella H, Morelli JL, Orlando Filho J, Landell MGA, Rosseto R (1997). Cana-de-açúcar. In: Raj, B.van, Quaggio JA, Furlani AMC (Eds.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2ª ed. rev. atual. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, (Boletim Técnico, 100), p. 237-239.

Strasser R, Bondili JS, et al. (2007) A unique β 1,3-galactosyltransferase is indispensable for the biosynthesis of N-glycans containing Lewis a structures in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell** 19: 2278–2292. doi:10.1105/tpc.107.052985

Tahura S, Kabir AH (2021) Physiological responses and genome-wide characterization of TaNRAMP1 gene in Mn-deficient wheat. **Plant Physiology and Biochemistry** 162: 280–290. doi:10.1016/j.plaphy.2021.02.038

Takahashi S, Sakamoto AN, Tanaka A, Shimizu K (2007) AtREV1, a Y-family DNA polymerase in *Arabidopsis*, has deoxynucleotidyl transferase activity *in vitro*. **Plant Physiology** 145: 1052–1060. doi: 10.1104/pp.107.101980

Teixeira GCM, de Mello Prado R, Oliveira KS, D'Amico-Damião V, Sousa Junior GS (2020) Silicon Increases Leaf Chlorophyll Content and Iron Nutritional Efficiency and Reduces Iron Deficiency in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 1311-1320; doi:10.1007/s42729-020-00214-0

Tew TL, Cobill RM (2008) Genetic Improvement of Sugarcane (*Saccharum* spp.) as an Energy Crop. In.: Vermerris W (Ed.) **Genetic Improvement of Bioenergy Crops** New York: Springer, p. 273-294.

Uthman QO, Kadyampakeni DM, Nkedi-Kizza P (2020) Manganese adsorption, availability, and uptake in citrus under microsprinkler irrigation. **Agrosystems, Geosciences & Environment**. 3: e20061. doi:10.1002/agg2.20061

Vale F, Araujo MAG, Vitti GC (2008) Avaliação do estado nutricional dos micronutrientes em áreas com cana-de-açúcar. In.: FERTBIO - Desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, SBCS, IAPAR, UEL, p. 80.

Verma LK, Solanki A (2020) Cost and Returns Analysis of Sugarcane Production in Baghpat district of Western Uttar Pradesh, India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 9: 733-739. doi:10.20546/ijcmas.2020.901.080

Werner AK, Sparkes IA, Romeis T, Witte CP (2008) Identification, biochemical characterization, and subcellular localization of allantoate amidohydrolases from *Arabidopsis* and soybean. **Plant Physiology** 146: 418–430. doi: 10.1104/pp.107.110809

Wilkinson RE, Ohki K (1988) Influence of manganese deficiency and toxicity on isoprenoid syntheses. **Plant Physiology** 87: 841–846 doi:10.1104/pp.87.4.841

Yan G, Nikolic M, Ye M, Xiao Z, Liang Y (2018) Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. **Journal of Integrative Agriculture** 17: 2138–2150. doi:10.1016/S2095-3119(18)62037-4

Yu Q, Rengel Z (1999) Micronutrient Deficiency Influences Plant Growth and Activities of Superoxide Dismutases in Narrow-leaved Lupins. **Annals of Botany** 83: 175–182. doi: 10.1006/anbo.1998.0811

Yu Q, Osborne L, Rengel Z (1998) Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. **Journal of Plant Nutrition** 21: 1427–1437. doi: 10.1080/01904169809365493

CAPÍTULO 2 - Silício via solução nutritiva modula sistema antioxidante da cana-de-açúcar e da cana-energia deficientes e suficientes em manganês¹

RESUMO - O manganês (Mn) é muito exigido pelas poáceas e sua deficiência induz respostas bioquímicas e fisiológicas nas plantas. O silício (Si), conhecido por ser benéfico às plantas em diversos estresses, também pode desempenhar um papel importante nas plantas sem estresse, mas, os mecanismos fisiológicos e nutricionais do Si para melhorar a nutrição de Mn na cana-de-açúcar e na cana-energia, além de mitigar o estresse da deficiência ainda não estão esclarecidos. Com isso, objetivou-se avaliar se os mecanismos de atuação do Si estão relacionados a nutrição de Mn a partir da modulação do sistema de defesa antioxidante das plantas de cana-de-açúcar e da cana-energia cultivada em solução nutritiva, favorecendo os aspectos fisiológicos e de crescimento das plantas cultivadas sob deficiência de Mn ou suficiência de Mn. Para isso, realizaram-se dois experimentos com mudas pré-brotadas de *Saccharum officinarum* L. e *Saccharum spontaneum* L., cultivadas em vasos preenchidos com areia que recebeu solução nutritiva. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, e as plantas cultivadas sob suficiência de Mn (20,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e sob deficiência (0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) combinado com a ausência e a presença de Si (2,0 mmol L^{-1}). A deficiência de Mn causou estresse oxidativo ao aumentar a peroxidação lipídica diminuindo a atividade da GPOX, teor de fenóis, pigmentos, eficiência fotossintética e o crescimento das duas espécies estudadas. O Si melhora a resposta das duas espécies ao fornecimento de Mn pois incrementa o acúmulo do nutriente, fenóis totais, pigmentos e eficiência quântica do FSII. A atenuação dos efeitos da deficiência de Mn pelo Si depende da espécie havendo maior benefício para *Saccharum spontaneum* e sua atuação está envolvida na redução da degradação das células pelas espécies reativas de oxigênio (21%) e aumento dos teores de fenóis (18%), carotenoides (64%), proteínas e modulando a atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1), melhorando as respostas fotossintéticas e de crescimento.

Palavras-chave: Eficiência de uso de nutrientes, Elemento benéfico, Estresse oxidativo, Fenóis, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

¹Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista Scientific Reports 11:16900, 2021. doi:10.1038/s41598-021-96427-z

SILICON VIA NUTRIENT SOLUTION MODULATES DEFICIENT AND SUFFICIENT MANGANESE SUGAR AND ENERGY CANE ANTIOXIDANT SYSTEMS

ABSTRACT - Manganese (Mn) is highly demanded by Poaceae, and its deficiency induces biochemical and physiological responses in plants. Silicon (Si), which is beneficial to plants under various stress conditions, may also play an important role in plants without stress. However, the physiological and nutritional mechanisms of Si to improve Mn nutrition in sugarcane and energy cane, in addition to mitigating deficiency stress, are still unclear. The objective of this study is to evaluate whether the mechanisms of action of Si are related to the nutrition of Mn by modulating the antioxidant defense system of sugarcane plants and energy cane plants cultivated in nutrient solution, favoring the physiological and growth factors of plants cultivated under Mn deficiency or sufficiency. Two experiments were carried out with pre-sprouted seedlings of *Saccharum officinarum* L. and *Saccharum spontaneum* L. grown in the nutrient solution. Treatments were arranged in a 2 × 2 factorial design. Plants were grown under Mn sufficiency (20.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and the deficiency (0.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) associated with the absence and presence of Si (2.0 mmol L^{-1}). Mn deficiency caused oxidative stress by increasing lipid peroxidation and decreasing GPOX activity, contents of phenols, pigments, and photosynthetic efficiency, and led to the growth of both studied species. Si improved the response of both species to Mn supply. The attenuation of the effects of Mn deficiency by Si depends on species, with a higher benefit for *Saccharum spontaneum*. Its performance is involved in reducing the degradation of cells by reactive oxygen species (21%), increasing the contents of phenols (18%), carotenoids (64%), proteins, modulating SOD activity, and improving photosynthetic and growth responses.

Keywords: Nutrient use efficiency, Beneficial element, Oxidative stress, Phenols, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

1 Introdução

O manganês (Mn) é um dos micronutrientes mais absorvidos pelas plantas e sua importância biológica é amplamente conhecida. No entanto, a deficiência de Mn nos cultivos tem sido evidenciada devido aos solos alcalinos presentes em diferentes regiões da Europa e da Ásia (Husted et al., 2009) ou devido ao excesso de calcário aplicado na superfície do solo em regiões tropicais (Hue e Mai, 2002; Mousavi et al., 2011) que aumenta o valor pH e diminui sua disponibilidade no solo.

Nas plantas sob deficiência de Mn, ocorre a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) como radicais superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) levando ao acúmulo de ERO e ao estresse oxidativo que causa a peroxidação lipídica (Zhao et al., 2014; de Oliveira et al., 2019). A escassez de Mn ainda reduz o teor de compostos fenólicos (Lidon et al., 2004) e dos carotenoides (Rodrigues et al., 2020) que auxiliam o sistema de defesa contra o acúmulo de ERO. Além disso, o sistema de defesa das plantas pode ser estimulado, modulando a atividade de enzimas, como a superóxido dismutase (SOD) (Shenker et al., 2004; Krieger-Liszka et al., 2008; de Oliveira et al., 2019), peroxidases (Yu et al., 1998; Millaleo et al., 2010; Mousavi et al., 2011; de Oliveira et al., 2019). Somado a isto, a deficiência de Mn promove danos na estrutura dos tilacóides diminuindo o teor de pigmentos (Broadley et al., 2012; Qu et al., 2012) e a eficiência quântica do fotossistema II (FSII) (Schmidt et al., 2016) que também colaboram para a formação de ERO.

Ademais, a deficiência de Mn ainda pode diminuir a síntese de proteína (Ness e Woolhouse, 1980; Strasser et al., 2007) e, conseqüentemente, a produção de massa seca de espécies vegetais (Moradtalab et al., 2018; de Oliveira et al., 2019; Oliveira et al., 2020).

Os efeitos da deficiência de Mn são pouco explorados na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) embora seja o segundo micronutriente mais extraído e exportado (Orlando Filho, 1993) e responsiva a aplicação deste nutriente (Mellis et al., 2016).

Recentemente surgiram genótipos de cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.) que apresentam alto teor de fibras sendo destinadas, com sua queima, à produção

de energia (Carvalho-Netto et al., 2014). Essa espécie tem vantagem em relação a cana-de-açúcar por gerar maior produção de etanol (provindo da fibra celulósica) e longevidade no campo (Carvalho-Netto et al., 2014; Matsuoka e Rubio, 2019). O Mn por fazer parte da rota metabólica de síntese de fenóis e lignina, componentes da fibra (Burnell, 1988; Lidon et al., 2004; Malavolta, 2006) poderia proporcionar maior benefício a esta espécie, entretanto, este efeito ainda é desconhecido. O conhecimento sobre as respostas nutricionais e fisiológicas da *S. officinarum* L. e da *S. spontaneum* L. ao fornecimento de Mn ou sua deficiência são restritas ou ausentes, o que é motivo de preocupação quando se objetiva ótimo crescimento destas culturas.

Uma estratégia para melhorar a resposta da cana-de-açúcar e da cana-energia a aplicação de Mn e minimizar os efeitos da deficiência seria a aplicação conjunta com o silício (Si). Isso poderia ocorrer porque o Si é um elemento que beneficia a fisiologia e o crescimento das plantas, em especial, sob condições estressantes (Epstein, 2009) e em plantas acumuladoras, como é o caso da cana-de-açúcar que tem alta absorção radicular deste elemento (Savant et al., 1999; Mitani e Ma, 2005). Soma-se a isto, a informação promissora que o fornecimento de Si na solução nutritiva realizado em outra gramínea (sorgo) promoveu redução da peroxidação lipídica pela regulação da atividade das enzimas SOD e ascorbato peroxidase (APX) e com incremento da fotossíntese e, conseqüentemente, a produção de massa seca nas plantas deficientes de Mn, embora não tenha visto efeito em plantas suficientes deste micronutriente (de Oliveira et al., 2019). Os autores complementam que o Si aumentou a eficiência de uso do Mn tanto nas plantas suficientes como deficientes deste micronutriente. Portanto, verifica-se que o Si beneficia os aspectos fisiológicos melhorando a conversão do elemento absorvido em massa seca.

É possível que o Si possa beneficiar a absorção do Mn pois segundo Xu et al. (2015), o elemento benéfico ativa H⁺-ATPases e é sabido que tal proteína transportadora está envolvida no transporte primário de nutrientes, incluindo o Mn (Zhang et al., 2017), podendo incrementar seu acúmulo. Além disso, influência do Si em genes transportadores IRT1 e família de AtNramp foram observados em arroz (Bao et al., 2021). Estes transportadores atuam na absorção e transporte de Mn (Socha e Guerinot, 2014) e já foram identificados em cana-de-açúcar (Figueira et al., 2001). Interações benéficas de Si no acúmulo de Mn tanto na parte aérea como nas

raízes foram relatadas em várias espécies, incluindo trigo e milho, por incremento no transporte do nutriente (Greger et al., 2018). Assim, o Si poderia induzir uma super expressão de genes de proteínas transportadoras, o que poderia influenciar no acúmulo de Mn na cana-de-açúcar e na cana-energia.

Um outro importante benefício do Si é no aumento da produção de compostos antioxidantes não enzimáticos como os fenóis visto em plantas de trigo (Mendonça et al., 2013) ampliando a resposta antioxidante das plantas e também reduzindo a degradação de compostos orgânicos importantes nas plantas como a clorofila e consequentemente favorecendo a fotossíntese. E diante do fato que a degradação da clorofila é um processo natural (Hörtensteiner e Kräutler, 2011) mas pode ser acelerada pela deficiência de Mn visto anteriormente, é possível que o efeito do Si retardando esse processo venha beneficiar as plantas sob deficiência ou não de manganês. No entanto, pressupõe-se que esses efeitos do Si podem variar de acordo com o conteúdo de Mn na planta e da espécie cultivada.

Diante da necessidade de desvendar os mecanismos de ação do Si em relação à nutrição com Mn especificamente em cana-de-açúcar e em cana-energia, surgem as hipóteses desta pesquisa. Hipotetizamos que a aplicação de Si na solução nutritiva pode aumentar o acúmulo de Mn e, diminuir o estresse oxidativo devido ao aumento de compostos antioxidantes e, consequentemente, incrementando o teor de clorofila e a eficiência quântica do FSII, aumentando a produção de massa seca da *S. officinarum* L. e da *S. spontaneum* L. cultivadas sob suficiência de Mn. E ainda, que estes mesmos efeitos benéficos do Si sejam evidenciados em plantas sob deficiência de Mn, a depender do nível do estresse induzido nas espécies aumentando a eficiência de uso do Mn e diminuindo a peroxidação lipídica favorecendo aspectos fisiológicos e de crescimento das culturas.

Sendo aceitas essas hipóteses revelará a relação bioquímica, fisiológica e nutricional do Si e do Mn e será possível propor alteração no manejo de aplicação do Mn associando o Si para melhorar a nutrição deste micronutriente e favorecer o crescimento destas espécies com sustentabilidade destes cultivos.

Com isso, objetivou-se avaliar se o Si poderia modular o sistema de defesa antioxidante favorecendo aspectos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais, bem como

no crescimento de duas espécies de cana cultivadas em solução nutritiva sob deficiência e suficiência de Mn.

2 Material e métodos

2.1 Condições de instalação e crescimento vegetal

Realizaram-se dois experimentos envolvendo duas espécies a cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) variedade RB 966928 e cana-energia (*S. spontaneum* L.) tipo I variedade Vertix 3. Os experimentos foram desenvolvidos em casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus Jaboticabal, SP, Brasil, no período de janeiro a julho de 2019.

Para a instalação dos experimentos foram preparadas mudas pré-brotadas a partir de mini toletes (5 cm de comprimento) tendo uma gema plantada em bandeja de polipropileno preenchidas com vermiculita de granulometria fina. Após a emergência plena dos brotos realizaram-se a aplicação de Si via fertirrigação em intervalos de quatro dias durante 50 dias (apenas nas plantas que teriam tratamento contendo Si) e solução completa de Hoagland e Arnon (1950) (todas as plantas) com modificação na fonte de Fe-EDTA para Fe-EDDHA segundo Cavalcante et al. (2016). Em seguida durante 32 dias as plantas receberam a solução nutritiva com baixo Mn ($0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$) para indução da deficiência (apenas plantas do tratamento com baixo Mn). Em seguida foi realizado o transplante das mudas para vasos de polipropileno de $1,5 \text{ dm}^3$ preenchidos com areia lavada.

2.2 Delineamento experimental e tratamentos

A partir do transplante das mudas foram aplicados os tratamentos compostos de esquema fatorial 2×2 em 5 repetições, dispostos em blocos ao acaso para cada espécie. Os tratamentos foram constituídos de plantas cultivadas sob suficiência de Mn ($20,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e sob deficiência ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) combinado com a ausência e a presença de Si ($2,0 \text{ mmol L}^{-1}$). A fonte de Si foi o silicato de sódio e potássio

estabilizado com sorbitol (SiNaKE) com $107,9 \text{ g L}^{-1}$ de Si e $16,44 \text{ g L}^{-1}$ de K_2O . Utilizou-se a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e com modificação da concentração de Mn. O valor pH da solução nutritiva foi ajustado para $5,5 \pm 0,5$ utilizando a solução de HCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) ou NaOH ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). A concentração de potássio da solução nutritiva para os tratamentos sem Si foi ajustada com cloreto de potássio. A média da umidade relativa do ar e temperatura foram aferidas dentro da casa de vegetação para os dois experimentos durante o período de cultivo e compreenderam em 15% e 62% de umidade relativa do ar mínima e máxima, respectivamente, e 17°C e 36°C de temperatura mínima e máxima, respectivamente.

A partir dos 58 dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas as avaliações bioquímicas, fisiológicas e nutricionais nas plantas.

2.3 Análises

2.3.1 Acúmulo de Mn e Si e eficiência de uso de Mn

O teor de Mn foi determinado através da digestão de 0,1 g de material seco e moído da parte aérea e raiz em 1,5 mL de solução nitro-perclórica 2: 1 sob aquecimento de blocos com temperatura inicial de 80°C , elevada a cada 30 min até 210°C . Após isso, a leitura foi realizada em extrato diluído em água em absorção atômica de acordo com método proposto por Bataglia et al. (1983).

O teor de Si foi determinado na parte aérea e nas raízes com 0,1 g de material seco e moído que foram adicionados em tubos de centrífuga com tampa de rosca de polietileno de 50 mL. As amostras foram umedecidas com 2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30%, lavando as laterais do tubo para retirada da amostra. O tubo foi bem tampado e colocado em estufa a 95°C . Após 30 min, os tubos foram removidos e 4 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 50% foram adicionados às amostras quentes. Os tubos de amostra foram então agitados suavemente em vórtice, bem tampados e retornados ao forno (95°C) por quatro horas, de acordo com a metodologia descrita por Kraska e Breitenbeck (2010). A concentração de silício foi determinada pelo método de colorimetria usando 1 mL do extrato em 19 mL de água, 1 mL de ácido clorídrico (1:1), 2 mL de molibdato de amônio. Após 5 min adicionado

2 mL de ácido oxálico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 410 nm, conforme descrito por Korndörfer et al. (2004).

O acúmulo total de Mn e Si foi obtido pela soma do produto da massa seca e o teor dos elementos na parte aérea e raízes. Com base no acúmulo de Mn foram determinadas a eficiência de uso de Mn na parte aérea conforme Siddiqi e Glass (1981).

2.3.2 Peroxidação lipídica (MDA)

Para determinar a peroxidação lipídica coletou-se 0,3 g da primeira folha completamente expandida aos 58 dias após do transplante (DAT) e imposição dos tratamentos, seguiu-se os métodos descritos por Heath e Packer (1968). A concentração de equivalentes de malondialdeído (MDA) foi determinada pela leitura em espectrofotômetro entre 535 e 600 nm, sendo os dados calculados com base no coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e os resultados de MDA foram expressos em nMol g^{-1} de matéria fresca (Gratão et al., 2012).

2.3.3 Extração de proteína

A extração de proteína solúvel total com 1,0 grama da primeira folha completamente desenvolvida (coletada aos 58 DAT) e homogeneizadas em um almofariz resfriado com um pilão utilizando tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), ácido etilenodiamina tetraacético (EDTA) 1 mM, DL-ditiotreitol 3 mM e 5% (p / v) polivinilpolipirrolidona insolúvel na proporção volume / massa fresca de 3: 1 (Boaretto et al., 2014). O material foi centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min, e o sobrenadante foi armazenado a -80°C para posterior determinação das atividades das enzimas SOD e GPOX. A concentração de proteína foi avaliada seguindo o método de Bradford (1976) usando albumina de soro bovino como padrão, sendo expresso em mg ml^{-1} proteína.

2.3.4 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1) foi determinada em espectrofotômetro, conforme descrito em Cembrowska-Lech et al. (2015), sendo a reação conduzida em uma câmara de reação (caixa) sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25°C. A leitura foi realizada a 560 nm e a atividade de SOD expressa em U mg⁻¹ proteína.

2.3.5 Atividade da guaiacol peroxidase (GPOX)

A atividade da GPOX (GPOX, EC 1.11.1.7) foi determinada numa mistura contendo tampão fosfato citrato pH 5,0 (fosfato de sódio dibásico 0,2 M: ácido cítrico 0,1 M), 0,5% de guaiacol e o extrato. A atividade foi avaliada monitorizando a absorbância no comprimento de onda de 450 nm (Gomes-Junior et al., 2006).

2.3.6 Teor de fenóis totais

A extração dos compostos fenólicos totais foi realizada pela coleta de 0,1 grama de folhas frescas aos 59 DAT de folhas completamente expandidas com metanol concentrado em banho-maria a 25 °C. Após a extração induziu-se reação colorimétrica de fenóis totais com reagente Folin-Ciocalteu 2 N, deixando-se reagir por 3 minutos e carbonato de sódio 20 %, deixando reagir por 2 horas. Ao término, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro em comprimento de onda 765 nm e determinado o teor com base em curva padrão com ácido gálico e expresso em g de equivalente em ácido gálico (EAG) por 100 g⁻¹ (Singleton e Rossi, 1965).

2.3.7 Clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides

A determinação do teor de pigmentos foi realizada a partir da coleta de 0,027 g de discos foliares do terço médio do limbo foliar de folhas completamente expandidas aos 59 DAT, conforme metodologia proposta por Lichtenthaler (1987), com leituras a 663 nm para a clorofila *a* (Chl *a*), 647 nm para a clorofila *b* (Chl *b*) e 470 nm para

carotenoides, realizadas em espectrofotômetro de Beckman DU 640, sendo os teores definidos com base na massa fresca.

2.3.8 Eficiência quântica do FSII

A eficiência quântica do FSII (F_v/F_m) foi obtida a partir da medida da fluorescência da clorofila com o auxílio de fluorímetro (Opti-sciences - Os30P). Para isso, a região amostrada foi submetida ao escuro para adaptação de no mínimo 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. As medidas foram realizadas entre 7h30 e 8h30 no terço médio da folha +1 (primeira folha completa com a bainha visível) aos 58 DAT.

2.3.9 Crescimento

A área foliar para cana-de-açúcar e cana-energia foi realizada aos 62 DAT, destacando-se as folhas e realizou-se a leitura com auxílio do aparelho medidor de área foliar (LI-3100, Li-Cor, EUA) com valor dado em cm^2 . Para determinação da massa seca as plantas foram cortadas na base do substrato sendo separadas em parte aérea e raízes para compor massa seca total. As frações foram lavadas com solução de detergente (0,1% v/v), solução ácida com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (0,3% v/v) e água deionizada, e em seguida as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir massa constante. Em seguida obteve-se a massa seca da planta inteira em gramas.

2.4 Análise estatística

Os dados foram verificados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Levène) no software livre R 4.0.3 e submetidos à análise de variância, pelo teste F, médias foram comparadas a partir do teste de Tukey a 5% de probabilidade e realizado desdobramento da interação mesmo quando não significativa utilizando o programa estatístico SAS® (Cary, NC, USA). As

interações foram desdobradas mesmo quando não significativas e os gráficos elaborados no software SigmaPlot 14.0 (Systat software, Inc, San Jose, CA).

3 Resultados

3.1 Acúmulo de Mn e Si e eficiência de uso do Mn

O Si fornecido via solução nutritiva aumentou o acúmulo deste elemento nas plantas de cana-de-açúcar (Figura 1a) e de cana-energia (Figura 1b). A alteração do status de Mn da planta (deficiente ou suficiente) não afetou a capacidade da planta em acumular Si, mas isso ocorreu apenas para a cana-de-açúcar (Figura 1a). Para a cana-energia a situação de deficiência de Mn verificou-se baixo acúmulo de Si comparado com as plantas com a suficiência de Mn (Figura 1b).

Houve diminuição do acúmulo de Mn na cana-de-açúcar e na cana-energia sob deficiência de Mn nas plantas com a presença de Si e ausência de Si (Figura 1c e 1d). A presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si aumentou o acúmulo de Mn em 23% na cana-de-açúcar cultivada na suficiência de Mn e não houve alteração na planta sob deficiência de Mn (Figura 1c). Para a cana-energia, a presença de Si em relação a sua ausência na solução nutritiva incrementou em 40% e 21% o acúmulo de Mn na planta cultivada em solução nutritiva deficiente em Mn e na solução nutritiva suficiente de Mn, respectivamente (Figura 1d).

A presença de Si na solução nutritiva em relação ausência de Si não afetou a eficiência do uso do manganês na cana-de-açúcar cultivada na deficiência e na suficiência de Mn (Figura 1e). Entretanto, para cana-energia, a presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si aumentou a eficiência de uso de Mn da planta em 10 e 18% quando cultivadas em solução nutritiva com suficiência de Mn e com deficiência de Mn, respectivamente (Figura 1f).

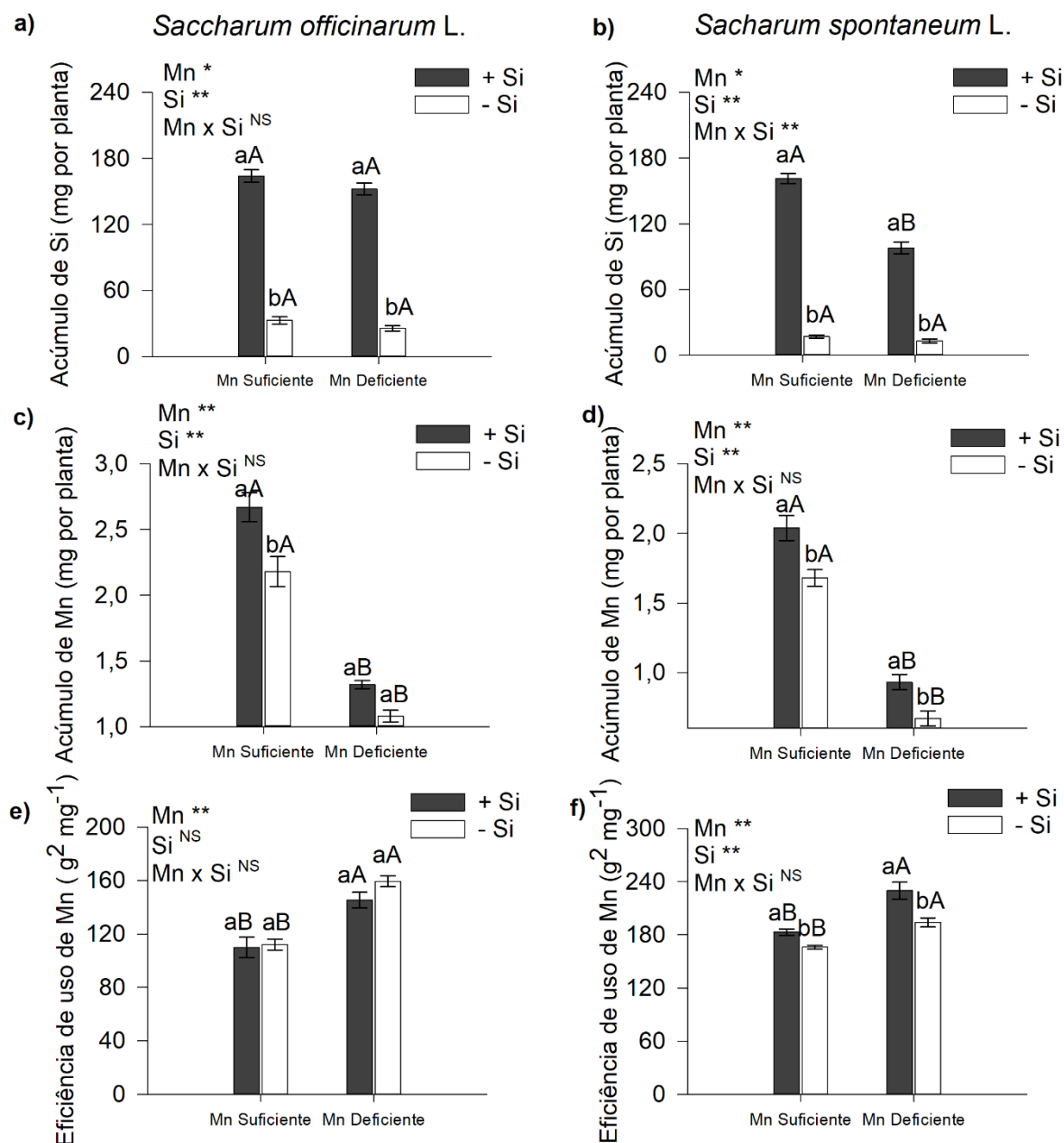


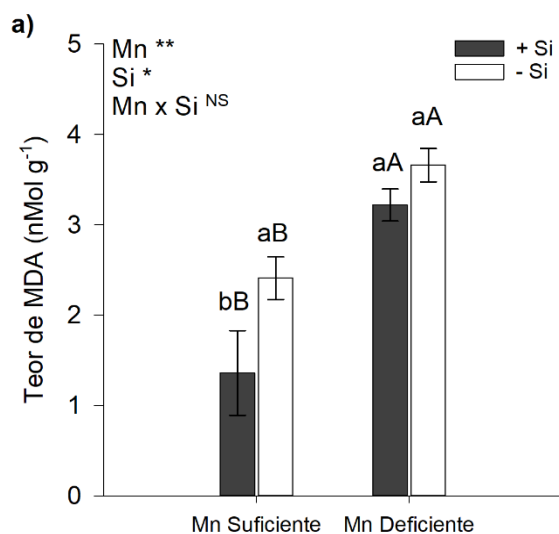
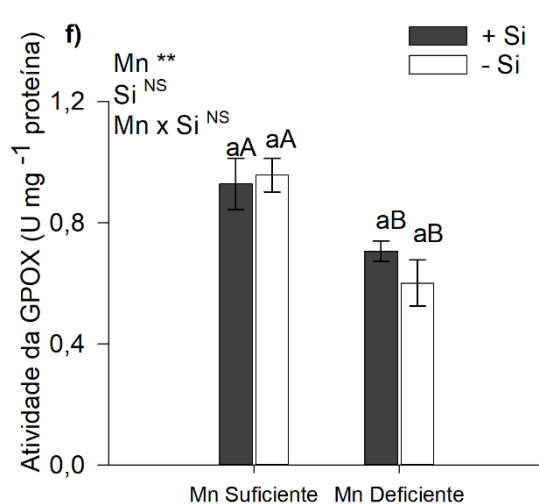
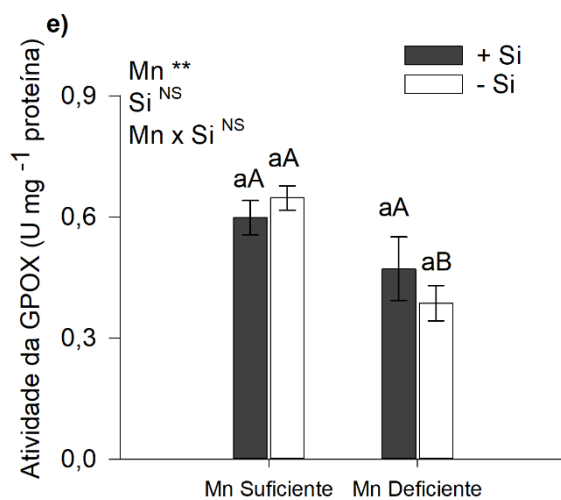
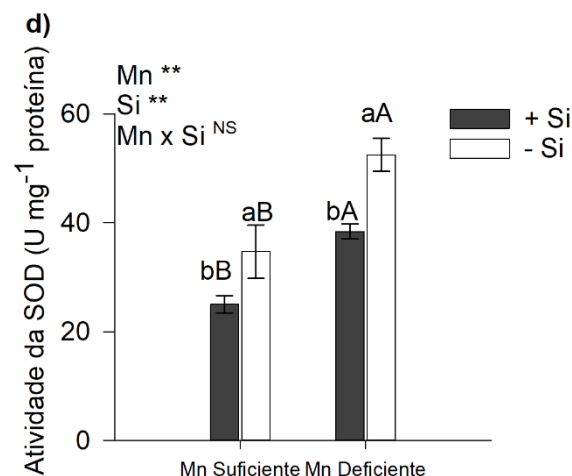
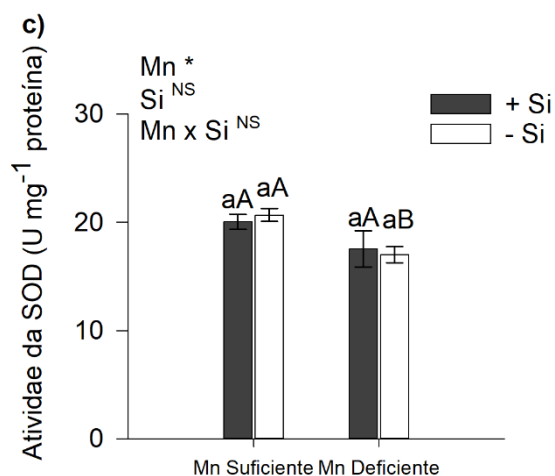
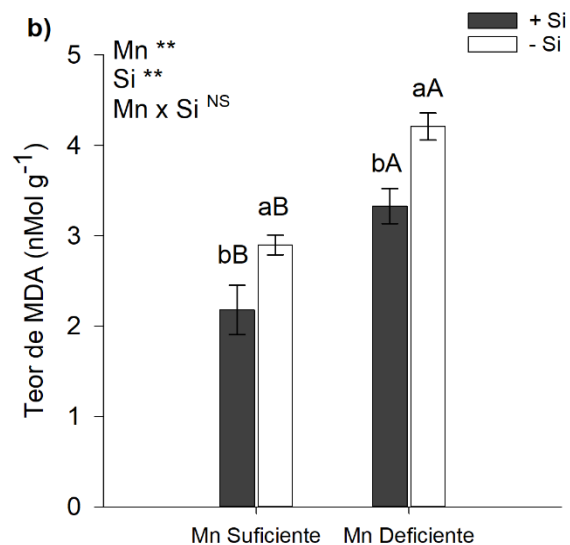
Figura 1. Acúmulo de Si (a, b) e Mn (c, d), eficiência de uso de Mn (e, f) em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.), respectivamente, cultivadas em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e na presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

3.2 Peroxidação lipídica (MDA), atividades da SOD e GPOX, e teor de fenóis totais

Houve aumento do teor de MDA em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia deficientes de Mn em relação às plantas cultivadas em solução nutritiva suficiente em Mn. A presença de Si na solução nutritiva em relação a sua ausência diminuiu o teor de MDA (em 44%) em plantas de cana-de-açúcar com suficiência de Mn na solução nutritiva (Figura 2a). Nas plantas de cana-energia cultivadas na presença de Si em relação a ausência de Si, houve diminuição do teor de MDA em 25 e 21%, nas plantas suficientes em Mn e nas plantas deficientes em Mn, respectivamente (Figura 2b).

A cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva sob deficiência de Mn em relação as plantas suficientes em Mn e na ausência de Si na solução nutritiva apresentaram menores atividades da SOD e da GPOX (Figura 2c e 2e). As plantas de cana-energia deficientes em Mn em relação as suficientes de Mn cultivadas na ausência de Si na solução nutritiva apresentaram maior atividade da SOD. No entanto, a presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si na cana-energia, reduziu a atividade da SOD nas plantas sob suficiência de Mn (28%) e na deficiência de Mn (24%) (Figura 2d). Houve diminuição da atividade da GPOX nas plantas de cana-energia cultivada em solução nutritiva sob deficiência de Mn em relação as plantas suficientes de Mn e que não receberam o Si. A presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si não influenciou a atividade da GPOX na cana-energia nos dois status de Mn (deficiente e suficiente) (Figura 2f).

Houve diminuição do teor de fenóis totais em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas sob deficiência de Mn em relação às plantas suficientes de Mn e que não receberam Si. Houve aumento do teor de fenóis totais em 20% nas plantas de cana-de-açúcar cultivadas na solução nutritiva sob presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si nas plantas suficientes de Mn (Figura 2g). Em plantas de cana-energia, a presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si incrementou o teor de fenóis totais em plantas deficientes de Mn (18%) e também nas plantas suficientes de Mn (16%) (Figura 2h).

Saccharum officinarum L.*Saccharum spontaneum* L.

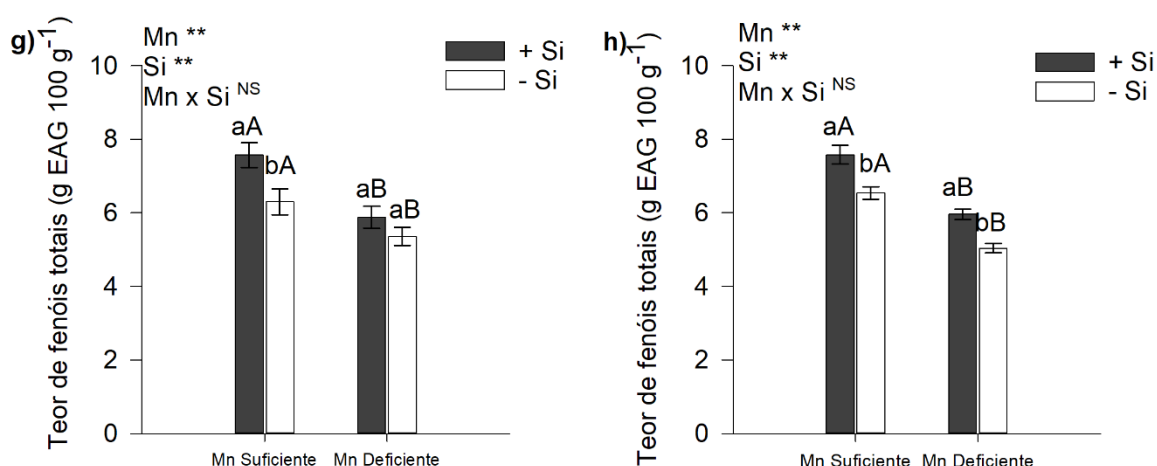


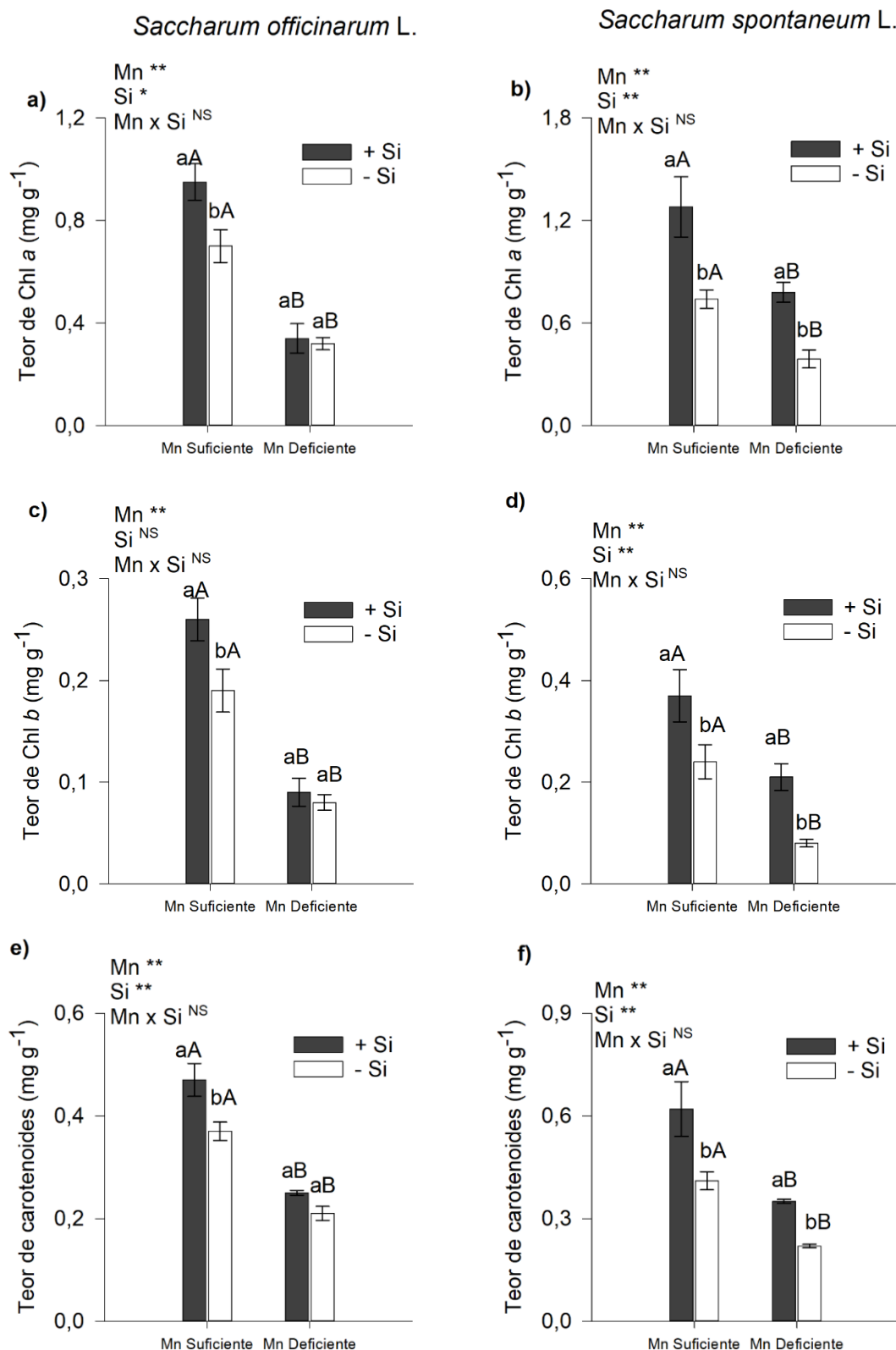
Figura 2. Teor de MDA (a, b), atividade da superóxido dismutase (SOD) (c, d), guaiacol peroxidase (GPOX) (e, f) e teor de fenóis totais (g, h) folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.), respectivamente, cultivadas em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

3.3 Teor de pigmentos e eficiência quântica do FSII

Houve diminuição do teor de pigmentos (teor Chl *a*, *b*, carotenoides) nas plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas (Figura 3a-f) em solução nutritiva sob deficiência de Mn em relação a suficiente de Mn e que não receberam Si na solução nutritiva. A presença de Si na solução nutritiva em relação a sua ausência incrementou o teor de Chl *a*, Chl *b* e carotenoides (27%) em plantas de cana-de-açúcar sob suficiência de Mn (Figura 3a, c, e). Enquanto em cana-energia, a presença de Si na solução nutritiva em relação ausência de Si incrementou os teores de Chl *a* (Figura 3b), Chl *b* (Figura 3d) e os teores de carotenoides em 64% e 51% (Figura 3f) nas plantas deficiente de Mn e na suficiente de Mn, respectivamente.

Houve diminuição da eficiência quântica do FS II em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas em solução nutritiva deficiente em Mn em relação a suficiência de Mn e que não recebeu Si na solução nutritiva (Figura 3g e 3h). A presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si incrementou a eficiência quântica do FSII em plantas de cana-de-açúcar sob suficiência de Mn

(Figura 3g). Em cana-energia, a presença de Si na solução nutritiva em relação ausência de Si incrementou a eficiência quântica do FS II na deficiência de Mn e na suficiência de Mn (Figura 3h).



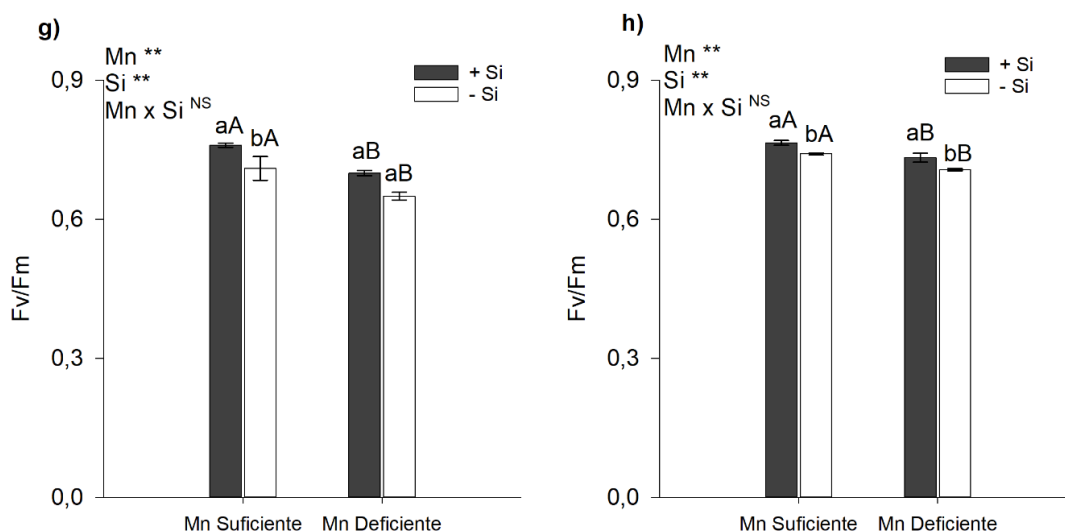


Figura 3. Teor de clorofila *a* (a, b), clorofila *b* (c, d), carotenoides (e, f) e, eficiência quântica do fotossistema II (g, h) de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.), respectivamente, cultivadas em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

O teor de proteína na cana-de-açúcar não foi influenciado pelas condições suficiências ou deficiências de Mn, e pela ausência e presença de Si na solução nutritiva (Figura 4a). Houve diminuição do teor de proteína em plantas de cana-energia cultivadas sob deficiência de Mn em relação às plantas suficientes em Mn que não receberam Si na solução nutritiva. A presença do Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si incrementou os teores de proteína em cana-energia sob deficiência de Mn e também na suficiência de Mn (Figura 4b).

Houve diminuição da área foliar e da massa seca das plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia deficiente de Mn em relação às plantas suficientes em Mn e que não receberam Si. A presença de Si em relação a sua ausência na solução nutritiva incrementou a área foliar da cana-de-açúcar nas plantas cultivadas em solução nutritiva suficiente de Mn (Figura 4c). Já em cana-energia, a presença de Si na solução nutritiva em relação a ausência de Si incrementou a área foliar nas plantas deficientes de Mn e nas suficientes de Mn (Figura 4d).

Houve aumento da massa seca de plantas de cana-de-açúcar suficientes em Mn (11%) quando cultivadas em solução nutritiva com Si em relação a ausência de Si (Figura 4e). Já em cana-energia, a presença de Si em relação a ausência de Si na solução nutritiva proporcionou incrementos de 22 e 25% na massa seca de plantas na suficiência de Mn e na deficiência de Mn, respectivamente (Figura 4f).

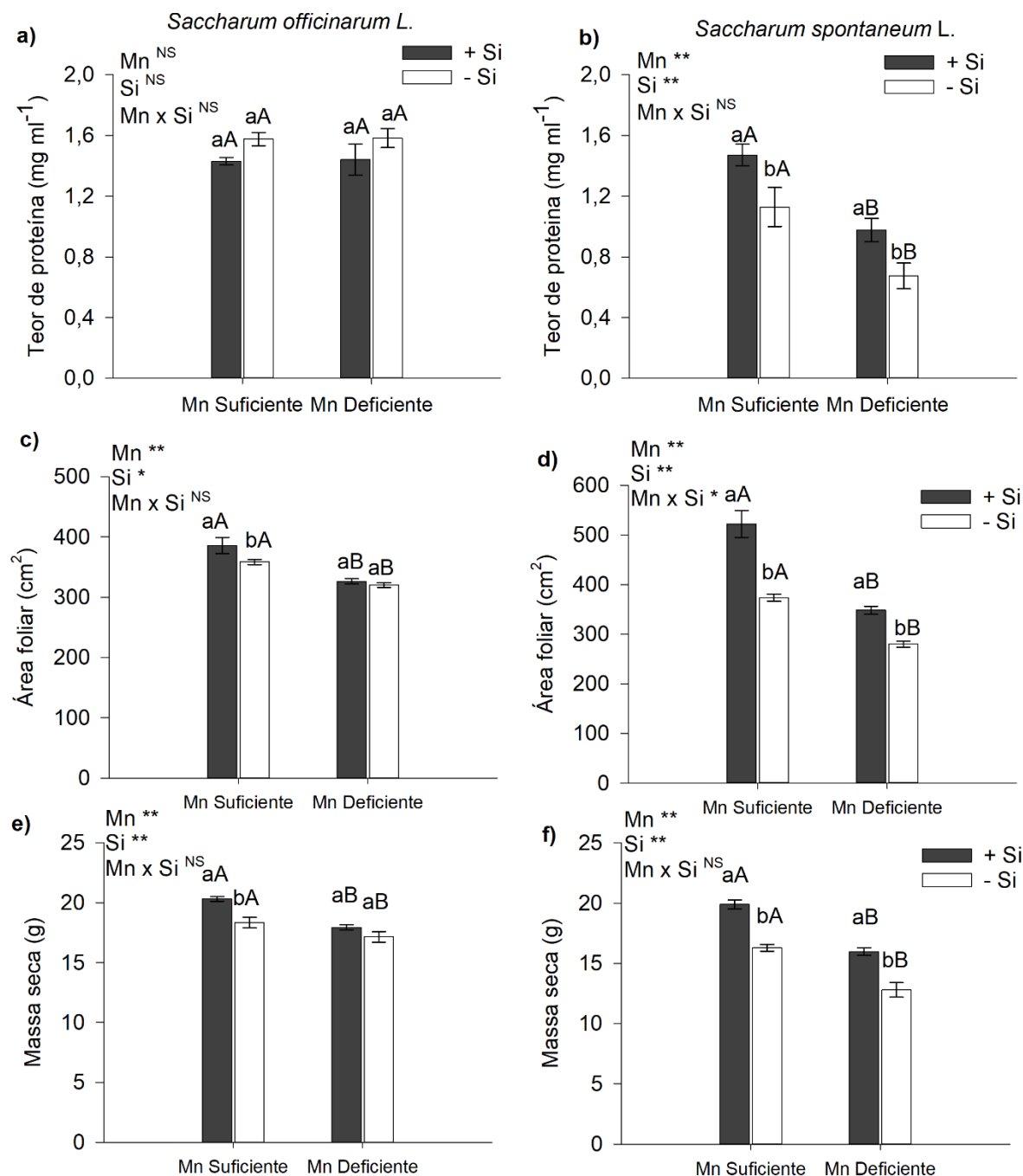


Figura 4. Teor de proteína (a, b) área foliar (c, d) e massa seca total (e, f) de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L. e cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.) respectivamente, cultivadas em solução nutritiva suficiente

e deficiente de Mn na ausência (-Si) e presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

4 Discussão

As plantas das duas espécies cultivadas na solução nutritiva deficiente em Mn com ou sem Si diminuiu a absorção deste micronutriente e, conseqüentemente, causou prejuízos biológicos nas plantas de cana.

A deficiência de Mn promoveu aumento de ERO, como observado em sorgo (de Oliveira et al., 2019), o mesmo, foi observado neste estudo, resultando em incremento do teor de MDA nas duas espécies estudadas sem adição de Si na solução nutritiva. Esta resposta da planta pode estar associada aos danos celulares ocasionados pelo excesso da produção de ERO no metabolismo, e/ou pela menor capacidade de eliminação das ERO pelos sistemas de defesa, que tem como resultado a formação de MDA que é um metabólito secundário resultante da degradação dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados (Geng et al., 2018) e indicador do estresse oxidativo. Este fato ainda não foi relatado para a cana-de-açúcar, mas foi observado em plantas de sorgo (de Oliveira et al., 2019) e de milho deficientes de Mn (Zhao et al., 2014).

De acordo com os resultados, na deficiência de Mn as repostas enzimáticas podem ser distintas a depender da espécie, apesar da ocorrência clara do estresse oxidativo pelo aumento da peroxidação lipídica. A atividade da SOD em plantas de cana-de-açúcar deficientes de Mn foi reduzida na ausência de Si, fato também relatado em outros estudos (Yu et al., 1998; de Oliveira et al., 2019).

Sabe-se que o Mn é cofator da enzima Mn-SOD nas plantas e é enzima chave no processo de dismutação do $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 (Millaleo et al., 2010; Broadley et al., 2012). A falta deste micronutriente pode diminuir a atividade desta enzima no metabolismo e, como consequência, o acúmulo de $O_2^{\cdot-}$ nas células provocando a degradação lipídica. No entanto, em cana-energia a atividade da SOD foi aumentada em plantas deficientes do micronutriente. Apesar do Mn ser um dos cofatores da SOD,

não é o único, e, portanto, a atividade total da SOD pode variar dependendo da espécie como reflexo da regulação das demais isoformas desta enzima, como a Cu/Zn-SOD e a Fe-SOD aumentando a atividade total da enzima (Yu e Rengel, 1999; Shenker et al., 2004). Além disso, um aumento da atividade da SOD em plantas deficientes de Mn sugere maior produção de ERO (Tewari et al., 2013). Portanto, é importante considerar que a atividade total da SOD pode ser distinta a depender da espécie mesmo que sob o mesmo tipo de estresse.

Assim como a SOD, as peroxidases fazem parte dos componentes do sistema de defesa, e controlam os teores de H_2O_2 produzidos no metabolismo tanto pela catalisação da SOD quanto de forma não enzimática (Sharma et al., 2012). Destaca-se que em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia deficiente em Mn houve diminuição da atividade da peroxidase estudada (GPOX). As menores atividades de outra peroxidase (APX) na deficiência de Mn já haviam sido relatadas e associada como uma das principais respostas a privação deste nutriente (Yu et al., 1988; Tewari et al., 2013). Esta menor atividade enzimática pode ter contribuído para a peroxidação lipídica vista em plantas deficientes de cana-energia, neste caso, pelo acúmulo excessivo de H_2O_2 que é substrato desta enzima e causa degradação celular (Sharma et al., 2012) pois a atividade da SOD foi alta nesta espécie.

Neste cenário, ficou evidenciado que a deficiência de Mn reduziu o teor de pigmentos fotossintéticos nas duas espécies estudadas devido ao estresse oxidativo pela ação direta das ERO que causam a desorganização dos tilacóides (Qu et al., 2012) e degradação das membranas celulares (Papadakis et al., 2007). Além disso, a deficiência de Mn diminuiu a eficiência quântica do FSII, pois causa redução dos complexos deste nutriente no núcleo do FSII induzindo desestabilização e desintegração deste fotossistema (Schmidt et al., 2016) e aumenta a formação de 1O_2 (Krieger-Liszkay et al., 2008), que pode aumentar a degradação das clorofilas. Associado a isto, as reduções nos teores de carotenoides e fenóis aumentam os danos às clorofilas pois podem proporcionar acúmulos de 1O_2 , oxigênio molecular ativo e do H_2O_2 , potencializando os danos oxidativos (Sharma et al., 2012).

A deficiência de Mn, por outro lado, não afetou os teores de proteína em plantas de cana-de-açúcar. No entanto, em plantas de cana-energia, a diminuição nos teores de proteína foi importante. O Mn ativa a RNA polimerase e enzimas da glicolisação

das proteínas (Ness e Woolhouse, 1980; Strasser et al., 2007) com reflexos na síntese de proteína, mas, segundo Broadley et al. (2012) a síntese de proteína não necessariamente será prejudicada ou até mesmo pode ser incrementada em tecidos deficientes em Mn como observado por Lerer e Bar-Akiva (1976). Em cana-energia, a diminuição nos teores de proteína em plantas deficientes do micronutriente pode ser resultado do estresse oxidativo devido à oxidação das proteínas pelas ERO sugerindo um dano nutricional acentuado da falta de Mn nesta espécie.

Diante dos danos causados às plantas pela deficiência de Mn, principalmente, em estruturas indispensáveis para a fotossíntese como os pigmentos e o FSII com reflexos no metabolismo oxidativo, justificam-se os prejuízos no crescimento das duas espécies dada a diminuição da área foliar e da produção de massa seca. Os efeitos que a deficiência de Mn causa na fotossíntese são os principais responsáveis pelo impacto que provoca no crescimento das plantas (Gong et al., 2011; Schmidt et al., 2016; de Oliveira et al., 2019).

Diante dos danos bioquímicos e fisiológicos da deficiência de Mn embora ainda não relatados na cana-de-açúcar e na cana-energia, indica a importância deste micronutriente nestas espécies, confirmando a necessidade de conhecer estratégias como o uso do Si para mitigar esses efeitos. Esta pesquisa trouxe respostas inéditas a esses questionamentos ao avaliar possíveis mecanismos de ação do Si e suas relações com Mn.

Inicialmente, foi observado que o fornecimento de Si na solução nutritiva foi eficiente para propiciar alto acúmulo de Si na cana-de-açúcar e na cana-energia cultivadas em solução nutritiva deficiente ou não de Mn. A alta quantidade acumulada de Si nestas plantas pode ser explicada pela elevada capacidade de absorção radicular deste elemento pela cultura (Savant et al., 1999; Yan et al., 2018), ocasionado pela presença de transportadores específicos deste elemento responsáveis pela sua absorção (Mitani et al., 2008). A capacidade de acumular Si em plantas de *S. spontaneum* L., ainda não relatada, confirma que trata de uma espécie que apresenta alta absorção do elemento, semelhante a *S. officinarum* L.

O incremento da absorção de Si pelas plantas favoreceu a absorção de Mn nas duas espécies estudadas independentemente da deficiência ou da suficiência do micronutriente. Este resultado é importante pois contribui para compreensão do papel

do Si na absorção de Mn e um dos motivos para que este elemento favoreça a nutrição de Mn seja na condição de suficiência ou deficiência. Quanto maior é a absorção de Mn pela planta tem-se expectativa em ampliar as respostas nutricionais e fisiológicas da planta a esse micronutriente. Portanto, este é um achado para as espécies estudadas, havendo relatos apenas em outras gramíneas como plantas de sorgo sob deficiência de Mn (Oliveira et al., 2020) e em plantas de milho e trigo sem deficiência deste micronutriente (Greger et al., 2018). Uma explicação do efeito benéfico do Si na absorção de Mn seria pelo fato da regulação da atividade de H^+ -ATPases (Liang et al., 2006; Kim et al., 2014, Xu et al., 2015) , bem como de transportadores específicos de Mn como IRT1 e AtNramp (Bao et al., 2021), que são responsáveis por gerar gradiente eletroquímico para absorção dos nutrientes incluindo transportadores de Mn na membrana (Socha e Guerinot, 2014; Zhang et al., 2017) e já foram identificados em cana-de-açúcar (Figueira et al., 2001).

O aumento na absorção de Mn provocado pela adição de Si em cana-de-açúcar suficientes em Mn e em cana-energia tanto suficientes como deficientes no micronutriente explica o incremento no teor de fenóis totais. Isto ocorreu segundo Lidon et al. (2004), porque o Mn participa da biossíntese de compostos fenólicos a partir da ativação de enzimas envolvidas na formação de metabólitos secundários precursores dos fenóis (Burnell, 1988). Além disso, o próprio Si incrementa este composto antioxidante (Mendonça et al., 2013). Soma-se a isso o fato de que com o incremento de Mn pelo Si proporcionou incrementos de outro antioxidante importante, os carotenoides, pois o Mn ativa a enzima fitoeno sintase que atua na biossíntese dos isoprenoides, que são precursores deste pigmento (Wilkinson e Ohki, 1988). Portanto, pode ter ação conjunta do Mn e do Si no aumento dos teores destes dois antioxidantes não enzimáticos nas duas espécies estudadas.

Com isso, o aumento de fenóis proporcionado pelo Si auxilia o sistema de defesa das plantas submetida a diferentes estresses (Gomes et al., 2005; Vega et al., 2019) e em plantas sem estresse (Mendonça et al., 2013). Sabe-se que os fenóis atuam no equilíbrio do sistema antioxidante, com eliminação direta do oxigênio molecular ativo e do H_2O_2 , inibindo a peroxidação lipídica (Sharma et al., 2012). Associado a isto, plantas deficientes e suficientes em Mn com Si tiveram reduções na atividade da SOD em cana-energia, porém com redução da peroxidação lipídica,

podendo estar relacionado a uma redução de $O_2^{\cdot-}$ produzidos na presença do elemento benéfico em resposta da melhor Fv/Fm destas plantas. Portanto, isso sugere menores perdas de elétrons da cadeia transportadora nos fotossistemas II e I nos cloroplastos, pois são estes elétrons que reduzem o oxigênio molecular (O_2) formando o $O_2^{\cdot-}$ (Pospíšil, 2012) aliado a ação de outros compostos antioxidantes e não com a ação direta da SOD neste caso.

Reduções na atividade da SOD na presença de Si já foram observadas em outros trabalhos (Šimková et al., 2016; Kim et al., 2017; Delavar et al., 2018), inclusive em cana-de-açúcar (Bezerra et al., 2019) e variam com a espécie. Apesar disso, houve reduções do estresse oxidativo pelo Si, estando associados a ação de outros componentes ligados ao metabolismo antioxidante enzimático e não enzimático.

Os carotenoides, por sua vez, têm papel fundamental na proteção do aparato fotossintético contribuindo para diminuir a formação do oxigênio singlete (1O_2), que é formado pela deficiência na dissipação de energia pelo FSII (Sharma et al., 2012). Portanto, a ação do Si com mecanismos de redução da produção de ERO ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , 1O_2) e em aumentar os compostos antioxidantes, que reduzem as concentrações de H_2O_2 (fenóis) e 1O_2 (carotenoides), pode ter contribuído para as reduções na peroxidação lipídica observada. A regulação da atividade das enzimas antioxidantes foi relatada apenas em plantas de sorgo cultivado sob deficiência de Mn modulando a atividade das enzimas SOD e ascorbato peroxidase (APX) (de Oliveira et al., 2019). No entanto, a ação do Si no sistema antioxidante enzimático e não enzimático são observadas em outros estresses em trabalhos recentes, indicando benefícios do Si na redução da peroxidação lipídica (Ur-Rahman et al., 2020; Ur-Rahman et al., 2021).

Apesar de em cana-de-açúcar o Si não ter beneficiado os complexos enzimáticos SOD e GPOX, a redução na peroxidação lipídica em plantas suficientes pode ter sido resultado da ação dos fenóis e carotenoides estudados nesta espécie, pois ambos atuam em ERO importantes que degradam as células potencializando o metabolismo e reduzindo os danos naturais às células de plantas sem deficiência de Mn. Mas também, o Si pode ter auxiliado outros complexos do sistema de defesa que não foram estudados, podendo ser foco de futuros estudos.

Estes efeitos do Si ainda não tinham sido relatados em *S. officinarum* L. e *S. spontaneum* L., e isso, revela os benefícios do Si na redução de MDA nas folhas das

espécies avaliadas como resultado da modulação do sistema antioxidante. Essas ações podem ter retardado a degradação natural da clorofila que resultou em incremento dos pigmentos das folhas da cana-de-açúcar e de cana-energia na suficiência de Mn. Contudo, em plantas de cana-energia deficientes de Mn, a presença do Si também diminuiu a degradação da clorofila. Isto ocorre porque o Si promoveu incremento do acúmulo de Mn na planta. Segundo Qu et al. (2012), é conhecido que o Mn diminui os danos aos cloroplastos por estar envolvido na síntese de lipídeos. Somado a isto, pode ter ocorrido supressão do acúmulo de ERO nos cloroplastos associado à melhoria do sistema antioxidante, que podem ter reduzido a oxidação dos pigmentos existentes explicando o incremento deste pigmento em plantas sob estresse por deficiência. Relatos de menor degradação da clorofila pelo Si já foram descritos por Gonzalo et al. (2013) em soja e pepino e por Bityutskii et al. (2014) também em pepino.

Nas plantas de cana-energia, a aplicação de Si promoveu incremento na eficiência de uso de Mn e o teor de proteína tanto na suficiência quanto na deficiência deste micronutriente. Em plantas suficientes em Mn, os benefícios fisiológicos proporcionados por esse micronutriente como aumento dos pigmentos e eficiência do FSII podem ter elevado a fotossíntese refletindo no aumento da síntese de proteínas. Em plantas deficientes de Mn, além dos benefícios fisiológicos, a redução do estresse oxidativo proporcionado pelo Si, reduziu os danos aos componentes celulares, inclusive as proteínas que justifica os aumentos nos teores de proteínas.

Em plantas de arroz sob estresse de cádmio, o Si regulou seis categorias de proteínas, incluindo as envolvidas na síntese proteica (Nwugo e Huerta, 2011), demonstrando os benefícios do Si na síntese de proteína em condições de estresse. Portanto, as melhorias nutricionais, bioquímicas e fisiológicas discutidas anteriormente propiciaram maiores conversões de fotoassimilados em massa seca, visto em outras gramíneas sem e com o estresse pela deficiência de Mn (Moradtalab et al., 2018; de Oliveira et al., 2019) como também o teor de proteína (Zhu et al., 2004; Fleck et al., 2010).

Em cana-de-açúcar a presença de Si, não afetou a eficiência de uso e os teores de proteína das plantas. Sabe-se que a eficiência de uso é modulada em parte pela capacidade e características genéticas que são intrínsecas a espécie ou cultivar

(Baligar et al., 2001). Da mesma forma, a ação do Si sobre a proteína solúvel depende da condição submetida às plantas e ao metabolismo da espécie. Neste estudo foi visto que o Si não atuou na deficiência de Mn em cana-de-açúcar, mas existem relatos que os benefícios do Si em aumentar os teores de proteína são vistos em plantas sob maior nível de estresse (Gong et al., 2008; Latef e Tran, 2016) estando associados também as reduções das ERO. Portanto, isso ocorreu por se tratar de diferentes espécies estudadas e variações metabólicas.

Os benefícios promovidos pela aplicação do Si na solução nutritiva especialmente em cana-energia sob deficiência ou não de Mn e na cana-de-açúcar sob suficiência de Mn refletiu, na mesma proporção, no crescimento destas espécies dado aumento da área foliar e da massa seca. Sabe-se que o Si beneficia as plantas principalmente em condições de estresse (Epstein, 2009), fato que ocorreu na cana-energia, mas não com a cana-de-açúcar. É possível que isso deve-se ao fato de que a deficiência deste micronutriente foi mais severa na cana-energia devido a diminuição mais drástica da massa seca nesta espécie (22%) comparada a cana-convencional (7%). Portanto, o Si não foi importante para atenuar a deficiência leve do micronutriente na cana-de-açúcar. O esse elemento nesta condição, não aumentou os fenóis totais, carotenoides e atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPOX que poderiam agir para manutenção da homeostase das ERO e, conseqüentemente, melhorar o teor de pigmentos, a eficiência quântica do FSII, a eficiência de uso do Mn refletindo no crescimento da planta.

No entanto, em deficiência mais severa de Mn visto em cana-energia, o Si aumentou o acúmulo do micronutriente, que refletiu em ganhos fisiológicos constatados pelo aumento do teor de pigmentos e da eficiência quântica do FSII, além de bioquímicos, pela redução da peroxidação lipídica (MDA) e aumentos de antioxidantes não enzimáticos (fenóis e carotenoides). Estas respostas resultaram em maior eficiência de uso de Mn, teor de proteínas e levou a aumentos na produção de massa seca. Benefícios do Si na matéria seca de plantas deficientes em Mn foi observado em plantas de arroz (Timotiwu et al., 2017) e de sorgo (de Oliveira et al., 2019).

As respostas benéficas da aplicação de Si em planta não estressada ficaram muito evidentes neste estudo visto nas duas espécies, dado incremento no

crescimento da planta explicado pelos incrementos no acúmulo de Mn, eficiência de uso do Mn e pigmentos. Este resultado reforça a indicação que o Si pode potencializar a resposta das plantas sem estresse devido ao aumento do acúmulo de Mn, como visto em milho e trigo (Greger et al., 2018), fenóis totais em trigo (Mendonça et al., 2013), e eficiência quântica do FSII e teor de clorofila em arroz (Van Bockhaven et al., 2015).

Portanto, observa-se que de forma geral o Si é capaz de amenizar os danos causados pela deficiência de Mn em plantas de cana-energia e potencializar as respostas das duas espécies ao fornecimento do micronutriente a partir do aumento da absorção de Mn e da produção de compostos antioxidantes, pigmentos e eficiência quântica do FSII. Este fato concorda com a hipótese deste estudo que indicava esses efeitos do Si nas duas espécies e que poderia ser mais evidenciado em plantas sob estresse, mas que poderia depender da espécie, fatos confirmados nesta pesquisa, pois foi visto que alterando a espécie as respostas foram distintas.

Por fim, foi desvendada a relação benéfica do Si com Mn e propõem-se a indicação deste elemento benéfico via raiz nos cultivos da cana-de-açúcar sem deficiência de Mn e da cana-energia com ou sem deficiência de Mn para aumentar a sustentabilidade dos cultivos destas espécies a partir de melhor gestão no fornecimento do micronutriente.

5 Conclusão

A cana-de-açúcar e a cana-energia são sensíveis a deficiência de Mn por causar danos biológicos importantes. Ao mesmo tempo, estas duas espécies são responsivas a aplicação deste micronutriente por apresentar melhorias no metabolismo antioxidante e fisiológico com aumento dos fenóis totais, atividade da GPOX, pigmentos e eficiência quântica do FSII.

A atenuação dos efeitos da deficiência de manganês pelo silício depende da espécie e do nível de estresse, havendo maior benefício para *Saccharum spontaneum* L. A atuação do elemento benéfico reflete no incremento do acúmulo do Mn que reduz o estresse oxidativo, por aumentar compostos antioxidantes, regular a atividade da SOD, e incrementar o teor de clorofila, a eficiência quântica do FSII, a eficiência de

uso do Mn e o crescimento, podendo ser ferramenta para melhorar o desempenho desta espécie em solos deficientes em Mn.

6 Referências

Baligar VC, Fageria NK, He ZL (2001) Nutrient use efficiency in plants. **Communications of Soil Science and Plant Analysis** 32: 921–950. doi:10.1081/CSS-100104098

Bao Q, Bao W, Li Y, Zhang S, Lian F, Huang Y (2021) Silicon combined with foliar melatonin for reducing the absorption and translocation of Cd and As by *Oryza sativa* L. in two contaminated soils. **Journal of Environmental Management** 287: 112343. doi:10.1016/j.jenvman.2021.112343

Bataglia OC, Furlani AMC, Teixeira JPF, Furlani PR, Gallo JR (1983) **Métodos de análise química de plantas**. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 48p. (Boletim Técnico 78).

Bezerra BKL, Lima GPP, dos Reis AR, Silva MA, Camargo MS (2019) Physiological and biochemical impacts of silicon against water deficit in sugarcane. **Acta Physiologiae Plantarum** 41:189. doi:10.1007/s11738-019-2980-0

Bityutskii N, Pavlovic J, Yakkonen K, Maksimović V, Nikolic M (2014) Contrasting effect of silicon on iron, zinc and manganese status and accumulation of metal-mobilizing compounds in micronutrient-deficient cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry** 74: 205–221. doi:10.1016/j.plaphy.2013.11.015

Boaretto LF, Carvalho G, Borgo L, Creste S, Landell MGA, Mazzafera P, Azevedo RA (2014) Plant physiology and biochemistry water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry** 74:165–175. doi:10.1016/j.plaphy.2013.11.016

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3

Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: micronutrients. In.: Marschner P (Ed.) **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd Edn, Oxford: Elsevier, p.191–249.

Burnell JN (1988) The biochemistry of manganese in plants. In.: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC (Eds.) **Manganese in Soils and Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 125-137.

Carvalho-Netto OV, Bressiani JA, Soriano HL, Fiori CS, Santos JM, Barbosa GV, Xavier MA, Landell MG, Pereira GA (2014) The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture** 1:20. doi:10.1186/s40538-014-0020-2

Cavalcante VS, Prado RM, Vasconcelos RL, Campos CNS (2016) Iron concentrations in sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) cultivated in nutrient solution. **Agrociencia** 50:867–875

Cembrowska-Lech D, Koprowski M, Kępczyński J (2015) Germination induction of dormant *Avena fatua* caryopses by KAR1 and GA3 involving the control of reactive oxygen species (H_2O_2 and O_2^-) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase and catalase) both in the embryo and the aleurone layers. **Journal of Plant Physiology** 176:169–179. doi:10.1016/j.jplph.2014.11.010

Delavar K, Ghanati F, Behmanesh M, Zare-Maivan H (2018) Physiological Parameters of Silicon-Treated Maize Under Salt Stress Conditions. **Silicon** 10: 2585-2592. doi:10.1007/s12633-018-9794-3

de Oliveira RLL, de Mello Prado R, Felisberto G, Checchio MV, Gratão PL (2019) Silicon Mitigates Manganese Deficiency Stress by Regulating the Physiology and Activity of Antioxidant Enzymes in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 19: 524-534. doi: 10.1007/s42729-019-00051-w

Epstein E (2009) Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology** 155: 155–160. doi:10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x

Figueira A, Kido EA, Almeida RS (2001) Identifying sugarcane expressed sequences associated with nutrient transporters and peptide metal chelators. **Genetics and Molecular Biology** 24: 207-220. doi:10.1590/S1415-47572001000100028

Fleck AT, Nye T, Repenning C, Stahl F, Zahn M, Schenk M (2010) Silicon enhances suberization and lignification in roots of rice (*Oryza sativa*). **Journal of Experimental Botany** 62: 2001–2011. doi:10.1093/jxb/erq392

Geng A, Wang X, Wu L, Wang F, Wu Z, Yang H, Chen Y, Wen D, Liu X (2018) Silicon improves growth and alleviates oxidative stress in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by strengthening antioxidant defense and enhancing protein metabolism under arsanilic acid exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 158: 266–273. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.03.050

Gomes FB, Moraes JC, Santos CD, Goussain MM (2005) Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola** 62: 547-551. doi:10.1590/S0103-90162005000600006

Gomes-Junior RA, Moldes CA, Delite FS, Gratão PL, Mazzafera P, Lea PJ, Azevedo RA (2006) Nickel elicits a fast antioxidante response in *Coffea arabica* cells. **Plant Physiology and Biochemistry** 44: 420-429. doi:10.1016/j.plaphy.2006.06.002

Gong HJ, Chen KM, Zhao ZG, Zhou WJ (2008) Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. **Biologia Planarum** 52: 592–596. doi:10.1007/s10535-008-0118-0

Gong X, Hong M, Wang Y, Zhou M, Cai J, Liu C, Gong S, Hong F (2011) Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency. **Biological Trace Element Research** 141: 305–316. doi:10.1007/s12011-010-8716-z

Gonzalo MJ, Lucena JJ, Hernández-Apaolaza L (2013) Effect of silicon addition on soybean (*Glycine max*) and cucumber (*Cucumis sativus*) plants grown under iron deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry** 70: 455–461. doi:10.1016/j.plaphy.2013.06.007

Gratão PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 56:79–96. doi:10.1016/j.plaphy.2012.04.009

Greger M, Landberg T, Vaculík M (2018) Silicon Influences Soil Availability and Accumulation of Mineral Nutrients in Various Plant Species. **Plants** 7: 41. doi:10.3390/plants7020041

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 125:189–198. doi:10.1016/0003-9861(68)90654-1

Hoagland DR, Arnon DI (1950) **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: Circular 247, 32p.

Hörtensteiner S, Kräutler B (2011) Chlorophyll breakdown in higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics** 1807: 977-988. doi:10.1016/j.bbabi.2010.12.007

Hue N, Mai Y (2002) Manganese toxicity in watermelon as affected by lime and compost amended to a Hawaiian acid Oxisol. **HortScience** 37: 656-661. doi:10.21273/HORTSCI.37.4.656

Husted S, Laursen KH, Hebbern CA, Schmidt SB, Peadar P, Haldrup A, Jensen PE (2009) Manganese Deficiency Leads to Genotype-Specific Changes in Fluorescence Induction Kinetics and State Transitions. **Plant Physiology** 150: 825–833. doi:10.1104/pp.108.134601

Kim Y, Khan AL, et al. (2014) Silicon mitigates heavy metal stress by regulating P-type heavy metal ATPases, *Oryza sativa* low silicon genes, and endogenous phytohormones. **BMC Plant Biology** 14: 13. doi:10.1186/1471-2229-14-13

Kim Y-H, Khan AL, 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. doi:10.3389/fpls.2017.00510

Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A (Eds) (2004) **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. Uberlândia: UFU, 50p.

Kraska JE, Breitenbeck GA (2010) Simple, robust method for quantifying silicon in plant tissue. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 41:2075–2085. doi:10.1080/00103624.2010.498537

Krieger-Liszkay A, Fufezan C, Trebst A (2008) Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. **Photosynthesis Research** 98: 551–564. doi:10.1007/s11120-008-9349-3

Latef AAA, Tran LSP (2016) Impacts of Priming with Silicon on the Growth and Tolerance of Maize Plants to Alkaline Stress. **Frontiers in Plant Science** 7: 243. doi:10.3389/fpls.2016.00243

Lerer M, Bar-Akiva A (1976) Nitrogen Constituents in Manganese-Deficient Lemon Leaves. **Physiologia Plantarum** 38: 13–18. doi:10.1111/j.1399-3054.1976.tb04850.x

Liang Y, Zhang W, Chen Q, Liu Y, Ding R (2006) Effect of exogenous silicon (Si) on H⁺-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Environmental and Experimental Botany** 57: 212–219. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.05.012

Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148: 350-382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lidon FC, Barreiro MC, Ramalho JC (2004) Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology** 161: 1235-1244. doi:10.1016/j.jplph.2004.02.003

Malavolta E (Ed.) (2006) Manual de Nutrição de Plantas. São Paulo: Agronômica Ceres, 638p.

Matsuoka S, Rubio LCS (2019) Energy Cane: A Sound Alternative of a Bioenergy Crop for Tropics and Subtropics. In.: Khan M, Khan I (Eds.) **Sugarcane Biofuels**. Springer, Cham. p. 39-66. doi:10.1007/978-3-030-18597-8_3

Mellis EV, Quaggio JA, Becari GRG, Teixeira LAJ, Cantarella H, Dias FLF (2016) Effect of Micronutrients Soil Supplementation on Sugarcane in Different Production Environments: Cane Plant Cycle. **Agronomy Journal** 108: 2060-2070. doi:10.2134/agronj2015.0563

Mendonça AO, Tavares LC, Brunes AP, Monzón DLR, Villela FA (2013) Acúmulo de silício e compostos fenólicos na parte aérea de plantas de trigo após a adubação silicatada. **Bioscience Journal** 29: 1154-1162.

Millaleo M, Reyes-Diaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M (2010) Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 10: 470-481. doi:10.4067/S0718-95162010000200008

Mitani N, Ma JF (2005) Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany** 56: 1255–1261. doi:10.1093/jxb/eri121

Mitani N, Yamaji N, Ma JF (2008) Identification of maize silicon influx transporters. **Plant & Cell Physiology** 50: 5-12. doi:10.1093/pcp/pcn110

Moradtalab N, Weinmann M, Walker F, Höglinger B, Ludewig U, Neumann G (2018) Silicon improves chilling tolerance during early growth of maize by effects on micronutrient homeostasis and hormonal balances. **Frontiers in Plant Science** 9: 1–17. doi:10.3389/fpls.2018.00420

Mousavi SR, Shahsavari M, Rezaei M (2011) A General Overview On Manganese (Mn) Importance For Crops Production. **Australian Journal of Basic Applied Sciences** 5: 1799–1803.

Ness PJ, Woolhouse HW (1980) RNA synthesis in Phaseolus chloroplasts: I. Ribonucleic acid synthesis in chloroplast preparations from *Phaseolus vulgaris* L. Leaves and solubilization of the RNA polymerase. **Journal of Experimental Botany** 31: 223–233.

Nwugo CC, Huerta AJ (2011) The Effect of Silicon on the Leaf Proteome of Rice (*Oryza sativa* L.) Plants under Cadmium-Stress. **Journal of Proteome Research** 10: 518–528. doi:10.1021/pr100716h

Oliveira KS, de Mello Prado R, Guedes VH (2020) Leaf spraying of manganese with silicon addition is agronomically viable for corn and sorghum plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 872-880. doi:10.1007/s42729-020-00173-6

Orlando Filho J (1993) Calagem e adubação da cana-de-açúcar. In.: Câmara GMS, Oliveira EAM (Ed.) **Produção de Cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, p.133-46.

Papadakis IE, Giannakoula A, Therios IN, Bosabalidis AM, Moustakas M, Nastou A (2007) Mn-induced changes in leaf structure and chloroplast ultrastructure of *Citrus volkameriana* (L.) plants. **Journal of Plant Physiology** 164: 100–103. doi:10.1016/j.jplph.2006.04.011

Pospíšil P (2012) Molecular mechanisms of production and scavenging of reactive oxygen species by photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics** 1817: 218–31. doi:10.1016/j.bbabi.2011.05.017

Qu C, Gong X, Liu C, Hong M, Wang L, Hong F (2012) Effects of manganese deficiency and added cerium on photochemical efficiency of maize chloroplasts. **Biological Trace Element Research** 146: 94–100. doi:10.1007/s12011-011-9218-3

Rodrigues WS, Pereira YC, de Souza ALM, Batista BL, Lobato AK de S (2020) Alleviation of Oxidative Stress Induced by 24-Epibrassinolide in Soybean Plants Exposed to Different Manganese Supplies: Up Regulation of Antioxidant Enzymes and Maintenance of Photosynthetic Pigments. **Journal of Plant Growth Regulation** 39: 1425-1440. doi:10.1007/s00344-020-10091-7

Savant NK, Korndörfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: a review. **Journal of Plant Nutrition** 22: 1853–1903. doi:10.1080/01904169909365761

Schmidt SB, Jensen PE, Husted S (2016) Manganese deficiency in plants: The impact on photosystem II. **Trends in Plant Science** 21: 622-632. doi:10.1016/j.tplants.2016.03.001

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany** 2012: 1–26. doi:10.1155/2012/217037

Shenker M, Plessner OE, Tel-Or E (2004) Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. **Journal of Plant Physiology** 161: 197–202. doi:10.1078/0176-1617-00931

Siddiqi MY, Glass AD (1981) Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition** 4: 289–302. doi:10.1080/01904168109362919

Šimková L, Fialová I, Vaculíková M, Luxová M (2016) The Effect of Silicon on the Activity and Isozymes Pattern of Antioxidative Enzymes of Young Maize Roots under Zinc Stress. **Silicon** 10:2907-2910. doi:10.1007/s12633-015-9376-6

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture** 16: 144-158.

Socha AL, Guerinot ML (2014) Mn-euvering manganese: the role of transporter gene family members in manganese uptake and mobilization in plants. **Frontiers in Plant Science** 5: 106. doi:10.3389/fpls.2014.00106

Strasser R, Bondili JS, et al. (2007) A unique β 1,3-galactosyltransferase is indispensable for the biosynthesis of N-glycans containing Lewis a structures in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell** 19: 2278–2292. doi:10.1105/tpc.107.052985

Tewari RK, Kumar P, Sharma PN (2013) Oxidative stress and antioxidant responses of mulberry (*Morus alba*) plants subjected to deficiency and excess of manganese. **Acta Physiologiae Plantarum** 35: 3345–3356. doi:10.1007/s11738-013-1367-x

Timotiwi B, Nurmauli N, Yulianti P (2017) Application of manganese and silica through leaves and their effect on growth and yield of rice field in village of Sinar Agung, Sub-district of PulauPangung, District of Tanggamus, Lampung Province, Indonesia. **Journal of Agricultural Science** 4: 48-60.

Ur-Rahman S, Xuebin Q, Yatao x, Ahmad MI, Shehzad M, Zain M (2020) Silicon and Its Application Methods Improve Physiological Traits and Antioxidants in *Triticum aestivum* (L.) Under Cadmium Stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 1110–1121. doi:10.1007/s42729-020-00197-y

Ur-Rahman S, Xuebin Q, Zhao Z, Du Z, Imtiaz M, Mehmood F, Hongfei L, Hussain B, Ashraf N (2021) Alleviatory effects of Silicon on the morphology, physiology, and antioxidative mechanisms of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots under cadmium stress in acidic nutrient solutions. **Scientific Reports** 11: 1958. doi:10.1038/s41598-020-80808-x

Van Bockhaven J, Steppe K, Bauweraerts I, Kikuchi S, Asano T, Höfte M, Vleeschauwer DD (2015) Primary metabolism plays a central role in moulding silicon-inducible brown spot resistance in rice. **Molecular Plant Pathology** 16: 811–824. doi:10.1111/mpp.12236

Vega I, Nikolic M, Pontigo S, Godoy K, Mora MdLL, Cartes P (2019) Silicon Improves the Production of High Antioxidant or Structural Phenolic Compounds in Barley Cultivars under Aluminum Stress. **Agronomy** 9: 388. doi:10.3390/agronomy9070388

Wilkinson RE, Ohki K (1988) Influence of manganese deficiency and toxicity on isoprenoid syntheses. **Plant Physiology** 87: 841–846 doi:10.1104/pp.87.4.841

Xu CX, Ma YP, Liu YL (2015) Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress. **South African Journal of Botany** 98: 26–36. doi:10.1016/j.sajb.2015.01.008

Yan G, Nikolic M, Ye M, Xiao Z, Liang Y (2018) Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. **Journal of Integrative Agriculture** 17: 2138–2150. doi:10.1016/S2095-3119(18)62037-4

Yu Q, Rengel Z (1999) Micronutrient Deficiency Influences Plant Growth and Activities of Superoxide Dismutases in Narrow-leafed Lupins. **Annals of Botany** 83: 175–182. doi: 10.1006/anbo.1998.0811

Yu Q, Osborne L, Rengel Z (1998) Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. **Journal of Plant Nutrition** 21: 1427–1437. doi: 10.1080/01904169809365493

Zhang J, Wei J, Li D, Kong X, Rengel Z, Chen L, Yang Y, Cui X, Chen Q (2017). The Role of the Plasma Membrane H⁺-ATPase in Plant Responses to Aluminum Toxicity. **Frontiers in Plant Science** 8: 1757. doi:10.3389/fpls.2017.01757

Zhao HQ, Wang L, et al. (2014) Oxidative stress of maize roots caused by a combination of both salt stress and manganese deprivation. **Cereal Research Communications** 42: 568–577. doi:10.1556/CRC.2014.0005

Zhu Z, Wei G, Li J, Qian Q, Yu J (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science** 167: 527–533. doi:10.1016/j.plantsci.2004.04.020

CAPÍTULO 3 - Interação silício e manganês em aspectos nutricionais e fisiológicos da cana-energia com alto teor de fibra

RESUMO - O silício (Si) é um elemento atenuador de múltiplos estresses nas plantas, mas falta pesquisa para elucidar as ações no sistema de defesa em condições de baixo Mn e os mecanismos envolvidos na atenuação dos efeitos da deficiência de manganês (Mn) em cana-energia com alto teor de fibra. Com isso, objetivou-se avaliar se o Si reduz o estresse oxidativo da cana-energia cultivada em solução nutritiva com baixo Mn de modo a atenuar os efeitos da deficiência do micronutriente melhorando a defesa enzimática e não enzimática, a absorção de Mn e o crescimento das plantas. Para isso, realizou-se experimento em casa de vegetação com mudas pré-brotadas de *Saccharum spontaneum* L. em esquema fatorial 2 x 2 em cinco repetições em que as plantas foram cultivadas sob suficiência de Mn (20,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e deficiência (0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) combinado com a ausência e a presença de Si (2,0 mmol L^{-1}) durante 160 dias após a aplicação dos tratamentos. Avaliaram-se o acúmulo de Mn e de Si, teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (MDA), atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) e guaiacol peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7), teor de fenóis totais, pigmentos e eficiência quântica do fotossistema II (FSII). A deficiência de Mn aumentou os teores de H_2O_2 , MDA, reduziu a atividade das enzimas antioxidantes e fenóis totais, bem como a eficiência quântica do FSII e o teor de pigmentos. O Si atenuou os efeitos da deficiência de Mn com redução dos teores de H_2O_2 e de MDA, e aumentou a eficiência de absorção do Mn e a atividade SOD, GPOX e o teor de fenóis, melhorando o crescimento.

Palavras-chave: Eficiência de absorção, Estresse abiótico, Estresse oxidativo, Fenóis, Guaiacol peroxidase, Peróxido de hidrogênio, Superóxido dismutase

INTERACTION OF SILICON AND MANGANESE IN NUTRITIONAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF HIGH-FIBER ENERGY CANE

ABSTRACT - Silicon (Si) is a multiple stresses attenuator element in plants, but further research is needed to elucidate the actions in the plants defense system with low nutrition of manganese (Mn), and the attenuation mechanisms involved in the effects of Mn deficiency on energy cane with high fiber content. Thus, the objective of this study was to evaluate whether Si reduces the oxidative stress of the energy cane grown in nutrient solution with low Mn in nutrient solution, to mitigate the effects of Mn deficiency, improving enzymatic and non-enzymatic defense, absorption of Mn the plant growth. To this end, an experiment was carried out in green house with pre-sprouted seedlings of *Saccharum spontaneum* L. in a 2 x 2 factorial scheme in five replications in which the plants were grown under sufficiency ($20.5 \mu\text{mol L}^{-1}$) and deficiency ($0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$) of Mn combined with the absence and presence of Si (2.0 mmol L^{-1}) for 160 days from the application of the treatments. The following parameters were evaluated: accumulation of Mn and Si, H_2O_2 , MDA, activity of SOD (SOD, EC 1.15.1.1) and GPOX (GPOX, EC 1.11.1.7), total phenol content, pigments, and quantum efficiency of photosystem II (PSII). Mn deficiency increased H_2O_2 and MDA content, reduced the activity of antioxidant enzymes and total phenols, as well as the quantum efficiency of PSII and pigment content. Si attenuated the effects of Mn deficiency by reducing H_2O_2 and MDA contents, and increased the Mn uptake efficiency, SOD and GPOX, phenol contents, thus improving growth.

Keywords: Uptake efficiency, Abiotic stress, Oxidative stress, Phenols, Guaiacol peroxidase, Hydrogen peroxide, Superoxide dismutase

1 Introdução

Um dos micronutrientes mais importantes para o processo fotossintético e no sistema de defesa antioxidante das plantas é o manganês (Mn) devido as suas funções como ativador enzimático, cofator enzimático e transportador de elétrons (Millaleo et al., 2010). No entanto, solos com baixa umidade, aerados, com alto teor de matéria orgânica e alcalinos tem redução da disponibilidade de Mn induzindo a deficiência nas culturas (Alejandro et al., 2020) em diferentes regiões do mundo (Long et al., 2021). Além disso, a deficiência de Mn tem sido reportada em regiões tropicais devido ação antrópica pelo aporte excessivo de calcário aplicado na superfície do solo (Hue e Mai, 2002; Mousavi et al., 2011) agravando o problema da deficiência nas produções agrícolas.

A deficiência de Mn provoca alterações no metabolismo oxidativo, gerando desequilíbrio entre produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio (ERO), pelas modulações nas atividades enzimáticas responsáveis pela redução destes compostos nas células vegetais, como a superóxido dismutase (SOD), a qual é cofator, e peroxidases (Yu et al., 1998; Mousavi et al., 2011; Millaleo et al., 2010; Moradtalab et al., 2018). Além do sistema enzimático, outros antioxidantes que complementam a linha de defesa não enzimática necessitam de Mn para sua síntese e são reduzidos na deficiência deste micronutriente, como fenóis (Lidon et al., 2004) e carotenoides (Rodrigues et al., 2020).

Estas alterações ocasionadas pela deficiência de Mn desencadeiam oxidações das membranas celulares pelas ERO ocorrendo a peroxidação lipídica (Zhao et al., 2014). Associado a isto, a deficiência de Mn no metabolismo vegetal também desestrutura os tilacóides e cloroplastos (Broadley et al., 2012; Eisenhut et al., 2018). E ainda, desorganiza o fotossistema II (FSII) diminuindo seu funcionamento, que é essencial para a primeira fase da fotossíntese (Schmidt et al., 2016; Oliveira et al., 2020) e acabam por favorecer a superprodução de ERO (Li e Kim, 2022). Por estes fatos, a deficiência de Mn é uma desordem nutricional grave que compromete o desempenho das culturas e limita o crescimento.

As pesquisas sobre o Mn na cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.) não são conhecidas. Devido a essa característica em sua composição, o cultivo desta

espécie surgiu recentemente para priorizar a produção de fibras em substituição a sacarose e possui retorno econômico maior que o cultivo de espécie com alto teor de sacarose como a *Saccharum officinarum* (de Abreu et al., 2020) visando aumentar a cogeração de energia (biocombustível e energia elétrica) dada a necessidade de diminuir as emissões de CO₂ no ar atmosférico.

Uma forma de minimizar os efeitos da deficiência de Mn em cana-energia, pode estar relacionada a utilização do silício (Si). O Si já foi descrito como elemento benéfico para diversas espécies vegetais sob estresses bióticos e abióticos (Ma, 2004) especialmente em plantas que possuem alta capacidade em acumular Si em seus tecidos, a exemplo da *Saccharum officinarum* L. e outras poáceas (Savant et al., 1999; Mitani-Ueno e Ma, 2020; Deshmukh et al., 2020). Apesar de ter incrementado nos últimos anos os estudos envolvendo o Si na mitigação de estresse abióticos são restritos envolvendo a relação do Si e do Mn. Isso foi constatado em uma revisão recente indicando que as interações de Mn e Si ainda são escassas para a condição de deficiência de Mn e estão mais elucidadas quando há toxicidade (Pavlovic et al., 2021).

Assim, existem alguns indícios que a deficiência de Mn poderia ser mitigada pela indução do Si em ativar sistema de defesa enzimático antioxidante na planta, por exemplo, incrementando a atividade da SOD visto em plantas de sorgo (de Oliveira et al., 2019). Se o Si diminuir o estresse oxidativo deve impactar na diminuição da degradação dos pigmentos e incrementar a eficiência quântica do FSII, a fotossíntese (Gonzalo et al., 2013; Cao et al., 2015; dos Santos Sarah et al., 2021) e a produção de massa seca. O que precisa ser comprovado é se a diminuição do estresse oxidativo promovido pelo Si é suficiente para melhorar aspectos fisiológicos da planta pois isso pode variar com a condição de cultivo e a espécie cultivada.

Um outro efeito do Si seria no incremento da atividade de enzimas responsáveis pelo transporte de Mn nas membranas (Xu et al., 2015; Pavlovic et al., 2013; Nikolic et al., 2019; Bao et al., 2021) beneficiando a absorção e o acúmulo do Mn na parte aérea da planta, mas isso ainda não foi estudado em cana-energia com alto teor de fibra.

Fica evidente a pouca informação sobre as possíveis ações do Si para mitigar a deficiência de Mn em plantas cultivadas em solos com baixa disponibilidade de Mn

e esse cenário pode reduzir o alto potencial de produção de biomassa da cana-energia para gerar energia renovável sendo uma tendência global. Embora exista indício de benefício do Si na mitigação da deficiência de Mn em uma cultivar de cana-energia com baixo teor de fibra cultivada por apenas 58 dias (Oliveira et al., 2021), faz-se necessário avançar no conhecimento. Isso ocorre porque o período de estresse (deficiência de Mn) que normalmente ocorre no ciclo da cana-energia é mais longo superando 150 dias e não se sabe se neste cenário o Si ainda poderia mitigar essa deficiência nutricional.

Um outro aspecto importante é o fato do surgimento de novas cultivares de cana-energia com alto teor de fibra lignocelulósico (> 30%) e não é conhecido se esse fato poderia aumentar ou não o benefício do Si na planta deficiente de Mn. É conhecida a importância do Mn na síntese de componentes da fibra como a lignina (Alejandro et al., 2020). Por outro lado, o Si tem efeitos importantes na biossíntese da parede celular, lignificação e seu papel mecânico (Guerriero et al., 2016), fatos que podem impactar na formação e na integridade da fibra e, conseqüentemente, na cana-energia com alto teor de fibra, mas tem que ser comprovado. Portanto, é importante conhecer e desvendar os mecanismos do Si para beneficiar o crescimento da cana-energia com alto teor de fibra cultivada em meio deficiente de Mn.

Para isso, é pertinente testar as hipóteses: (i) a deficiência de Mn independentemente do Si causa prejuízo importante em aspectos fisiológicos e nutricionais indicando que a cana-energia com alto teor de fibra é mais sensível a deficiência de Mn. (ii) O Si atenua os efeitos da deficiência de Mn na cana-energia pela soma de benefícios, ou seja, por aumentar a eficiência da absorção de Mn, reduzir o estresse oxidativo pela ação tanto no sistema defesa enzimático como não enzimático, e conseqüentemente, maior conversão de massa seca favorecendo o crescimento da planta.

Com isso, objetivou-se avaliar se o Si pode atenuar os efeitos da deficiência de Mn na cana-energia em condição de baixo Mn e atuar na redução do estresse oxidativo e defesa enzimática e não enzimática de modo a induzir melhorias no aparato fotossintético e no crescimento.

2 Material e métodos

2.1 Instalação do experimento

O experimento com o genótipo de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L) variedade Vertex 2 foi desenvolvido em casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus Jaboticabal, SP, Brasil, durante os meses de janeiro a setembro de 2019.

Para a instalação dos experimentos foram preparadas mudas pré-brotadas a partir de mini toletes (5 cm de comprimento) tendo uma gema sendo plantada em bandeja de polipropileno preenchidas com vermiculita de granulometria fina.

Após a emergência plena dos brotos (7 dias após o plantio), a aplicação de Si ($2,5 \text{ mmol L}^{-1}$) foi realizada via fertirrigação em intervalos de 4 dias durante 50 dias (plantas que receberiam tratamento com Si). Neste período foi também aplicada solução completa de Hoagland e Arnon (1950) com modificação da concentração de Mn para $13,65 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e na fonte de Fe-EDTA para Fe-EDDHA de acordo com Cavalcante et al. (2016). Em seguida, realizou-se um corte de uniformização das mudas a 30 cm de altura do substrato e iniciou-se a aplicação dos tratamentos. Após 28 dias do corte de uniformização e início dos tratamentos, as mudas foram transferidas para vasos de polipropileno com volume de $1,5 \text{ dm}^3$ preenchidos com areia lavada.

Os tratamentos foram compostos de esquema fatorial 2×2 em 5 repetições, dispostos em blocos ao acaso. Os tratamentos foram constituídos de plantas cultivadas sob suficiência ($20,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e deficiência de Mn ($0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) combinado com a ausência e a presença de Si ($2,0 \text{ mmol L}^{-1}$) fornecidos por 160 dias. A fonte de Si foi o silicato de sódio e potássio estabilizado com sorbitol (SiNaKE) com $107,9 \text{ g L}^{-1}$ de Si e $16,4 \text{ g L}^{-1}$ de K_2O . A solução nutritiva utilizada foi de Hoagland e Arnon (1950) e com modificação da concentração de Mn. O valor pH da solução nutritiva foi ajustado para $5,5 \pm 0,5$ utilizando a solução de HCl ou NaOH ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) que era preparada e fornecida diariamente às plantas. A concentração de potássio da solução nutritiva para os tratamentos sem Si foi ajustada com cloreto de potássio. Os dados meteorológicos

foram aferidos no interior da casa de vegetação durante o período de cultivo que correspondeu a média da mínima e da máxima para a umidade relativa do ar iguais a 10% e 32% e para temperatura do ar iguais a 16°C e 38°C, respectivamente.

Ao final do experimento, a partir dos 153 dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas as avaliações bioquímicas, fisiológicas e nutricionais nas plantas.

2.2 Análises

2.2.1 Acúmulo de Mn e Si, eficiência de absorção de Mn

O teor de Mn da parte aérea e da raiz foi determinado conforme método proposto por Bataglia et al. (1983). A determinação do teor de Si foi realizada a partir da digestão das amostras seguindo método descrito por Kraska e Breitenbeck (2010) e concentração determinada a partir da leitura realizada por espectrofotômetro a 410 nm, conforme descrito por Korndörfer et al. (2004). O acúmulo total de Mn e Si foi obtido pela soma do produto da massa seca e o teor dos elementos na parte aérea e nas raízes. Ao final, a partir da relação do acúmulo total do Mn na planta e massa seca da raiz foi determinada a eficiência de absorção de Mn (Swiader et al., 1994).

2.2.2 Determinação do teor de H₂O₂

O teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi estimado conforme os métodos de Alexieva et al. (2001) utilizando a primeira folha completamente expandida aos 159 dias após a aplicação dos tratamentos. A leitura foi realizada na absorbância a 390 nm e o teor de H₂O₂ determinado com base em curva padrão de concentração de H₂O₂ expresso em $\mu\text{Mol g}^{-1}$ de massa fresca.

2.2.3 Peroxidação lipídica (MDA)

Para determinar a peroxidação lipídica coletou-se a primeira folha completamente expandida aos 159 dias após transplante das mudas de cana-energia (DAT) e imposição dos tratamentos, seguindo os métodos descritos por Heath e

Packer (1968). A concentração de malondialdeído (MDA) foi determinada pela leitura em espectrofotômetro entre 535 e 600 nm, sendo os dados calculados com base no coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e os resultados de MDA foram expressos em nMol g^{-1} de matéria fresca (Gratão et al., 2012).

2.2.4 Extração de proteína

A extração de proteína solúvel total foi realizada com 1,0 grama da primeira folha completamente desenvolvida que foi coletada aos 159 dias após a aplicação dos tratamentos e homogeneizada em um almofariz resfriado com um pilão utilizando tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), ácido etilenodiamina tetraacético (EDTA) 1 mM, DL-ditiotreitol 3 mM e 5% (p/v) polivinilpolipirrolidona insolúvel na proporção volume / massa fresca de 3:1 (Boaretto et al., 2014). O material foi centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min, e o sobrenadante foi armazenado a -80°C para posterior determinação das atividades das enzimas SOD e GPOX. A concentração de proteína foi avaliada seguindo o método de Bradford (1976) usando albumina de soro bovino como padrão, sendo expresso em mg ml^{-1} proteína.

2.2.5 Ensaio da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1) foi determinada em espectrofotômetro, conforme descrito em Cembrowska-Lech et al. (2015), sendo a reação conduzida em uma câmara de reação (caixa) sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25°C . A leitura foi realizada a 560 nm e a atividade de SOD expressa em U mg^{-1} proteína.

2.2.6 Ensaio da guaiacol peroxidase (GPOX)

A atividade da GPOX (GPOX, EC 1.11.1.7) foi determinada numa mistura contendo tampão fosfato citrato pH 5,0 (fosfato de sódio dibásico 0,2 M: ácido cítrico 0,1 M), 0,5% de guaiacol e o extrato. A atividade foi avaliada monitorizando a absorbância no comprimento de onda de 450 nm (Gomes-Junior et al., 2006).

2.2.7 Determinação do teor de fenóis totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada a partir da coleta de 0,1 g de massa fresca de folhas completamente expandidas aos 154 dias após a aplicação dos tratamentos. Em seguida, realizou-se nas amostras a leitura da absorbância em espectrofotômetro em comprimento de onda 765 nm e determinado o teor com base em curva padrão com ácido gálico e expresso em g de equivalente em ácido gálico (EAG) por 100 g⁻¹ (Singleton e Rossi, 1965).

2.2.8 Teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides

A determinação do teor de pigmentos foi realizada a partir da coleta de discos foliares do terço médio do limbo foliar de folhas completamente expandidas aos 154 dias após a aplicação dos tratamentos, conforme metodologia proposta por Lichtenthaler (1987), com leituras a 663 nm para a clorofila *a* (Chl *a*), 647 nm para a clorofila *b* (Chl *b*) e 470 nm para carotenoides, realizadas em espectrofotômetro de Beckman DU 640, sendo os teores definidos com base na massa fresca.

2.2.9 Eficiência quântica do FSII (Fv/Fm)

A eficiência quântica do FSII foi obtida a partir da medida da fluorescência da clorofila com o auxílio de fluorímetro (Opti-sciences - Os30P). Para isso, a região amostrada foi submetida ao escuro para adaptação de no mínimo 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. As medidas foram realizadas entre 7h30 e 8h30 no terço médio da folha +1 (primeira folha completa com a bainha visível) aos 153 dias após a aplicação dos tratamentos.

2.2.10 Crescimento

A área foliar foi realizada aos 160 dias após a aplicação dos tratamentos, destacando-se as folhas e realizou-se a leitura com auxílio do aparelho medidor de

área foliar (LI-3100, Li-Cor, EUA) com valor dado em cm². Para determinação da massa seca as plantas foram cortadas na base do substrato sendo separadas em raízes e parte aérea para compor massa das raízes e massa seca total, respectivamente. As frações foram lavadas com solução de detergente (0,1% v/v), solução ácida com HCl 1,0 mol L⁻¹ (0,3% v/v) e água deionizada, e em seguida as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 ± 2 °C até atingir massa constante. Em seguida obteve-se a massa seca da planta inteira em gramas.

2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) em software livre R 4.0.3 e as diferenças significativas entre os tratamentos foram avaliadas usando ANOVA seguida por um teste de Tukey ($p < 0,05$ nível de significância) no programa estatístico SAS (Cary, NC, USA). As interações foram desdobradas mesmo quando não significativas e os gráficos elaborados no SigmaPlot 14.0 (Systat Software, Inc, San Jose, CA).

3 Resultados

O Si fornecido via solução nutritiva aumentou o acúmulo deste elemento nas plantas da cana-energia suficientes e deficientes em Mn em relação às que não receberam o elemento. No entanto, nas plantas deficientes em Mn em relação às suficientes do micronutriente na ausência ou na presença de Si teve diminuição do acúmulo de Si na planta (Figura 1a). O Si aumentou o acúmulo de Mn em 96 e 15% nas plantas cultivadas sob deficiência e suficiência deste micronutriente, respectivamente (Figura 1b).

A eficiência de absorção de Mn pelas plantas na presença ou na ausência de Si diminuiu nas plantas deficientes de Mn em relação a suficiente do elemento. No entanto, o Si incrementou a eficiência de absorção das plantas em 18% e 53% nas

plantas cultivadas sob suficiência e deficiência do micronutriente, respectivamente (Figura 1c).

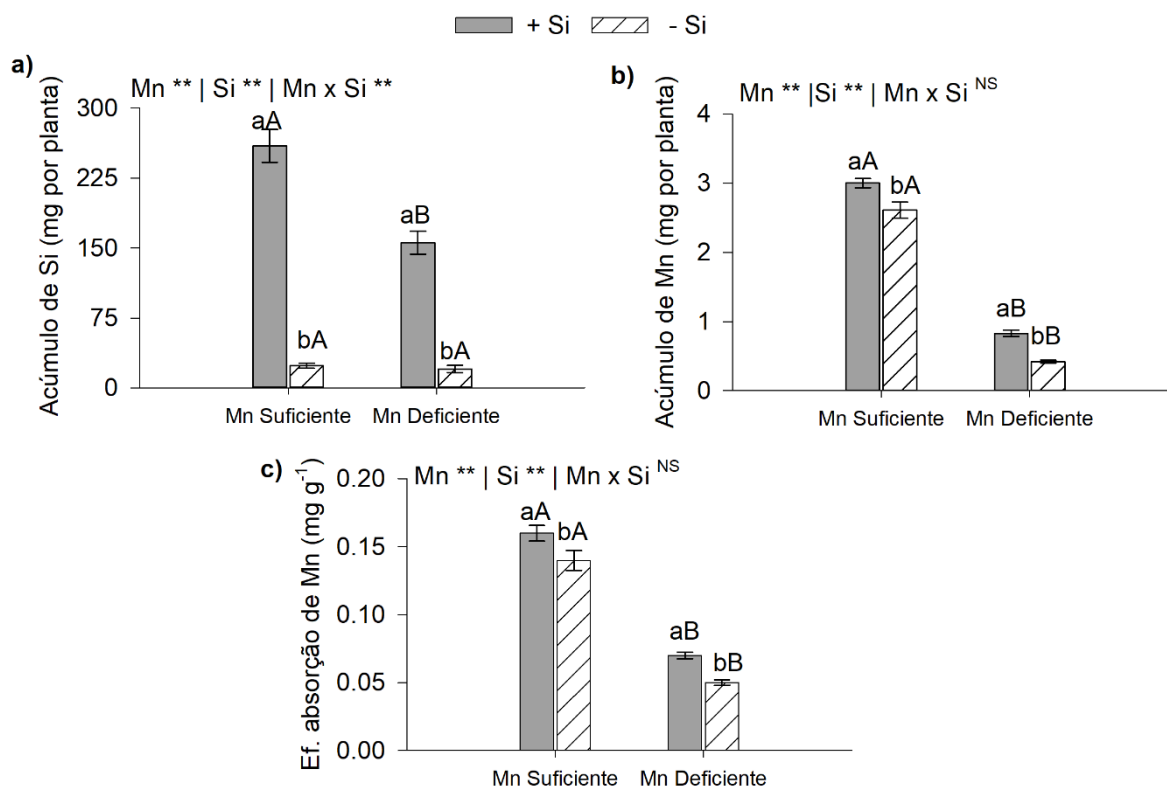


Figura 1. Acúmulo de Si (a) e Mn (b), eficiência de absorção de Mn (c) de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.), cultivada em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e na presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$

A deficiência de Mn em relação a suficiência deste nutriente na ausência ou na presença de Si aumentou os teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA) nas plantas de cana-energia. A presença de Si na solução de cultivo em plantas deficientes em Mn diminuiu o teor de H_2O_2 e MDA em 18% e 32 %, respectivamente (Figura 2a e 2b).

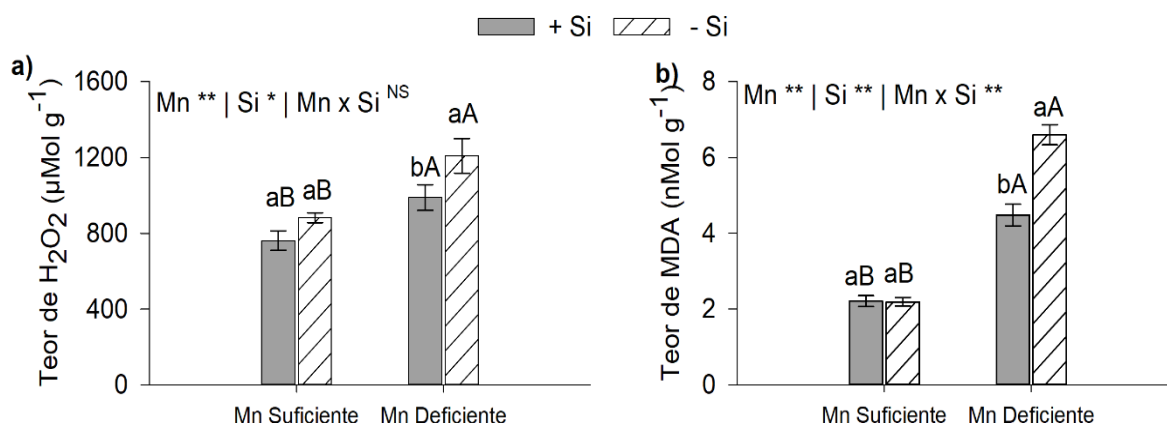


Figura 2. Teor de peróxido de hidrogênio (a) e malondialdeído (b) em folhas de plantas de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.), cultivada em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e na presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

A atividade das enzimas SOD e GPOX diminuiu em plantas deficientes de Mn em relação às plantas suficientes na presença e na ausência de Si. No entanto, nestas plantas deficientes de Mn a presença de Si na solução nutritiva incrementou em 23% e 76% a atividade da SOD e GPOX, respectivamente (Figura 3a e 3b). O teor de fenóis totais foliares diminuiu sob deficiência de Mn em relação às plantas suficientes na presença ou na ausência de Si. No entanto, a aplicação de Si em relação à sua ausência incrementou em 74% o teor de fenóis totais em plantas sob deficiência de Mn (Figura 3c).

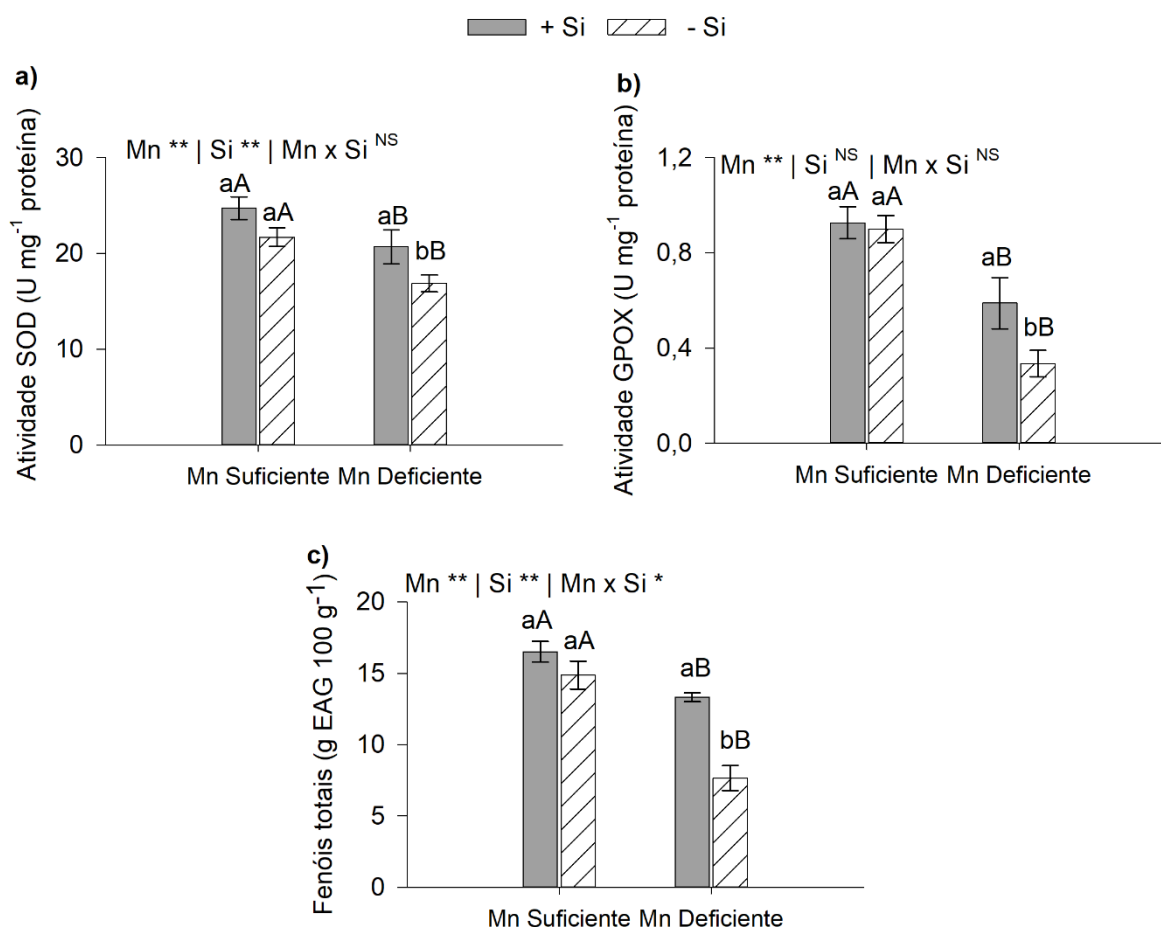


Figura 3. Atividade da superóxido dismutase (SOD) (a), guaiacol peroxidase (GPOX) (b) e teor de fenóis totais (c) em folhas de plantas de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.), cultivada em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e na presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

As plantas cultivadas em solução nutritiva sob deficiência de Mn na ausência ou na presença de Si apresentaram menores teores de pigmentos (clorofilas *a*, *b* e carotenoides) e da eficiência quântica do fotossistema II. Nas plantas suficientes e deficientes de Mn a presença de Si na solução nutritiva aumentou o teor de Chl *a* (38% e 120%), Chl *b* (33% e 96%) e carotenoides (21% e 47%), respectivamente (Figura 4a, 4b, 4c). O Si aplicado na solução nutritiva incrementou a eficiência quântica do FS II, mas apenas nas plantas deficientes em Mn (Figura 4d).

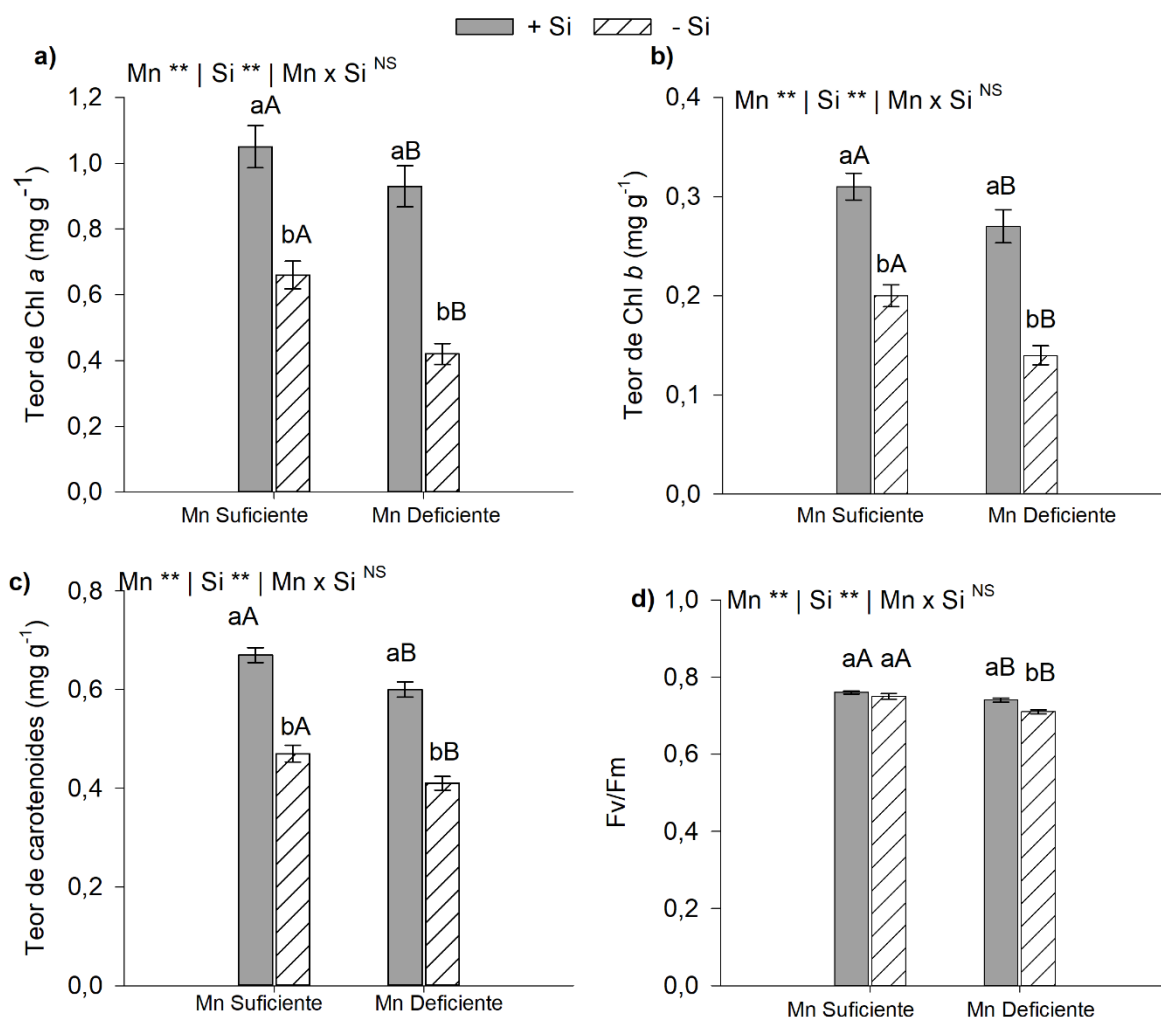


Figura 4. Teor de clorofila *a* (a), clorofila *b* (b), carotenoides (c) e, eficiência quântica do fotossistema II (d) de plantas de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.), cultivada em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e na presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

As plantas deficientes em Mn em relação as suficientes na presença ou ausência de Si tiveram diminuição da aérea foliar e da massa seca das raízes e total (Figura 5). O fornecimento de Si nas plantas deficiente de Mn incrementou a área foliar em 27% nas plantas deficientes em Mn (Figura 5a), a massa seca das raízes (29%) (Figura 5b) e também a massa seca total em 22% (Figura 5c).

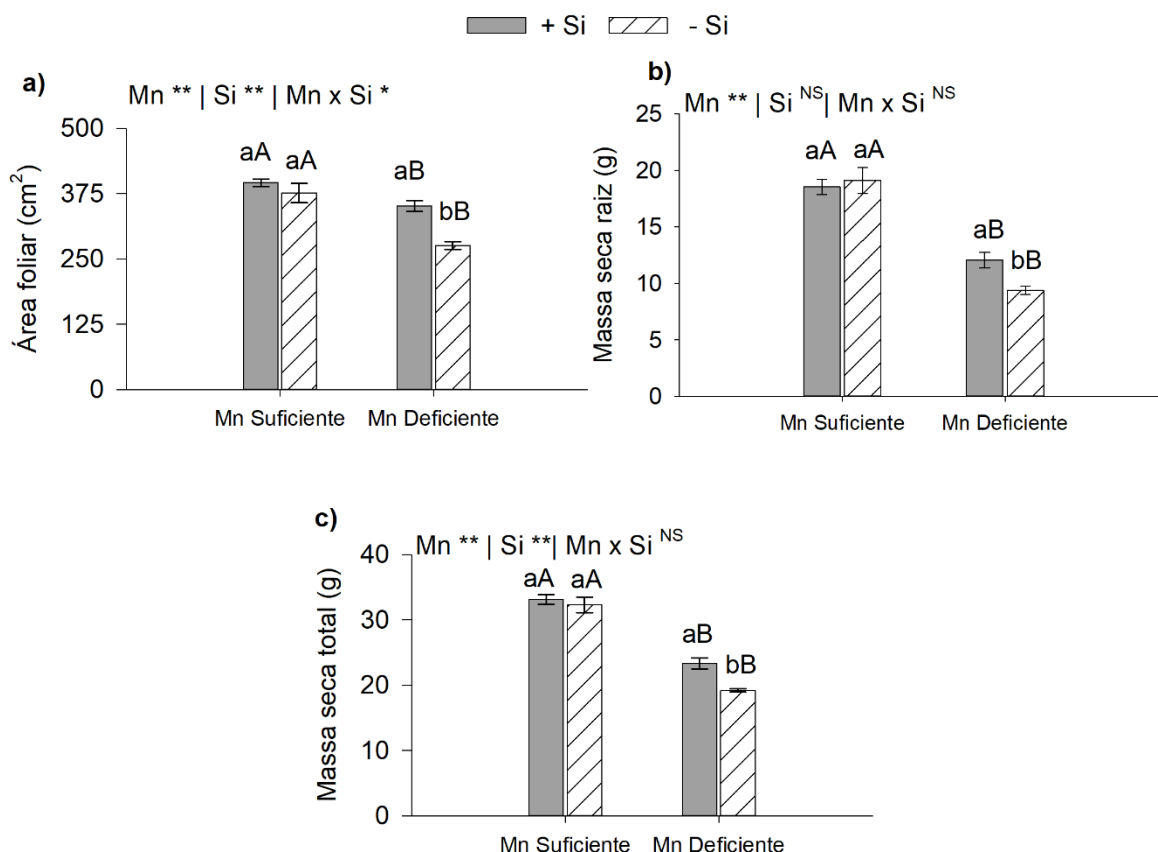


Figura 5. Área foliar (a), massa seca das raízes (b) e massa seca da planta inteira (c) de plantas de cana-energia tipo II (*Saccharum spontaneum* L.), cultivadas em solução nutritiva suficiente e deficiente de Mn na ausência (-Si) e presença (+Si) de Si. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{NS} não significativo pelo teste F. Letras minúsculas diferentes comparam condições de Si na mesma condição de Mn e letras maiúsculas diferentes comparam entre condições de Mn na mesma condição de Si ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey). As barras representam o erro padrão da média, $n=5$.

4 Discussão

A eficiência de absorção de nutrientes é modulada em parte pelas características radiculares e pela quantidade do nutriente específico aplicado (Baligar, 2001). Evidenciou-se que plantas de cana-energia sob deficiência de Mn tiveram baixo acúmulo e eficiência de absorção do micronutriente, o que causou danos biológicos nestas plantas.

Essa desordem nutricional do Mn promove incremento de ERO, como o H_2O_2 , fato visto em plantas de sorgo (de Oliveira et al., 2019), em plantas de milho (Moradtlab et al., 2018) e também ocorreu na cana-energia. Portanto, a planta sob deficiência de Mn fica suscetível ao estresse oxidativo, ocasionado pela superprodução de ERO dada baixa capacidade da planta de induzir mecanismos de defesa antioxidante.

Nesse estudo observou-se nas plantas deficientes de Mn prejuízo importante no sistema antioxidante enzimático e não enzimático. A diminuição da atividade da SOD ocorreu nas plantas com deficiência nutricional devido ao fato que o Mn é constituinte desta enzima (Millaleo et al., 2010; Broadley et al., 2012), fato também relatado por de Oliveira et al. (2019) em plantas de sorgo e por Oliveira et al. (2021) em cana-de-açúcar. Associado a isto, ocorreu também a diminuição da atividade da peroxidase GPOX importante para a dismutação do H_2O_2 em água e oxigênio (Sharma et al., 2012). A diminuição da atividade de outra peroxidase (APX) foi a principal resposta da planta à deficiência de Mn (Yu et al., 1998) e, portanto, apresenta uma característica importante de resposta a essa desordem nutricional. A GPOX pertence à classe das enzimas que catalisam a redução de H_2O_2 retirando elétrons de moléculas doadoras como compostos fenólicos (Hiraga et al., 2001), que necessitam de Mn para sua síntese (Burnel, 1988), podendo, ter papel relevante na redução de atividade observada.

Os dados evidenciaram que a deficiência de Mn na cana-energia diminuiu o teor total de fenóis. Isso pode ter ocorrido porque o Mn ativa enzimas específicas envolvidas na biossíntese de fenóis (Burnell, 1988; Lidon et al., 2004). O Mn estabiliza a conformação ativa da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), que catalisa a desaminação de fenilalanina em ácido cinâmico (Wall et al., 2008) promovendo a formação de fenóis e outros compostos. Este prejuízo da deficiência de Mn neste composto antioxidante não enzimático também contribuiu para os elevados teores de H_2O_2 observados, pois os fenóis têm capacidade de reduzir a peroxidação lipídica eliminando o oxigênio molecular ativo e do H_2O_2 , (Sharma et al., 2012).

A menor atividade da GPOX associado com menor teor de fenóis visto em cana-energia pode ter contribuído para o acúmulo de H_2O_2 . Além disso, a diminuição da atividade da SOD pela falta de Mn pode acumular outra ERO danosa, o $\text{O}_2^{\cdot-}$

(Broadley et al., 2012; Sharma et al., 2012; Dumanović et al., 2021). O acúmulo de H_2O_2 e $\text{O}_2^\cdot$ na deficiência de Mn foi recentemente demonstrada em trigo (Tahura e Kabir, 2021). Portanto, o acúmulo dessas ERO tem como consequência a peroxidação lipídica como observado pelo aumento do teor de MDA que é o resultado da degradação dos lipídeos das membranas celulares evidenciando os danos oxidativos (Geng et al., 2018) e tem sido relatado como efeito da deficiência de Mn também em outras gramíneas (de Oliveira et al., 2019; Zhao et al., 2014).

O estresse oxidativo promoveu diminuição dos pigmentos foliares das plantas de cana-energia deficientes de Mn possivelmente, devido à degradação das membranas dos tilacóides e dos cloroplastos (Gong et al., 2010) e diminuição do número de cloroplastos (Mercer et al., 1962; Papadakis et al., 2007). Também, o próprio Mn é necessário para a síntese de lipídeos e proteínas que são componentes estruturais desta organela (Lidon et al., 2004; Broadley et al., 2012), bem como dos carotenoides (Wilkinson e Ohki, 1988). Na deficiência de Mn há reduções da transcrição de genes dos plastídios e dos cloroplastos que reduzem o teor de proteínas integrais da organela e sua síntese, afetando a integridade do cloroplasto e desorganizando o sistema de membranas dos tilacóides (Eisenhut et al., 2018).

Os efeitos da deficiência de Mn na concentração de pigmentos também são reflexos da menor eficiência quântica do FSII (Qu et al., 2012), fato também visto na cana-energia. Isto é resultado da função do Mn como componente do agrupamento catalítico Mn_4Ca da etapa fotoquímica da fotossíntese que é responsável pela fotooxidação da água (Broadley et al., 2012). Em sua deficiência, desestabiliza o complexo de Mn no FSII causando a sua desintegração (Schmidt et al., 2016) e aumenta a formação de $^1\text{O}_2$, que podem degradar as clorofilas e a proteína D1 do FSII (Krieger-Liszkay et al., 2008), caso não seja eliminado pelos carotenoides e tocoferóis nos cloroplastos (Droga et al., 2018).

Esses danos relatados pela deficiência de Mn ao prejudicar o metabolismo das plantas de cana-energia explicam a diminuição das variáveis de crescimento. Destaca-se que a deficiência de Mn tem forte impacto na redução do crescimento das raízes das plantas e consequentemente da parte aérea visto em plantas de cevada (Chen et al., 2019). Portanto, de forma semelhante houve reduções importantes da área foliar, massa seca das raízes e parte aérea da cana-energia, fato também

descrito em outras espécies (Gong et al., 2011; Schmidt et al., 2016; de Oliveira et al., 2019).

Portanto, evidencia-se que a cana-energia com maior teor de fibra é muito sensível deficiência de Mn. Isto ficou claro porque a deficiência de Mn em relação planta suficiente induziu diminuição da produção de massa da planta (total) da cana-energia com alto teor de fibra igual a 62% sendo muito superior ao visto para cana-energia com baixo teor de fibra que atingiu somente 22% segundo Oliveira et al. (2021). Isso se deve ao fato de o Mn ser importante nutriente para a fotossíntese (Prado, 2021) e na rota de síntese de compostos integrantes da fibra vegetal (Burnell et al., 1988; Önnnerud et al., 2002), principalmente a lignina (Önnnerud et al., 2002). Portanto, mostra-se um nutriente muito limitante a produção desta espécie ganhando importância o seu manejo adequado implicando-se na necessidade de estratégias para atenuar esse estresse nutricional sendo a mais promissora o emprego do Si.

Observou-se que a cana-energia apresenta alta capacidade de absorção do Si independentemente do estado nutricional em Mn da planta. Portanto, a capacidade de absorção deste elemento em cana-energia indica que ela tem semelhança com a cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) que é uma planta acumuladora de Si (Yan et al., 2018, Savant et al., 1999). Isso ocorre porque as poáceas apresentam transportadores específicos nas membranas celulares das raízes eficientes para a absorção do Si (Mitani-Ueno e Ma, 2020). Mais recentemente, tomou-se conhecimento que a presença de transportadores, a exemplo das proteínas intrínsecas semelhantes à nodulina 26 (NIP-III) em algumas espécies como as poáceas, são resultado de evolução das espécies e indicam elevado poder de acumular Si (Deshmukh et al., 2020).

A alta habilidade da cana-energia para acumular Si na parte aérea aumenta a possibilidade dos benefícios biológicos do elemento nesta espécie. Esse benefício iniciou-se pela contribuição do Si em incrementar o acúmulo e a eficiência de absorção do Mn independentemente do estado nutricional da planta. O aumento da absorção de Mn pelo Si foi relatado apenas em cana-de-açúcar na condição de adequado Mn, e em cana-energia com menor teor de fibra (tipo I) na suficiência e deficiência de Mn (Oliveira et al., 2021).

Desta forma percebe-se que mesmo esta espécie com maior teor de fibra como a analisada nesse estudo apresenta benefício do Si na nutrição com Mn em ambas as condições de fornecimento do micronutriente. Anteriormente, resultados semelhantes só foram relatados em plantas de sorgo cultivado sob deficiência de Mn (Oliveira et al., 2020) e em plantas de milho e de trigo cultivadas sem deficiência deste micronutriente (Greger et al., 2018). Como a eficiência da absorção de Mn reflete neste estudo o potencial de acumular Mn na planta em relação a quantidade de raízes (Swiader et al., 1994), fica claro que o benefício do Si na maior eficiência de absorção de Mn observado foi reflexo do incremento no acúmulo do micronutriente (97%).

O aumento da absorção de Mn promovido pelo Si pode ter ocorrido pelo efeito do elemento benéfico na modulação da atividade da H⁺-ATPase a partir da expressão de genes codificadores destas proteínas (Liang et al., 2006; Kim et al., 2014; Xu et al., 2015) envolvidas na geração de gradiente eletroquímico para absorção ativa de nutrientes. Soma-se a isso o fato que o Si incrementa a atividade de transportadores ativos específicos do Mn (Socha e Guerinot, 2014; Alejandro et al., 2020; Bao et al., 2021). Este efeito do Si chama atenção pois proteínas Nramps (*Nramp* 6 e *Nramp* 1) foram apontadas recentemente como responsáveis por desempenhar papéis críticos na absorção e na utilização do Mn nas plantas submetidas a condições de baixa disponibilidade do micronutriente (Li e Kim, 2022). Portanto, o fato de que o Si teve efeito positivo nessa mesma família de transportadores em outros estudos (Bao et al., 2021) reflete um benefício importante do Si frente a desordem nutricional potencial da deficiência de Mn.

Diante de uma limitada disponibilidade as plantas precisam ser eficientes em adquirir Mn através das raízes como forma de aumentar a tolerância ao estresse (Alejandro et al., 2020). Dessa forma, a ação do Si em potencializar tal mecanismo reflete um benefício adicional às plantas de cana-energia submetidas a esta condição como forma de adaptação, e ainda, melhorando seu desempenho em solos com adubação adequada de Mn.

É possível ainda, que o Mn absorvido na primeira etapa do experimento durante cinquenta dias tenha sido remobilizado para a parte aérea da planta fato que foi relatado para o ferro em pepino, cevada e sorgo (Pavlovic et al., 2016; Nikolic et al., 2019; Teixeira et al., 2020). Esses autores indicaram que houve incremento da

expressão de genes induzidos por Si que codificam a biossíntese de nicotianamina e os transportadores YSL responsáveis pela descarga do Fe nos vasos floemáticos atingindo a parte aérea da planta. Isso pode ocorrer com Mn precipitado no apoplasto ou ligado à parede celular que pode ser remobilizado quando se tem deficiência imposta às plantas (Zia-ur-Rehman et al., 2016). Em plantas de cevada, o uso do Si incrementou o teor de Fe em folhas novas de plantas deficientes associado ao aumento da expressão de genes envolvidos na aquisição de Fe (Nikolic et al., 2019). Ademais, observou-se aumento da eficiência de translocação e acúmulo de Fe em folhas novas pelo Si em plantas de sorgo deficientes em Fe (Teixeira et al., 2020).

Evidenciou-se que a contribuição do Si para a cana-energia deve-se ao incremento do Mn na parte aérea das plantas deficientes deste micronutriente associado a ativação do sistema de defesa antioxidante enzimático a partir do aumento da atividade da SOD e da GPOX e não enzimático (fenóis e carotenoides). Isso ocorreu porque o Mn é um dos cofatores da enzima SOD, compondo a isoforma Mn-SOD desta enzima (Millaleo et al., 2010) e ainda participa da síntese de fenóis (Lidon et al., 2004) e de carotenoides pela ativação da enzima fitoenol sintase na síntese de isoprenoides precursores deste pigmento (Wilkinson e Ohki, 1988).

O Si potencializando a atividade da SOD possivelmente reduziu o acúmulo de íons $O_2^{\cdot-}$ e promoveu a formação de H_2O_2 através da catalisação desta enzima. Além disso, observou-se que a atividade da GPOX aumentou potencialmente (76%) com o fornecimento de Si que está associada possivelmente ao aumento da atividade da SOD para reduzir os teores de H_2O_2 mantendo a homeostase entre produção e eliminação de ERO. Em revisão ampla de Kim et al. (2017) sobre os efeitos do Si nos sistemas antioxidantes em diversos estresses abióticos os autores concluíram que as principais ações do Si estavam associadas ao aumento da atividade de enzimas envolvidas na transformação do H_2O_2 em água (APX e CAT). Nesta pesquisa ficou claro o efeito do Si na eliminação desta ERO ao aumentar a atividade da GPOX e os teores de fenóis (74%), ambos com função de eliminar o H_2O_2 (Sharma et al., 2012).

O efeito do Si no aumento da atividade antioxidante enzimática foi visto em plantas de sorgo sob deficiência de Mn (de Oliveira et al., 2019), contudo o Si não afetou de forma efetiva as atividades das enzimas SOD e GPOX em cana-energia com menor teor de fibra, mas beneficiou a reposta não enzimática pelo aumento dos

teores de fenóis (Oliveira et al., 2021), fato que também foi visto em plantas sob estresse por deficiência nutricional em outras espécies (Vega et al., 2019; Silva e Prado, 2021). Isto pode estar associado além do maior tempo de exposição a deficiência, a sensibilidade da espécie. Portanto, frente ao dano, a resposta de todos os componentes antioxidantes avaliados foi potencializada pelo Si, incluindo as enzimas, o que sugere que o Si pode beneficiar o metabolismo de plantas sob deficiência de Mn mesmo em maiores períodos e severidade da deficiência. Fato semelhante foi observado em plantas de cevada plantas ao estresse induzido pelo Al e tratadas com Si resultando maior produção de componentes antioxidantes que plantas mais tolerantes (Vega e al., 2019).

Estes mecanismos antioxidantes potencializados pelo Si nas plantas de cana-energia deficientes de Mn diminuíram a superprodução e acúmulo dos teores de H_2O_2 e possivelmente de outras ERO como os íons superóxidos, reduzindo o teor de MDA. Neste cenário, o Si diminuiu a degradação das membranas dos pigmentos fotossintetizantes (Gonzalo et al. 2013; Bityutskii et al., 2014; Nikolic et al., 2019; Teixeira et al., 2020), fatos que ocorreram na cana-energia pois houve aumento do teor de Chl *a*, Chl *b* e carotenoides das plantas deficientes em Mn.

Nas plantas suficientes em Mn a aplicação do Si incrementou os pigmentos foliares, pois o micronutriente está envolvido na síntese de clorofila e proteínas, bem como integridade do cloroplasto (Lidon et al., 2004; Broadley et al., 2012). No entanto, o emprego do Si nestas plantas não afetou a peroxidação lipídica e a eficiência quântica do FSII, indicando que essas plantas não apresentavam estresse oxidativo. Por outro lado, em plantas deficientes de Mn evidenciou-se o benefício do Si ao aumentar a eficiência quântica do FSII das plantas de cana-energia, fato também observado em plantas de sorgo e de milho por Oliveira et al. (2020) e recentemente em plantas de soja (de Oliveira Rocha et al., 2022). O próprio fato de haver melhoria no transporte de elétrons em plantas deficientes de Mn proporcionado pela presença de Si pode ter reduzido o acúmulo de ERO, visto que a preservação ou melhoria no transporte eletrônico no cloroplasto pelo FSII mantém equilibradas as formações de oxigênio singlete, íons superóxido, H_2O_2 e radicais hidroxila (Pospíšil, 2016).

A somatória desses resultados resultou em maiores crescimentos das plantas sob deficiência, indicando atenuação dos efeitos da deficiência pelo Si. A raiz como

elemento principal da absorção de nutrientes foi beneficiada na presença de Si em plantas deficientes resultado do aumento da absorção de Mn, pois o nutriente influencia o crescimento radicular pela participação no metabolismo de lipídeos, ácido giberélico e fluxo de carboidratos (Prado, 2021). Da mesma forma a área foliar e a massa seca total da planta foram beneficiadas pelas melhorias nutricionais, bioquímicas e fisiológicas ampliando a conversão em massa seca.

A primeira hipótese do trabalho ao reportar que a deficiência de Mn independentemente do Si causa prejuízo importante em aspectos fisiológicos e nutricionais indicando que a cana-energia é sensível a deficiência de Mn pode ser aceita. Assim, em planta deficiente de Mn o Si não tem capacidade de reverter integralmente o prejuízo nutricional e fisiológico promovendo crescimento semelhante a uma planta suficiente de Mn. Isso é fácil compreensão pelo fato que o Si não substitui as funções nutricionais do Mn e sim atenua os efeitos desta desordem nutricional na planta. No entanto, ficou claro que os efeitos biológicos do Si é bem evidenciado em plantas deficientes em Mn, pois, é conhecido que este elemento beneficia as plantas sob condições estressantes (Ma, 2004), comprovando a segunda hipótese deste estudo.

A presente pesquisa comprova os benefícios do Si em plantas deficientes de Mn por aumentar a absorção do micronutriente associado a modulação dos sistemas de defesa antioxidante, permitiu diminuir produção de H_2O_2 e a peroxidação lipídica e aumentar os teores de pigmentos fotossintetizantes, evitando danos oxidativos e proporcionando o aumento da área foliar e a massa seca de plantas da cana-energia com alto teor de fibra.

Os resultados do Si em atenuar a deficiência de Mn em poáceas, que em grande parte são exigentes neste micronutriente, são promissores. Soma-se a isso, o fato que é possível benefício do Si em plantas sem deficiência de Mn e isso abre perspectivas para novas pesquisas para verificar se esses benefícios do elemento benéfico possam atingir plantas não poáceas com ou sem deficiência nutricional.

5 Conclusão

A cana-energia com alto teor de fibra é muito sensível devendo-se a redução de pigmentos foliares, eficiência no transporte de elétrons que por sua vez aumenta o estresse oxidativo associado a falha do sistema de defesa.

O uso de silício nesta condição atenua os efeitos da deficiência de manganês por aumentar a eficiência de absorção de manganês na cana-energia, que induz resposta antioxidante enzimática positiva para atividade da SOD, GPOX e teor de fenóis aumentando o crescimento.

6 Referências

Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E (2020) Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science** 11:300. doi:10.3389/fpls.2020.00300

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 Environment** 24: 1337-1344. doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x

Baligar VC, Fageria NK, He ZL (2001) Nutrient use efficiency in plants. **Communications of Soil Science and Plant Analysis** 32: 921–950. doi:10.1081/CSS-100104098

Bao Q, Bao W, Li Y, Zhang S, Lian F, Huang Y (2021) Silicon combined with foliar melatonin for reducing the absorption and translocation of Cd and As by *Oryza sativa* L. in two contaminated soils. **Journal of Environmental Management** 287: 112343. doi:10.1016/j.jenvman.2021.112343

Bataglia OC, Furlani AMC, Teixeira JPF, Furlani PR, Gallo JR (1983) **Métodos de análise química de plantas**. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 48p. (Boletim Técnico 78).

Bityutskii N, Pavlovic J, Yakkonen K, Maksimović V, Nikolic M (2014) Contrasting effect of silicon on iron, zinc and manganese status and accumulation of metal-mobilizing compounds in micronutrient-deficient cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry** 74: 205–221. doi:10.1016/j.plaphy.2013.11.015

Boaretto LF, Carvalho G, Borgo L, Creste S, Landell MGA, Mazzafera P, Azevedo RA (2014) Plant physiology and biochemistry water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry** 74:165–175. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.11.016

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: micronutrients. In.: Marschner P (Ed.) **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd Edn, Oxford: Elsevier, p.191–249.

Burnell JN (1988) The biochemistry of manganese in plants. In.: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC (Eds.) **Manganese in Soils and Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 125-137.

Cao B, Ma Q, Zhao Q, Wang L, Xu K (2015) Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae** 194:53–62. doi: 10.1016/j.scienta.2015.07.037

Cavalcante VS, Prado RM, Vasconcelos RL, Campos CNS (2016) Iron concentrations in sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) cultivated in nutrient solution. **Agrociencia** 50:867–875

Cembrowska-Lech D, Koprowski M, Kępczyński J (2015) Germination induction of dormant *Avena fatua* caryopses by KAR1 and GA3 involving the control of reactive oxygen species (H_2O_2 and $O_2^{\cdot-}$) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase and catalase) both in the embryo and the aleurone layers. **Journal of Plant Physiology** 176:169–179. doi: 10.1016/j.jplph.2014.11.010

Chen A, Husted S, Salt DE, Schjoerring JK, Persson DP (2019) The Intensity of Manganese Deficiency Strongly Affects Root Endodermal Suberization and Ion Homeostasis. **Plant Physiology** 181: 729-742. doi:10.1104/pp.19.00507

de Abreu LGF, Grassi MCB, de Carvalho LM, da Silva JJB, Oliveira JVC, Bressiani JA, Pereira GAG (2020) Energy cane vs sugarcane Watching the race in plant development. **Industrial Crops and Products** 156: 112868. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112868

de Oliveira RLL, de Mello Prado R, Felisberto G, Checchio MV, Gratão PL (2019) Silicon Mitigates Manganese Deficiency Stress by Regulating the Physiology and Activity of Antioxidant Enzymes in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 19: 524-534. doi: 10.1007/s42729-019-00051-w

de Oliveira Rocha IL, de Mello Prado R, Oliveira KS, da Silva DL, Abreu-Junior CH (2022) Foliar spraying of Mn with addition of Si increases phenolic compound, photosynthetic efficiency, productivity and the protein content of the soybean crop. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. doi:10.1007/s42729-022-00780-5

Deshmukh R, Sonah H, Belanger R (2020) New evidence defining the evolutionary path of aquaporins regulating silicon uptake in land plants. **Journal of Experimental Botany** 71: 6775-6788. doi:10.1093/jxb/eraa342

dos Santos Sarah MM, de Mello Prado R, Teixeira GCM, de Souza Júnior, JP, Medeiros, RLS, Barreto RF (2021) Silicon Supplied Via Roots or Leaves Relieves Potassium Deficiency in Maize Plants. **Silicon**. doi:10.1007/s12633-020-00908-1

Droga V, Rochaix JD, Kim C (2018) Singlet oxygen-triggered chloroplast-to-nucleus retrograde signalling pathways: An emerging perspective. **Plant, Cell & Environment** 41:1727-1738. doi: 10.1111/pce.13332

Dumanović J, Nepovimova E, Natić M, Kuča K, Jačević V (2021) The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. **Frontiers in Plant Science**. doi:10.3389/fpls.2020.552969

Eisenhut M, Hoecker N, et al. (2018) The Plastid Envelope CHLOROPLAST MANGANESE TRANSPORTER1 Is Essential for Manganese Homeostasis in Arabidopsis. **Molecular Plant** 11: 955–969. doi:10.1016/j.molp.2018.04.008

Geng A, Wang X, Wu L, Wang F, Wu Z, Yang H, Chen Y, Wen D, Liu X (2018) Silicon improves growth and alleviates oxidative stress in rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by strengthening antioxidant defense and enhancing protein metabolism under arsanilic acid exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 158: 266–273. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.03.050

Gomes-Junior RA, Moldes CA, Delite FS, Gratão PL, Mazzafera P, Lea PJ, Azevedo RA (2006) Nickel elicits a fast antioxidante response in *Coffea arabica* cells. **Plant Physiology and Biochemistry** 44: 420-429. doi:10.1016/j.plaphy.2006.06.002

Gong X, Liu C, Wang X, Zhao M, Zhou M, Hong S, Wang S, Li N, Hong F (2010) Inhibition of the photosynthesis in maize caused by Mn deficiency. **Cereal Research Communications** 38: 353–365. doi:10.1556/crc.38.2010.3.6

Gong X, Hong M, Wang Y, Zhou M, Cai J, Liu C, Gong S, Hong F (2011) Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency. **Biological Trace Element Research** 141: 305–316. doi:10.1007/s12011-010-8716-z

Gonzalo MJ, Lucena JJ, Hernández-Apaolaza L (2013) Effect of silicon addition on soybean (*Glycine max*) and cucumber (*Cucumis sativus*) plants grown under iron deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry** 70: 455–461. doi:10.1016/j.plaphy.2013.06.007

Gratão PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 56:79–96. doi:10.1016/j.plaphy.2012.04.009

Greger M, Landberg T, Vaculík M (2018) Silicon Influences Soil Availability and Accumulation of Mineral Nutrients in Various Plant Species. **Plants** 7: 41. doi:10.3390/plants7020041

Guerriero G, Hausman J-F, Legay S (2016) Silicon and the plant extracellular matrix. **Frontiers in Plant Science** 7:463. doi: 10.3389/fpls.2016.00463

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 125:189–198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1

Hiraga S, Sasaki K, Ito H, Ohashi Y, Matsui H (2001) A Large The Water-culture Method for Growing Plants Without Soil Family of Class III Plant Peroxidases. **Plant and Cell Physiology** 42: 462-468. doi:10.1093/pcp/pce061

Hoagland DR, Arnon DI (1950) **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: Circular 247, 32p.

Hue N, Mai Y (2002) Manganese toxicity in watermelon as affected by lime and compost amended to a Hawaiian acid Oxisol. **HortScience** 37: 656-661. doi:10.21273/HORTSCI.37.4.656

Kim Y, Khan AL, et al. (2014) Silicon mitigates heavy metal stress by regulating P-type heavy metal ATPases, *Oryza sativa* low silicon genes, and endogenous phytohormones. **BMC Plant Biology** 14: 13. doi:10.1186/1471-2229-14-13

Kim Y-H, Khan AL, 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. doi: 10.3389/fpls.2017.00510

Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A (Eds) (2004) **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. Uberlândia: UFU, 50p.

Kraska JE, Breitenbeck GA (2010) Simple, robust method for quantifying silicon in plant tissue. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 41:2075–2085. doi:10.1080/00103624.2010.498537

Krieger-Liszkay A, Fufezan C, Trebst A (2008) Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. **Photosynthesis Research** 98: 551–564. doi:10.1007/s11120-008-9349-3

Liang Y, Zhang W, Chen Q, Liu Y, Ding R (2006) Effect of exogenous silicon (Si) on H⁺-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Environmental and Experimental Botany** 57: 212–219. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.05.012

Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148: 350-382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lidon FC, Barreiro MC, Ramalho JC (2004) Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology** 161: 1235-1244. doi: 10.1016/j.jplph.2004.02.003

Li M, Kim C (2022) Chloroplast ROS and stress signaling. **Plant Communications** 3:100264. doi:10.1016/j.xplc.2021.100264

Long L, Kristensen RK, Guo J, Chen F, Pedas PR, Zhang G, Schjoerring JK, Yuan L (2021) Assessing the variation in traits for manganese deficiency tolerance among maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany** 183: 104344. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104344

Ma JF (2004) Role of Silicon in Enhancing the Resistance of Plants to Biotic and Abiotic Stresses. **Soil Science and Plant Nutrition** 50:11–18; doi:10.1080/00380768.2004.10408447

Mercer F, Nittim N, Possingham JV (1962) The effect of manganese deficiency on the structure of spinach chloroplasts. **Journal of Cell Biology** 15: 379–383. doi:10.1083/jcb.15.2.379

Millaleo M, Reyes-Diaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M (2010) Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 10: 470-481. doi: 10.4067/S0718-95162010000200008

Mitani-Ueno N, Ma JF (2020) Linking transport system of silicon with its accumulation in different plant species. **Soil Science and Plant Nutrition** 67: 10-17. doi:10.1080/00380768.2020.1845972

Moradtalab N, Weinmann M, Walker F, Höglinger B, Ludewig U, Neumann G (2018) Silicon improves chilling tolerance during early growth of maize by effects on micronutrient homeostasis and hormonal balances. **Frontiers in Plant Science** 9: 1–17; doi:10.3389/fpls.2018.00420

Mousavi SR, Shahsavari M, Rezaei M (2011) A General Overview On Manganese (Mn) Importance For Crops Production. **Australian Journal of Basic Applied Sciences** 5: 1799–1803.

Nikolic DB, Nesic S, Bosnic D, Kostic L, Nikolic M, Samardzic J (2019) Silicon Alleviates Iron Deficiency in Barley by Enhancing Expression of Strategy II Genes and Metal Redistribution. **Frontiers in Plant Science** 10: 416. doi:10.3389/fpls.2019.00416

Oliveira KS, de Mello Prado R, Guedes VH (2020) Leaf spraying of manganese with silicon addition is agronomically viable for corn and sorghum plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 872-880. doi: 10.1007/s42729-020-00173-6

Oliveira KS, de Mello Prado R, Checchio MV, Gratão PL (2021) Silicon via nutrient solution modulates deficient and sufficient manganese sugar and energy cane antioxidant systems. **Scientific Reports** 11: 16900. doi:10.1038/s41598-021-96427-z

Önnerud H, Zhang L, Gellerstedt G, Henriksson G (2002) Polymerization of monolignols by redox shuttle-mediated enzymatic oxidation: a new model in lignin biosynthesis I. **Plant Cell** 14: 1953-1962. doi:10.1105/tpc.001487

Papadakis IE, Giannakoula A, Therios IN, Bosabalidis AM, Moustakas M, Nastou A (2007) Mn-induced changes in leaf structure and chloroplast ultrastructure of *Citrus volkameriana* (L.) plants. **Journal of Plant Physiology** 164: 100–103. doi:10.1016/j.jplph.2006.04.011

Pavlovic J, Samardzic J, et al. (2013) Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. **New Phytologist** 199: 1096–1107; doi:10.1111/nph.12213

Pavlovic J, Samardzic J, Kostic L, Laursen KH, Natic M, Timotijevic G, Schjorrring JK, Nikolic M (2016) Silicon enhances leaf remobilization of iron in cucumber under limited iron conditions. **Annals of Botany** 118: 271–280. doi: 10.1093/aob/mcw105

Pavlovic J, Kostic L, Bosnic P, Kirkby EA, Nikolic M (2021) Interactions of Silicon With Essential and Beneficial Elements in Plants. **Frontiers in Plant Science** 12:697592. doi: 10.3389/fpls.2021.697592

Pospíšil P (2016) Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress. **Frontiers in Plant Science** 7:1950. doi: 10.3389/fpls.2016.01950

Prado R de M (Ed) (2021) Mineral nutrition of tropical plants, Springer: International Publishing, 392p. doi: 10.1007/978-3-030-71262-4

Qu C, Gong X, Liu C, Hong M, Wang L, Hong F (2012) Effects of manganese deficiency and added cerium on photochemical efficiency of maize chloroplasts. **Biological Trace Element Research** 146: 94–100; doi:10.1007/s12011-011-9218-3

Rodrigues WS, Pereira YC, de Souza ALM, Batista BL, Lobato AK de S (2020) Alleviation of Oxidative Stress Induced by 24-Epibrassinolide in Soybean Plants Exposed to Different Manganese Supplies: Up Regulation of Antioxidant Enzymes and Maintenance of Photosynthetic Pigments. **Journal of Plant Growth Regulation** 39: 1425-1440. doi:10.1007/s00344-020-10091-7

Savant NK, Korndörfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: a review. **Journal of Plant Nutrition** 22: 1853–1903. doi: 10.1080/01904169909365761

Schmidt SB, Jensen PE, Husted S (2016) Manganese deficiency in plants: The impact on photosystem II. **Trends in Plant Science** 21: 622-632. doi:10.1016/j.tplants.2016.03.001

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany** 2012: 1–26. doi: 10.1155/2012/217037

Silva JLF da, Prado RM (2021) Elucidating the action mechanisms of silicon in the mitigation of phosphorus deficiency and enhancement of its response in sorghum plants. **Journal of Plant Nutrition** 44: 1-11. doi:10.1080/01904167.2021.1918155

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture** 16: 144-158.

Socha AL, Guerinot ML (2014) Mn-euvering manganese: the role of transporter gene family members in manganese uptake and mobilization in plants. **Frontiers in Plant Science** 5: 106. doi:10.3389/fpls.2014.00106

Swiader JM, Chyan Y, Freiji FG (1994) Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition** 17: 1687–1699. doi:10.1080/01904169409364840

Tahura S, Kabir AH (2021) Physiological responses and genome-wide characterization of TaNRAMP1 gene in Mn-deficient wheat. **Plant Physiology and Biochemistry** 162: 280–290. doi:10.1016/j.plaphy.2021.02.038

Teixeira GCM, de Mello Prado R, Oliveira KS, D’Amico-Damião V, Sousa Junior GS (2020) Silicon Increases Leaf Chlorophyll Content and Iron Nutritional Efficiency and Reduces Iron Deficiency in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 1311-1320. doi:10.1007/s42729-020-00214-0

Vega I, Nikolic M, Pontigo S, Godoy K, Mora MdLL, Cartes P (2019) Silicon Improves the Production of High Antioxidant or Structural Phenolic Compounds in Barley Cultivars under Aluminum Stress. **Agronomy** 9: 388. doi:10.3390/agronomy9070388

Wall MJ, Quinn AJ, D’Cunha GB (2008) Manganese (Mn²⁺)- dependent storage stabilization of *Rhodotorula glutinis* phenylalanine ammonia lyase activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 56: 894–902. doi:10.1021/jf072614u

Wilkinson RE, Ohki K (1988) Influence of manganese deficiency and toxicity on isoprenoid syntheses. **Plant Physiology** 87: 841–846. doi:10.1104/pp.87.4.841

Xu CX, Ma YP, Liu YL (2015) Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress. **South African Journal of Botany** 98: 26–36. doi:10.1016/j.sajb.2015.01.008

Yan G, Nikolic M, Ye M, Xiao Z, Liang Y (2018) Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. **Journal of Integrative Agriculture** 17: 2138–2150. doi:10.1016/S2095-3119(18)62037-4

Yu Q, Osborne L, Rengel Z (1998) Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. **Journal of Plant Nutrition** 21: 1427–1437. doi:10.1080/01904169809365493

Zhao HQ, Wang L, et al. (2014) Oxidative stress of maize roots caused by a combination of both salt stress and manganese deprivation. **Cereal Research Communications** 42: 568–577. doi:10.1556/CRC.2014.0005

Zia-ur-Rehman M, Akmal F. et al. (2016) Role of Silicon under Nutrient Deficiency: Advances and Future Prospects. In.: Tripathi DK, Singh VP, Ahmad P, Chauhan DK, Prasad SM (Eds.) **Silicon in Plant Advances and Future Prospects**. Boca Raton: FL:CRC Press, p. 29-46. doi:10.1201/9781315369310-3

CAPÍTULO 4 - A aplicação foliar de manganês com adição de silício na solução potencializa a resposta da cana-de-açúcar e da cana-energia por aumentar o acúmulo de manganês na planta e por diminuir o estresse oxidativo

RESUMO - A aplicação foliar de manganês (Mn) é importante forma de correção da deficiência nutricional, mas a resposta da planta pode ser potencializada com uso da concentração de Mn adequada e com a adição de silício (Si) na solução. Entretanto, essas pesquisas sobre a sinergia Mn e Si para cana-de-açúcar e cana-energia são escassas, assim como a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos. Para isso realizou-se essa pesquisa objetivando-se verificar os efeitos do fornecimento de concentrações de Mn com Si e sem Si via aplicação foliar no acúmulo destes elementos e em aspectos bioquímicos e fisiológicos de plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas sob deficiência de Mn. Foram realizados dois experimentos com as plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas em vasos preenchidos com areia recebendo solução nutritiva. Os experimentos foram compostos de arranjo fatorial 4 x 2, com aplicação foliar com solução nas concentrações de Mn iguais a 0,0; 0,32; 0,64 e 0,96 g L⁻¹ combinados com a ausência de Si e a presença de Si (0,476 g L⁻¹). Os tratamentos foram aplicados em quatro aplicações foliares nas duas espécies. As duas espécies das plantas que não receberam Mn e Si comparadas com as plantas que receberam os dois elementos apresentaram aumento do teor de malondialdeído (MDA) e diminuição da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), do índice relativo de clorofila e do crescimento. As plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia são responsivas a aplicação de Mn atingindo a concentração ótima para o crescimento iguais a 0,71 e 0,79 g L⁻¹ de Mn para cana-de-açúcar e cana-energia, respectivamente. A aplicação foliar com Mn quando associada ao Si incrementou o acúmulo de Mn, a redução da peroxidação lipídica, modulando atividade da superóxido dismutase (SOD) (SOD, EC 1.15.1.1) e ascorbato peroxidase (APX) (APX, EC 1.11.1.11) com aumento da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) e do índice relativo de clorofila tanto para *Saccharum officinarum* L. quanto para *Saccharum spontaneum* L., além de induzir o maior crescimento e produção de massa seca. Os resultados indicam que a adubação foliar com Mn é eficiente e o acréscimo do Si na solução como nova estratégia de manejo pode melhorar a resposta destas culturas a aplicação foliar de Mn.

Palavras-chave: Adubação foliar, Clorofila, Eficiência quântica, Metabolismo oxidativo, Mn, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

FOLIAR APPLICATION OF MANGANESE WITH SILICON IN THE SOLUTION POTENTIATES THE RESPONSE OF SUGARCANE AND ENERGY CANE BY INCREASING MANGANESE ACCUMULATION AND DECREASING OXIDATIVE DAMAGE

ABSTRACT - Foliar spraying of manganese (Mn) is important for the correction of nutritional deficiency, although the plant response can also be enhanced with the use of the adequate Mn concentration and the addition of silicon (Si) in the solution. However, researches on the synergy of Mn and Si for sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) and energy cane (*Saccharum spontaneum* L.), as well as on the biological mechanisms involved are scarce. Therefore, this study aimed to verify the effects of concentrations of Mn, with and without the addition of Si, and applied through foliar spraying on the accumulation of these elements and on the biochemical and physiological aspects of sugarcane and energy cane plants cultivated under Mn deficiency. Two experiments were carried out with sugarcane and energy cane plants cultivated in pots filled with sand and receiving a nutrient solution. The experiments were arranged in a 4 x 2 factorial design with the application of foliar spraying with a solution of Mn at concentrations equal to 0.0; 0.32; 0.64; and 0.96 g L⁻¹ combined with the absence of or the presence of Si (0.476 g L⁻¹). The treatments were applied in four foliar sprays on the two species. The plants of the two species, which did not receive Mn and Si, presented an increase in the malondialdehyde (MDA) content and a decrease in the quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm), relative chlorophyll index, and growth compared to the plants that received both elements. Sugarcane and energy cane plants were responsive to Mn spraying, reaching an optimal concentration for growth equal to 0.71 and 0.79 g L⁻¹ Mn for sugarcane and energy cane, respectively. Leaf spraying with Mn, when associated with Si, increased Mn accumulation, reduced lipid peroxidation, and modulated superoxide dismutase (SOD) (SOD, EC 1.15.1.1) and ascorbate peroxidase (APX) (APX, EC 1.11.1.11) activity with increased Fv/Fm and relative chlorophyll index for both sugarcane and energy, besides inducing the greatest growth and dry matter production. Our results indicate that foliar fertilization with Mn is efficient and the addition of Si in the solution as an efficient management strategy can improve the response of these crops to the foliar spraying of Mn.

Keywords: Foliar fertilization, Chlorophyll, Quantum efficiency, Oxidative metabolism, Mn, *Saccharum officinarum* L., *Saccharum spontaneum* L.

1 Introdução

O manganês (Mn) é um dos micronutriente mais absorvidos pelas culturas e tem havido muitos registros da sua deficiência especialmente em cultivos realizados em solos originalmente alcalinos (Schmidt et al., 2016) em diferentes regiões da Europa e da Ásia ou solos com reação ácida que receberam aporte excessivo de calcário (Mousavi et al., 2011) comum em regiões de cultivo da América do Sul. Os solos nestas condições à medida que aumenta o valor pH diminui o teor de Mn^{2+} trocável e Mn prontamente redutível no solo (Schmidt e Husted, 2019). Além disso, solos com alto teor de matéria orgânica induz formação de complexos orgânicos de Mn (Alejandro et al., 2020) diminuindo a absorção de Mn^{2+} pelas plantas.

Em solos nestas condições o manejo é complexo, pois têm-se dificuldade, ou não é possível, diminuir valor pH do solo ou teor de matéria orgânica, o que poderia aumentar a disponibilidade de Mn no solo. No entanto, tem-se a opção de fornecer Mn por aplicação foliar (Schmidt et al., 2016). A fertilização foliar especialmente na forma de quelatos pode ser mais adequada as necessidades da planta, em contraste com a fertilização no solo (Niu et al., 2021). Isso é viável especialmente para micronutriente pois a quantidade requerida pela planta não é elevada e ainda, a absorção é relativamente rápida, e consequentemente a correção da deficiência (Prado, 2021), sendo uma forma de aplicação de Mn que têm crescido nos últimos anos nos cultivos de diferentes regiões do mundo.

O Mn nas plantas tem alta capacidade de mudar o estado de valência, favorecendo os processos que requerem o transporte de elétrons e também é importante na ativação de enzimas no metabolismo das plantas, afetando principalmente a fotossíntese e o metabolismo oxidativo. Desse modo, a deficiência deste micronutriente está associada a desequilíbrios do sistema antioxidante como resultado de incrementos da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Broadley et al., 2012; de Oliveira et al., 2019). Além disso, tem-se a diminuição do poder antioxidante das enzimas SOD e APX (Yu et al., 1998; Yu e Rengel, 1999; Shenker et al., 2004; de Oliveira et al., 2019) pois o Mn atua como cofator redox de muitas enzimas como a SOD na forma Mn-SOD na mitocôndria e também está ligada a matriz e na membrana dos peroxissomos (Jackson et al., 1978; Corpas et al., 2017).

Os danos oxidativos da deficiência de Mn diminuem os pigmentos, principalmente as clorofilas (Hajiboland, 2012; Papadakis et al., 2007; Oliveira et al., 2021). O Mn também participa na estrutura de alguns componentes associados ao fotossistema II diminuindo sua eficiência quântica (De Bang et al., 2015; Schmidt et al., 2016) e, conseqüentemente, a produção de massa seca das culturas (Nozulaidi et al., 2016; de Oliveira et al., 2019; Oliveira et al., 2020; Oliveira et al., 2021; de Oliveira Rocha et al., 2022).

Desta forma, a nutrição adequada de Mn para as poáceas são importantes pois são plantas exigentes e responsivas a aplicação deste micronutriente (Prado, 2021). Neste grupo incluem-se a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e a cana-energia (*Saccharum spontaneum* L.), espécies importantes por favorecer a sustentabilidade ambiental pois são fonte de bioenergia, ou seja, biomassa para produção de biocombustível (etanol) e na cogeração de energia elétrica (Carvalho-Netto et al., 2014). Inclusive um estudo recente demonstrou danos biológicos da deficiência de Mn nestas espécies (Oliveira et al., 2021). No entanto, estudos indicando a resposta das duas espécies a aplicação foliar de Mn na forma de quelato para que possa indicar a concentração adequada do elemento na solução para aplicação foliar e seus efeitos biológicos nestas plantas, são desconhecidos.

Para melhorar a eficiência da adubação foliar de Mn além da necessidade de uso da concentração ótima de Mn na solução, pode-se explorar uma possível sinergia do Mn com Si. Portanto, é importante potencializar a resposta destas espécies à aplicação foliar de Mn para atenuar desordens nutricionais, e existe expectativa que isso pode ocorrer com o fornecimento do Si na calda. Isso é possível porque o Si é reconhecido por ser atenuante dos efeitos de estresses abióticos como a deficiência nutricional, especialmente em espécies acumuladoras de Si (Majumdar e Prakash, 2020; Ranjan et al., 2021) incluindo as Poáceas como a cana-de-açúcar. Inclusive existem relatos indicando que a pulverização foliar de Si na cana-de-açúcar foi suficiente para promover benefícios bioquímicos e fisiológicos na atenuação dos efeitos da deficiência hídrica (Teixeira et al., 2020 a, b).

Os trabalhos que relacionam o Mn e o Si predominam com fornecimento do segundo elemento via solução nutritiva para absorção radicular especialmente estudando toxicidade em outras espécies conforme indica revisão recente de Pavlovic

et al. (2021). A exploração agrônômica desta informação é restrita porque os estudos foram realizados utilizando o Si em solução nutritiva inviabilizando sua aplicação futura em condições de campo. Observou-se nestes estudos com fornecimento de Si via solução nutritiva que os benefícios do Si em plantas sob deficiência de Mn têm sido associados a melhorias do sistema antioxidante visto em plantas de sorgo (de Oliveira et al., 2019).

É possível que esses benefícios do Si na nutrição com Mn especialmente com fornecimento do Si via raiz podem estar associados com a elevada quantidade absorvida especialmente em plantas acumuladoras. No entanto, quando o Si isolado é fornecido via foliar na cana-de-açúcar, essa quantidade de Si absorvida diminui na planta em relação ao elemento fornecido via solo para absorção radicular (Teixeira et al., 2020 a, b). Assim, permanece a dúvida se mesmo havendo absorção foliar de Si quantitativamente inferior a radicular haveria o benefício do Si na atenuação do estresse com Mn.

Um estudo pioneiro em gramíneas restrito apenas a plantas de milho e de sorgo indica que o Si mesmo aplicado via foliar associado ao Mn é suficiente para aumentar a eficiência quântica do fotossistema II e potencializar a resposta das plantas (Oliveira et al., 2020). Neste estudo os autores não aprofundaram para avaliar os mecanismos envolvidos dos benefícios do Si via foliar no sistema de defesa antioxidante enzimático e seus reflexos na peroxidação lipídica. É possível que o maior benefício do Si via aplicação foliar seja sua ação bioquímica favorecendo absorção do Mn e/ou na atenuação do estresse oxidativo que poderiam potencializar a resposta das plantas a aplicação foliar de Mn, mas isso permanece desconhecido em todas as espécies incluindo a cana-de-açúcar e a cana-energia.

Neste contexto, tem-se as hipóteses de que a cana-de-açúcar e a cana-energia são responsivas a aplicação do Mn isolado via foliar havendo concentração ótima para o seu máximo crescimento, e que varia de acordo com a espécie (i). A adição de Si na solução para a aplicação com Mn é suficiente para potencializar a resposta das duas espécies nas concentrações do Mn avaliadas (ii). Os mecanismos do Si aplicado via foliar envolvidos nesta resposta a aplicação do Mn se deve ao fato de modular sistema antioxidante diminuindo a peroxidação lipídica favorecendo o incremento da eficiência quântica do FII, índice relativo de clorofila e do crescimento das plantas (iii).

Para isso realizou-se essa pesquisa objetivando-se avaliar os efeitos do fornecimento de concentrações de Mn com e sem Si via aplicação foliar no acúmulo destes elementos e em aspectos fisiológicos e bioquímico de plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia cultivadas sob deficiência de Mn.

Sendo aceita essas hipóteses, será possível fundamentar cientificamente a concentração de Mn na solução para garantir ótima fertilização foliar da cana-de-açúcar e da cana-energia e, ainda, pode ser potencializada com adição Si na calda e será conhecido os mecanismos biológicos envolvidos. Portanto, havendo o potencial sinérgico do Mn e do Si via foliar nas espécies estudadas constituirá em estratégia adicional relevante pois poderá ter ampla implicação prática. Isso porque existem diferentes solos deficientes de Mn no mundo havendo restrição técnica a aplicação do Mn via solo justificando a necessidade de uma eficiente adubação foliar com Mn.

2 Material e métodos

2.1 Condições de crescimento

Realizaram-se dois experimentos envolvendo duas espécies, a cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) variedade RB 966928 e a cana-energia (*S. spontaneum* L.) variedade tipo I Vertex 3. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus Jaboticabal, SP, Brasil, no período de janeiro a julho de 2019.

Foram obtidas mudas pré-brotadas a partir de mini toletes (5 cm de comprimento) contendo uma gema que foram plantados em bandeja de polipropileno preenchidas com vermiculita de granulometria fina. Após a emergência plena dos brotos das duas espécies, realizaram-se a aplicação de Si ($2,5 \text{ mmol L}^{-1}$) via fertirrigação em intervalos de quatro dias durante 50 dias apenas nas plantas que receberiam os tratamentos foliares com Si e com apenas água nas demais plantas. Todas as plantas receberam a solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) com modificação da fonte de Fe-EDTA para Fe-EDDHA e da concentração do Fe (270

$\mu\text{mol L}^{-1}$) conforme Cavalcante et al. (2016). O fornecimento de Si nesta fase teve como objetivo enriquecer as plantas com Si em período inicial de desenvolvimento.

Em seguida, houve fornecimento de solução nutritiva com concentração baixa de Mn ($0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$), e após 30 dias foi realizado o transplante das mudas para vasos de polipropileno de $1,5 \text{ dm}^3$ preenchidos com areia lavada. O fornecimento da solução nutritiva seguiu até o final dos experimentos. Realizou-se ajuste do valor pH da solução nutritiva ($5,5 \pm 0,5$) com o uso da solução de HCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) ou NaOH ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$).

2.2 Delineamento experimental e tratamentos

Os tratamentos consistiram em aplicações foliares de Mn na ausência e na presença de Si, arranjos em esquema fatorial 4×2 , dispostos em blocos casualizados com cinco repetições para os dois experimentos (cana-de-açúcar e cana-energia). Utilizaram-se quatro concentrações de Mn ($0,0$; $0,32$; $0,64$ e $0,96 \text{ g L}^{-1}$) na forma de quelato (Mn EDTA: 13%) com estabilizantes sorbitol, ácido fúlvico e ácido salicílico, combinados com a ausência e a presença de Si ($0,476 \text{ g L}^{-1}$) empregando a fonte silicato de potássio ($134,0 \text{ g L}^{-1}$ de Si, $164,4 \text{ g L}^{-1}$ de K_2O), que foram preparadas no momento das aplicações foliares.

Para definição da concentração máxima de Mn utilizada no tratamento foi realizado teste preliminar avaliando a aplicação foliar na cana-de-açúcar em concentrações de Mn ($0,35$ a $1,05 \text{ g L}^{-1}$) na forma de quelato (EDTA-Mn) combinado com Si ($0,476 \text{ g L}^{-1}$). A concentração de Si utilizada baseou-se em pesquisa anterior de Oliveira et al. (2020), em que houve ótima absorção foliar de Si combinado com Mn em outras gramíneas. Assim, foi definido a maior concentração de Mn sem haver reações de precipitação ou polimerização em solução verificado em laboratório e de ausência de danos fitotóxicos visíveis nas folhas das plantas aferidos aos 7 dias após a aplicação foliar fato que ocorreu apenas na concentração de $0,96 \text{ g L}^{-1}$ de Mn e na presença de Si ($0,476 \text{ g L}^{-1}$).

A calda para a aplicação foliar foi mantida no valor pH igual a 7,0 com o uso da solução de HCl ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) ou NaOH ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e para os tratamentos na ausência

de Si realizou-se ajuste na concentração de potássio na forma de KCl e dos aditivos aplicados nas aplicações foliares.

As aplicações foliares dos tratamentos nas plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia foram realizadas com pulverizador manual aos 10, 25, 40 e 55 dias após o transplante (DAT), quando as plantas estavam com seis, oito, dez e doze folhas completamente expandidas, respectivamente. O volume de solução aplicado por planta foi obtido com base na vazão do pulverizador, que totalizaram 4, 6, 8 e 10 mL para as quatro aplicações, respectivamente. Para as aplicações foliares o substrato foi coberto com algodão e papel absorvente para evitar absorção dos elementos químicos pelas raízes.

Na casa de vegetação foi medido a umidade relativa do ar média (mínima: 16,2% e máxima: 72,3%) e a temperatura do ar média (mínima: 17,8°C e máxima: 37,3°C) durante o período experimental para os dois experimentos. No momento de cada aplicação dos tratamentos via foliar a temperatura e a umidade relativa do ar foram também aferidas apresentando respectivamente, 95% e 20,6°C; 87% e 21,1°C; 95% e 21,2°C e; 78% e 18,5°C, para a primeira, segunda, terceira e quarta aplicação.

Ao final dos experimentos, a partir dos 70 dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas as avaliações em variáveis bioquímicas, fisiológicas e nutricionais nas plantas.

2.3 Análises

2.3.1 Acúmulo de Mn e Si

O teor de Mn da parte aérea foi determinado conforme método proposto por Bataglia et al. (1983). A determinação do teor de Si foi realizada conforme metodologia descrita por Kraska e Breitenbeck (2010), a partir da digestão feita pela adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidróxido de sódio (NaOH), com a reação induzida em estufa a 95°C, pelo período de quatro horas. A concentração de silício foi determinada a partir de leitura realizada por espectrofotômetro a 410 nm, pelo método de colorimetria descrito por Korndörfer et al. (2004). O acúmulo de Mn e de Si da parte aérea foi obtido pelo produto da massa seca e o teor dos elementos.

2.3.2 Teor de malondialdeído (MDA)

Para determinar a peroxidação lipídica coletou-se a primeira folha completamente expandida aos 73 DAT após a imposição dos tratamentos, seguiu-se os métodos descritos por Heath e Packer (1968). Foi determinada a concentração de equivalente de malondialdeído (MDA) a partir da leitura em espectrofotômetro entre 535 e 600 nm, e após os dados obtidos a partir do coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ com os resultados de MDA foram expressos em nMol g^{-1} de matéria fresca (Gratão et al., 2012).

2.3.3 Extração de proteína

A extração de proteína solúvel total com 1,0 grama da primeira folha completamente desenvolvida (coletada aos 73 DAT) e homogeneizadas em um almofariz resfriado com um pilão utilizando tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA) 1 mM, DL-ditioneitol 3 mM e 5% (p / v) polivinilpolipirrolidona insolúvel na proporção volume / massa fresca de 3:1 (Boaretto et al., 2014). O material foi centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min, e o sobrenadante foi armazenado a -80°C para posterior determinação das atividades das enzimas SOD e APX. A concentração de proteína foi avaliada seguindo o método de Bradford (1976) usando albumina de soro bovino como padrão, sendo expresso em mg mL^{-1} proteína.

2.3.4 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD (SOD, EC 1.15.1.1) foi obtida com auxílio de espectrofotômetro, conforme descrito em Cembrowska-Lech et al. (2015), com a reação conduzida em uma câmara de reação (caixa) sob iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, a 25°C . Após realizou-se leitura a 560 nm e a atividade de SOD expressa em U mg^{-1} proteína.

2.3.5 Atividade da ascorbato peroxidase (APX)

A atividade da APX (APX, EC 1.11.1.11) foi mensurada em reação contendo o extrato vegetal, tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0), ascorbato 5 mM, EDTA 1 mM e H_2O_2 1 mM (Gratão et al., 2012). A leitura da taxa de oxidação do ascorbato foi realizada em espectrofotômetro a 290 nm a 30°C ao longo de 1 minuto. A atividade de APX foi expressa em $\text{nmol min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{proteína}$.

2.3.6 Eficiência quântica do FSII (Fv/ Fm)

A eficiência quântica do FSII foi obtida a partir da medida da fluorescência da clorofila com o auxílio de fluorímetro (Opti-sciences - Os30P). Para isso, a região amostrada foi submetida ao escuro para adaptação de no mínimo 30 minutos antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 segundo. As medidas foram realizadas entre 7h e 8h no terço médio da folha mais nova completamente desenvolvida que recebeu a última aplicação foliar (oitava folha) aos 71 DAT para as plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia.

2.3.7 Índice relativo de clorofila

O índice relativo de clorofila (IRC) foi realizado aos 70 DAT nas plantas de cana-de-açúcar e da cana-energia, respectivamente, no terço médio da folha mais nova completamente desenvolvida que recebeu a última aplicação foliar (oitava folha), a qual, foi marcada no momento da aplicação. O índice foi estimado com uma média de cinco leituras por unidade experimental usando o medidor de clorofila Opti-sciences® CCM – 200.

2.3.8 Crescimento das plantas

A altura foi medida 74 DAT, nas plantas de cana-de-açúcar e cana-energia, respectivamente. As plantas foram aferidas da base do colmo até o ápice da última folha completamente expandida.

A área foliar para cana-de-açúcar e cana-energia foi realizada aos setenta e quatro DAT, destacando-se todas as folhas e realizou-se a leitura com auxílio do aparelho medidor de área foliar (LI-3100, Li-Cor, EUA).

Para determinação da massa seca as plantas foram cortadas na base do substrato e separadas colmos e folhas aos setenta e quatro DAT para compor massa seca da parte aérea. As plantas foram lavadas com solução de detergente (0,1% v/v), solução ácida com HCl 1,0 mol L⁻¹ (0,3% v/v) e água deionizada, e em seguida as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 ± 2 °C até atingir massa constante e em seguida pesadas em balança analítica com resultados em gramas de massa seca.

2.4 Análise estatística

Os dados foram testados quanto a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Levène). Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F e para a comparação de médias realizou-se teste de Tukey, a 5% de probabilidade e estudo de regressão polinomial, e escolha do modelo com base no maior valor do coeficiente de determinação e significativo a 5% de probabilidade pelo teste T utilizando o programa estatístico SAS® (Cary, NC, USA). Os pontos máximos e mínimos dos modelos foram obtidos a partir de derivação das equações dos modelos matemáticos.

3 Resultados

O acúmulo de Si nas plantas de cana-de-açúcar (Figura 1a) e de cana-energia (Figura 1b) depende das concentrações de Mn e do Si empregadas na aplicação foliar. O incremento das concentrações de Mn nas aplicações foliares e apenas na presença de Si na solução em relação a sua ausência, incrementaram o acúmulo do Si na parte aérea das duas espécies.

Para as duas espécies, a aplicação foliar com incremento das concentrações de Mn na ausência de Si na solução aumentou com ajuste linear o acúmulo de manganês na planta. No entanto, a aplicação foliar da solução com a presença de Si

em relação a sua ausência, atingiu o máximo acúmulo do Mn nas concentrações de Mn iguais a 0,32, 0,64 e 0,96 g L⁻¹ correspondendo incremento de 74%, 140 % e 91%, respectivamente (Figura 1c). O ponto de máximo acúmulo de Mn em cana-de-açúcar ocorreu na concentração de Mn 0,85 g L⁻¹ na presença do Si na solução. Em cana-energia, a solução com Mn aplicada na presença de Si incrementou o acúmulo de Mn apenas na concentração de Mn igual a 0,64 g L⁻¹ atingindo aumento de 56%. A aplicação foliar de solução de Mn contendo Si na cana-energia atingiu máximo acúmulo de Mn na concentração 0,75 g L⁻¹ de Mn (Figura 1d).

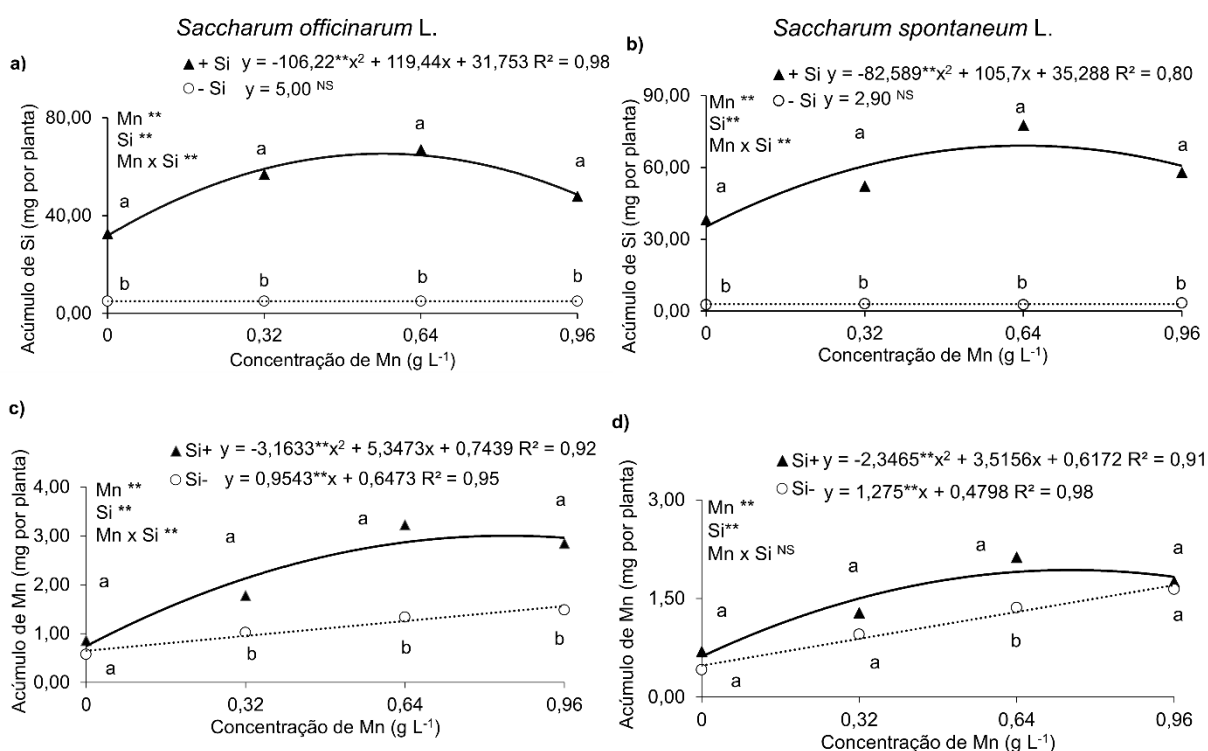


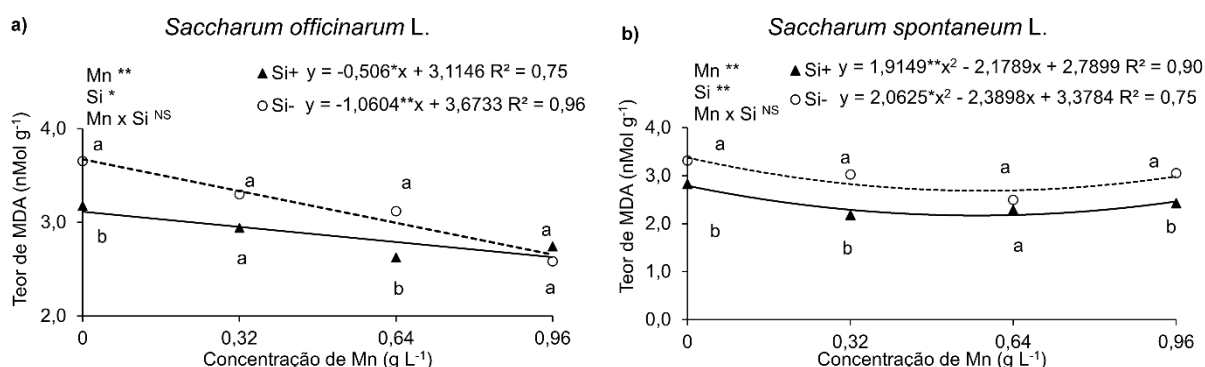
Figura 1. Acúmulo de Si (a, b) e Mn (c, d) na parte aérea de plantas de cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) e de cana-energia (*S. spontaneum* L.), respectivamente em relação ao aumento das concentrações de Mn (Mn) na ausência (-Si) e na presença de silício (+Si) aplicados via foliar. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{NS} não significativo pelo teste F; Letras diferentes na mesma concentração indicam diferença entre presença e ausência de silício ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey).

O aumento das concentrações de Mn independentemente da presença de Si na solução para a aplicação foliar, diminuiu o teor de MDA nas folhas das plantas de cana-de-açúcar, mas com solução contendo Si reduziu o teor de MDA apenas nas

concentrações de Mn iguais a 0,0 e 0,64 g L⁻¹ (Figura 2a). Em cana-energia, houve a redução do teor de MDA com o aumento das concentrações de Mn na presença ou na ausência de Si na solução empregado na aplicação foliar (Figura 2b). Os menores teores de MDA (2,17 e 2,69) na cana-energia ocorreram com aplicação foliar nas concentrações 0,57 e 0,58 g L⁻¹ de Mn, na presença e na ausência de Si, respectivamente. Contudo, a aplicação foliar com Mn na presença de Si na solução reduziu o teor de MDA nas concentrações de Mn iguais a 0; 0,32 e 0,96 g L⁻¹.

Houve incremento com ajuste linear da atividade das enzimas SOD e APX em cana-de-açúcar com aumento das concentrações de Mn na presença de Si aplicadas nas plantas (Figura 2c e 2e). Enquanto, a aplicação foliar de Mn na ausência de Si teve aumento na atividade da SOD e da APX a partir das concentrações de Mn iguais a 0,18 e 0,11 g L⁻¹ de Mn, respectivamente. Ainda na cana-de-açúcar a presença de Si na calda para a aplicação foliar reduziu a atividade da SOD apenas na concentração de Mn igual a 0,96 g L⁻¹ e também reduziu a atividade da APX apenas nas concentrações de Mn iguais a 0,64 e 0,96 g L⁻¹.

Em cana-energia, a aplicação foliar de Mn na concentração 0,45 e 0,43 g L⁻¹ de Mn na presença de Si e na ausência de Si, respectivamente resultou na menor atividade da SOD na planta (Figura 2d). Houve aumento com ajuste linear da atividade da APX na cana-energia com aumento das concentrações de Mn na ausência e na presença de Si na solução aplicada nas plantas de cana-energia (Figura 2f). A aplicação foliar utilizando solução em todas as concentrações de Mn estudadas na presença de Si em relação a sua ausência reduziu a atividade da SOD da cana-energia.



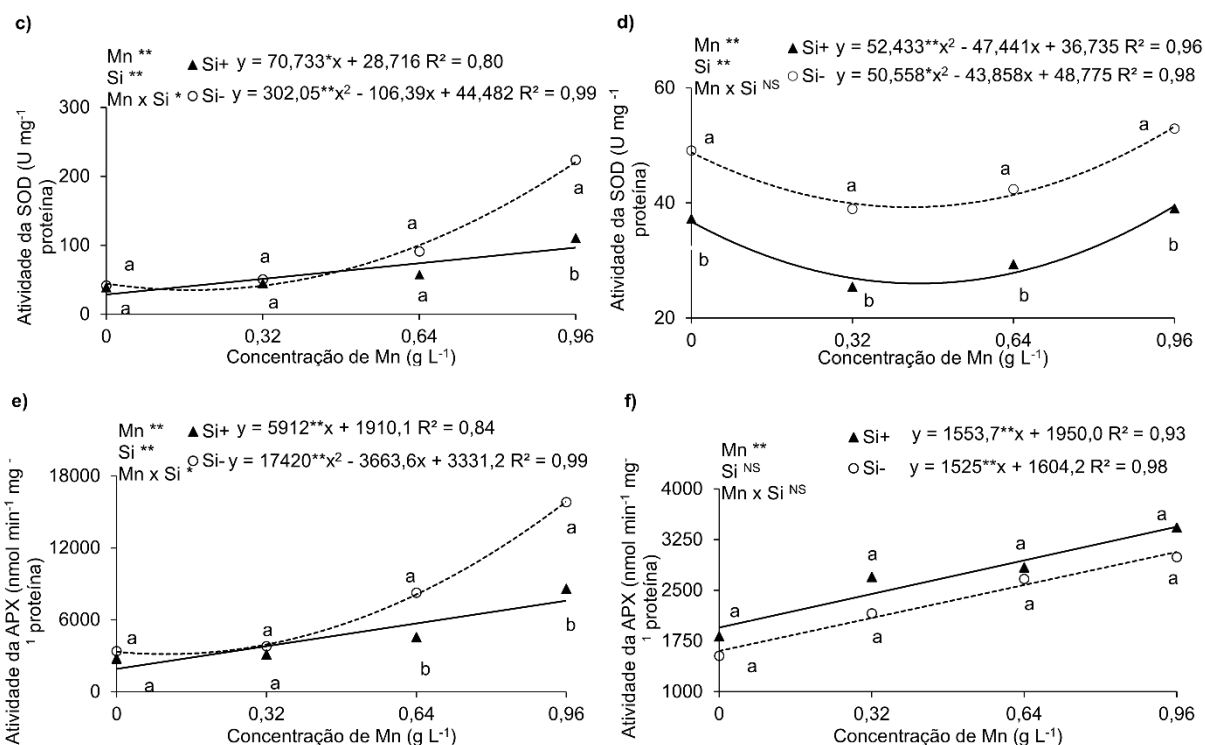


Figura 2. Teor de malondialdeído (a, b), atividade da SOD (c, d) e atividade da APX (e, f) de folhas de cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) e de cana-energia (*S. spontaneum* L.) em relação ao aumento das concentrações de Mn (Mn) na ausência (-Si) e na presença de silício (+Si) aplicados via foliar. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{NS} não significativo pelo teste F; Letras diferentes na mesma concentração indicam diferença entre presença e ausência de silício (p < 0,05, pelo teste de Tukey).

As concentrações de Mn aplicadas na presença e na ausência de Si aumentaram a eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) em plantas de cana-de-açúcar (Figura 3a) e de cana-energia (Figura 3b). A aplicação foliar de Mn na presença e na ausência do Si aumentou a Fv/Fm em plantas de cana-de-açúcar atingindo ponto de máximo na concentração de Mn iguais a 0,53 e 0,69 g L⁻¹, respectivamente. O uso da solução de Mn na presença de Si na calda em relação a sua ausência aumentou a eficiência quântica do FSII nas concentrações de Mn iguais 0,0, 0,32 e 0,64 g L⁻¹ correspondendo aumento de 4%, 3% e 3%, respectivamente (Figura 3a).

Em cana-energia, a aplicação foliar com Mn na ausência e na presença de Si proporcionou a máxima eficiência quântica na concentração de Mn iguais a 0,63 e 0,58 g L⁻¹, respectivamente (Figura 3b). Ainda nesta espécie, a aplicação foliar com Mn na presença de Si em relação a sua ausência resultou em incremento da eficiência

quântica do FSII apenas nas concentrações de Mn iguais a 0 e 0,64 g L⁻¹, correspondendo aumento de 4% e de 5% respectivamente.

A aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si na calda aumentou atingindo valor máximo do índice relativo de clorofila na cana-de-açúcar na concentração de Mn iguais a 0,84 e 0,63 g L⁻¹, respectivamente (Figura 3c). Em cana-energia, aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si na solução proporcionou máximo índice de clorofila nas concentrações de Mn iguais 0,74 e 0,62 g L⁻¹, respectivamente. Enquanto a aplicação foliar de Mn na presença do Si na solução em relação a sua ausência incrementou o índice relativo de clorofila apenas nas concentrações de Mn iguais 0,0 e 0,64 g L⁻¹ correspondendo aumento de 13% e 11%, respectivamente (Figura 3d).

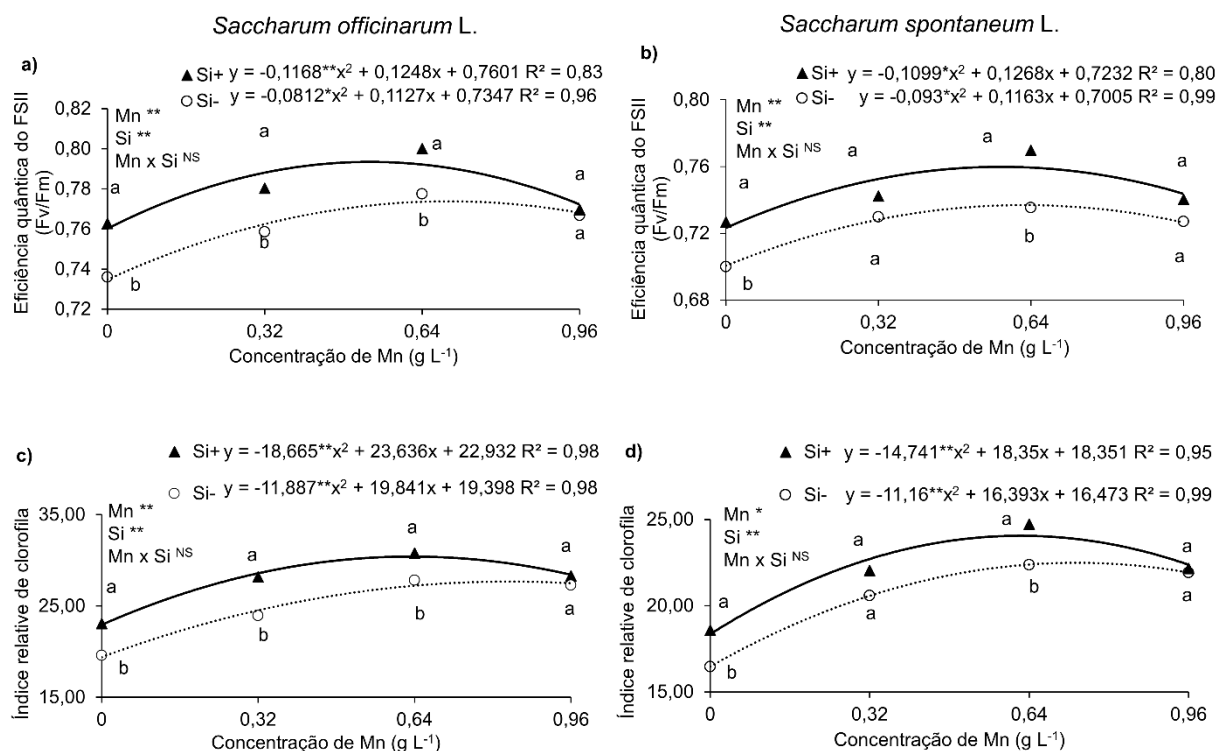


Figura 3. Eficiência quântica do fotossistema II (a, b) e o índice relativo de clorofila (c, d) de folhas de cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) e de cana-energia (*S. spontaneum* L.) em relação ao aumento das concentrações de Mn (Mn) na ausência (-Si) e na presença de silício (+Si) aplicados via foliar. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{NS} não significativo pelo teste F; Letras diferentes na mesma concentração indicam diferença entre presença e ausência de silício ($p < 0,05$, pelo teste de Tukey).

A aplicação foliar de Mn independentemente da presença de Si incrementou a área foliar, altura e a massa seca das plantas de cana-de-açúcar (Figura 4a, 4c e 4e) e de cana-energia (Figura 4b, 4d e 4f). Enquanto, a aplicação de Mn foliar na presença de Si em relação a ausência na solução incrementou a área foliar da cana-de-açúcar nas concentrações de Mn iguais 0,0, 0,32 e 0,64 g L⁻¹ correspondendo aumento de 35%, 32% e 33%, respectivamente.

A aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si na solução atingiu máxima área foliar da cana-de-açúcar apenas nas concentrações de Mn iguais a 0,90 e 0,57 g L⁻¹, respectivamente (Figura 4a). Em cana-energia, a aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si proporcionou máxima área foliar nas concentrações de Mn iguais a 0,63 e 0,58 g L⁻¹, respectivamente. A aplicação foliar de Mn na presença de Si em relação a ausência de Si incrementou a área foliar apenas nas concentrações de Mn iguais a 0 e 0,64 g L⁻¹ correspondendo aumento de 37 e 27%, respectivamente (Figura 4b).

A aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si proporcionou máxima altura da cana-de-açúcar nas concentrações de Mn iguais a 0,74 e 0,62 g L⁻¹, respectivamente (Figura 4c). O fornecimento de Mn via foliar na presença de Si em relação a ausência de Si incrementaram altura da cana-de-açúcar nas concentrações de Mn iguais a 0,0, 0,32 e 0,64 g L⁻¹ correspondendo aumento de 7%, 8% e 6%, respectivamente. Em cana-energia, a aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si proporcionou a maior altura da planta nas concentrações de Mn iguais a 0,67 e 0,62 g L⁻¹, respectivamente. Nesta espécie, a aplicação foliar de Mn na presença de Si em relação a ausência promoveu incremento da altura da cana-energia apenas nas concentrações de Mn iguais a 0 e 0,64 g L⁻¹ (Figura 4d).

A aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si proporcionou máxima produção de massa seca nas concentrações de Mn iguais 0,71 e 0,55 g L⁻¹, respectivamente (Figura 4e). O fornecimento foliar de Mn na presença de Si em relação a ausência de Si incrementou a massa seca da parte aérea de cana-de-açúcar apenas nas concentrações de Mn iguais a 0,0, 0,32 e 0,64 g L⁻¹, correspondendo aumento de 26%, 29% e 20%, respectivamente.

A máxima massa seca em plantas da cana-energia ocorreu com aplicação foliar de Mn na ausência e na presença de Si nas concentrações de Mn iguais a 0,79 e 0,62

g L⁻¹, respectivamente. A aplicação foliar de Mn na presença de Si em relação a ausência incrementou a massa seca da cana-energia apenas nas concentrações de Mn iguais a 0,0 e 0,64 g L⁻¹ de Mn correspondendo incremento de 22% e 19%, respectivamente (Figura 4f).

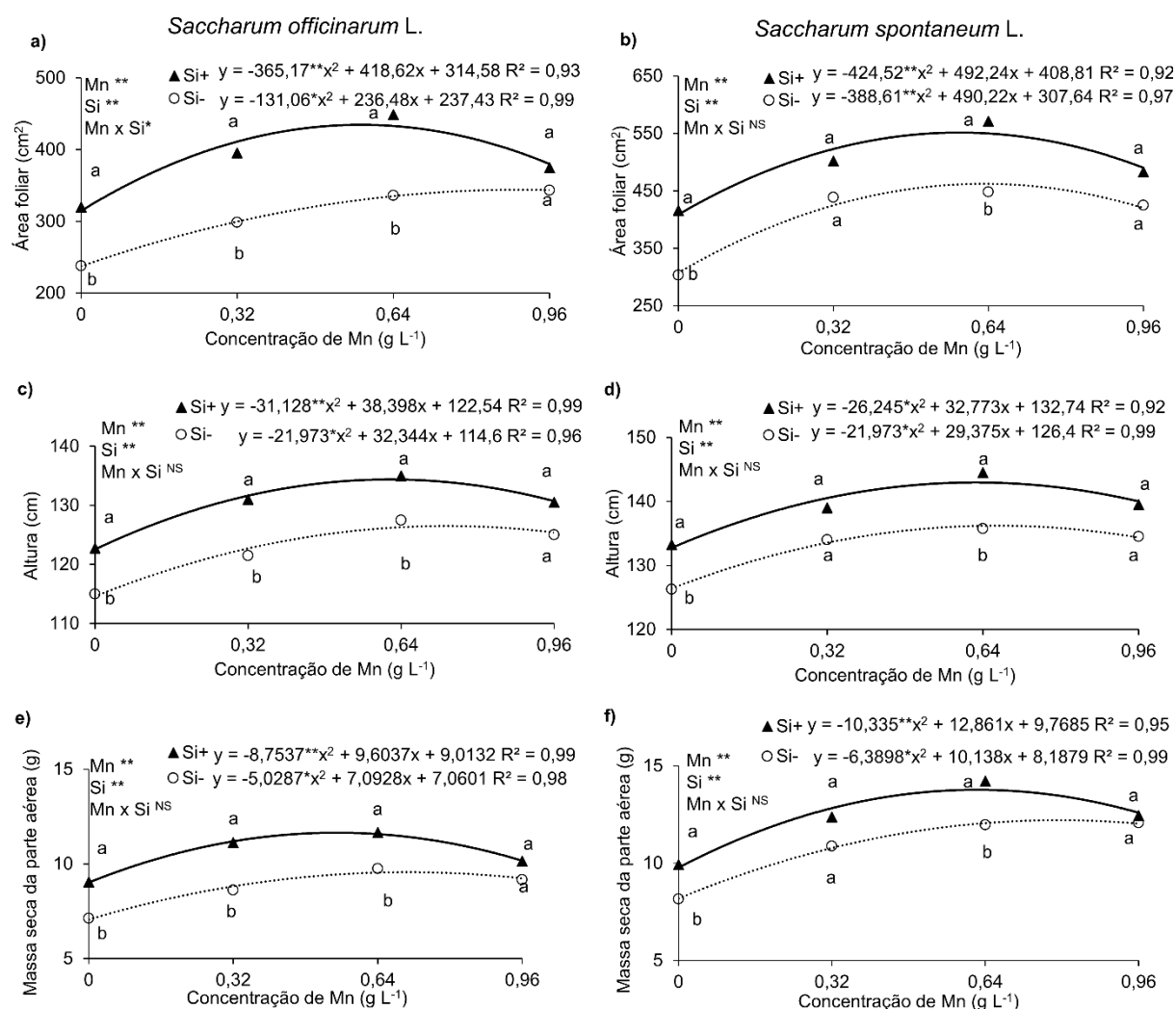


Figura 4. Área foliar (a, b), altura (c, d) e massa seca da parte aérea (e, f) de plantas de cana-de-açúcar (*S. officinarum* L.) e de cana-energia (*S. spontaneum* L.) em relação ao aumento das concentrações de Mn (Mn) na ausência (-Si) e na presença de silício (+Si) aplicados via foliar. **Significativo a 1% de probabilidade; * significativo a 5% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo teste F; Letras diferentes na mesma concentração indicam diferença entre presença e ausência de silício (p < 0,05, pelo teste de Tukey).

4 Discussão

A cana-de-açúcar é uma espécie eficiente na absorção de Si via sistema radicular (Savant et al., 1999; Camargo e Keeping, 2021) pois apresentam transportadores eficientes. Para fornecer o elemento para a planta tem havido interesse pela aplicação foliar exclusiva de Si tendo resultados promissores em *Saccharum officinarum* L. (Teixeira et al., 2020 a, b).

No campo, é comum uso de aplicações foliares com a mistura de nutrientes ou elementos químicos para aumentar eficiência do trabalho e diminuir custos de aplicação. No caso da compatibilidade do Si e do Mn na mesma solução e seus reflexos na absorção foliar pouco se conhecia e nenhuma informação em plantas de cana-de-açúcar e cana-energia. Assim, a novidade deste estudo é o fato que houve absorção foliar de Si pela cana-de-açúcar e cana-energia indicando que é possível a mistura destes elementos (Si e Mn) na mesma solução sem prejuízo para a absorção do elemento benéfico. Isso indica que esses dois elementos não reagiram em solução para induzir reações químicas indesejáveis como de precipitação ou polimerização que poderia suprimir a absorção foliar destes elementos.

Isto deve-se ao uso de quelato de Mn pois ele possui quelante que acopla o Mn por ligações covalentes a partir dos grupos amino ou oxigênio resultando em molécula com carga elétrica praticamente nula (Sekhon, 2003). O Mn quelatado evita reações com Si e formação de silicatos de baixa solubilidade, fato que ocorre quando há cátions livres em solução como Mn^{2+} (Lindsay, 1979). Além disso, a ótima absorção foliar de Si ou Mn pelas plantas pode ser reflexo do uso de estabilizantes como o sorbitol, que tem capacidade umectante e contribui para manutenção da calda por mais tempo na superfície do limbo foliar (reduz ponto de deliquescência) (Will et al., 2011) e ainda contribui com a estabilidade do ácido monosilícico em solução (Kubicki e Heaney, 2003). Os benefícios do sorbitol foram demonstrados por Souza Júnior et al. (2020) avaliando fontes de Si, evidenciando a melhoria na estabilidade e redução da polimerização de Si.

Para haver expectativa de resposta da cultura da cana-de-açúcar e da cana-energia a aplicação foliar de Mn torna-se necessário haver adequada absorção foliar

do Mn que depende da concentração de Mn na solução, mas essa informação permanecia desconhecida nas duas espécies estudadas.

Observou-se que a concentração ótima de Mn na solução a ser aplicada nas plantas das duas espécies estudadas para resultar máximo acúmulo de Mn foi relativamente mais baixa quando adicionou o Si na solução em relação a sua ausência, ou seja, aplicação isolada de Mn sem adição de Si. Assim, o máximo acúmulo de Mn na planta ocorreu com uso da solução com concentração de Mn ($0,85 \text{ g L}^{-1}$ Mn para cana-de-açúcar e $0,75 \text{ g L}^{-1}$ Mn para cana-energia) inferior na presença de Si na solução em relação à solução com a ausência de Si ($>0,96 \text{ g L}^{-1}$ Mn para as duas espécies). Fica evidenciado que o acréscimo de Si na solução pode estar otimizando a absorção foliar de Mn e conseqüentemente a eficiência da aplicação foliar de Mn.

Existem relatos indicando que o Si pode desempenhar papel de mensageiro, ligando-se aos grupos hidroxila de proteínas envolvidas na sinalização celular, participando, assim, da transdução de sinal (Fauteux et al., 2005). Assim é possível que o Si possa sinalizar a expressão de genes que codificam eficientes transportadores de Mn nas folhas pois isto já foi verificado para o Fe (Pavlovic et al., 2016) com carregador ou transportador que também transporta Mn nas folhas e está envolvido na sua redistribuição (Alejandro et al., 2020), mas ainda não bem compreendido.

O aumento da absorção de Mn na planta em função da sua aplicação foliar sem Si ou com o Si na calda induziu benefícios biológicos importantes na cana-de-açúcar e na cana-energia em relação às plantas sem aplicação de Mn, ou seja, deficiente deste micronutriente. Inicialmente foi evidenciado a importância do aumento das concentrações de Mn com ou sem Si na solução na diminuição da peroxidação lipídica embora tenha variado com as espécies onde teve menor efeito na cana-de-açúcar pois para atingir teor mínimo de MDA a concentração de Mn necessária ($> 0,96 \text{ g L}^{-1}$ de Mn) foi superior ao obtido na cana-energia ($0,57\text{-}0,58 \text{ g L}^{-1}$ de Mn).

Da mesma forma, as respostas da planta às atividades das enzimas antioxidantes devido ao aumento do conteúdo de Mn variaram com as espécies. Na cana-de-açúcar o aumento do conteúdo de Mn na planta em função das aplicações foliares com Mn aumentou a atividade das enzimas SOD e APX com ou sem Si. Isto

pode ser explicado pelo fato de o Mn ser cofator da enzima SOD, uma das isoformas desta enzima que são responsáveis por catalisar a reação de dismutação dos íons superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em H_2O_2 (Millaleo et al., 2010; Broadley et al., 2012; Sharma et al., 2012). Além disso, a maior atividade da APX observada também é reflexo da atuação da SOD em gerar substrato (H_2O_2) para esta enzima, pois a APX atua na sequência, catalisando a reação de conversão de H_2O_2 em oxigênio e água (Broadley et al., 2012).

Enquanto para a cana-energia, houve alta atividade da SOD nas plantas deficientes, mas com a aplicação foliar de Mn especialmente em concentrações intermediárias diminuiu a atividade enzimática e a peroxidação lipídica. Portanto, neste caso, possivelmente esta menor atividade da SOD esteja associada, principalmente, a menor demanda de resposta do metabolismo antioxidante pelo menor acúmulo de ERO formadas quando houve aporte de Mn via aplicação foliar e também, pode ser reflexo de ajustes das demais isoformas da SOD como a Cu/Zn-SOD e a Fe-SOD que afetam a atividade total da SOD (Yu e Rengel, 1999; Shenker et al., 2004). Desta forma o aumento da atividade enzimática da SOD e APX especialmente nas maiores concentrações de Mn na calda com ou sem Si contribuíram com algumas variações de acordo com a espécie para diminuir o estresse oxidativo das culturas.

O incremento do acúmulo do Mn na planta através da aplicação foliar ao diminuir estresse oxidativo discutido para as duas espécies estudadas favoreceu a eficiência quântica do FSII e o índice relativo de clorofila, tanto em plantas de cana-de-açúcar como em plantas de cana-energia. Isso ocorre porque o Mn compõe o complexo da enzima Mn_4CaO_5 que fotooxida a água e gera elétrons que são transportados entre os fotossistemas na fotossíntese (Broadley et al., 2012) e ainda compõe as proteínas extrínsecas do FSII (*PsbQ* e *PsbP*) (De Bang et al., 2015). Enquanto o aumento do teor de clorofila com aplicação foliar do Mn se deu porque esse nutriente é importante para a síntese de lipídeos e proteínas (Ness e Woolhouse, 1980; Lidon et al., 2004; Broadley et al., 2012) que compõe a estrutura dos cloroplastos.

A correção da deficiência de Mn com ou sem Si a partir do uso da aplicação foliar com o Mn foi eficiente para incrementar o crescimento das duas espécies. Estudos avaliando a resposta da cana-de-açúcar e da cana-energia a aplicação foliar

de Mn é pouco conhecido havendo apenas um estudo restrito a cana-de-açúcar com aplicação foliar de sulfato de manganês a 1% equivalente a fonte monohidratado ($3,25 \text{ g L}^{-1} \text{ Mn}$) cultivada em solo com baixo teor de Mn onde foi constatado maior crescimento da planta (Mishra et al., 2014), isso é motivo de preocupação quando se objetiva alta eficiência da adubação foliar.

Estes resultados evidenciam a importância biológica do Mn com ou sem Si na calda sendo primeiro estudo estabelecendo as concentrações de Mn adequadas para aplicação foliar para cana-de-açúcar ($0,71 \text{ g L}^{-1} \text{ Mn}$) e cana-energia ($0,79 \text{ g L}^{-1} \text{ Mn}$) utilizando a forma de Mn quelatada, bem inferior a indicada por Mishra et al. (2014) ($3,25 \text{ g L}^{-1}$ de Mn). Essa diferença nas concentrações ótimas de Mn para aplicação foliar se deve a fonte, pois diferenciam no processo de absorção inclusive há menor adsorção na cutícula foliar com uso da fonte quelatada (Prado 2021). Este fato diminui a concentração ótima de Mn na forma quelatada em relação ao uso do sal (sulfato de manganês) visto em estudos comparando fontes de Mn em outras espécies como a soja (Randall et al., 1975; Ohki et al., 1987).

Cabe destacar que a falta da interação Mn e Si nas duas espécies indica de forma geral nas variáveis estudadas que o acréscimo de Si na calda foi importante em todas as concentrações de Mn incluindo as plantas sem Mn e não apenas em uma concentração específica do elemento.

Os resultados do benefício do Si nas duas espécies mesmo sem aplicação foliar de Mn, ou seja, nas plantas deficientes do Mn chama a atenção. Observou-se redução da peroxidação lipídica em plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia deficientes em Mn que pode ter sido resultado da ação de outros componentes do sistema de defesa, enzimáticos ou não enzimáticos, podendo ser foco de investigações futuras, pois não houve efeito do Si na atividade da SOD e da APX, exceto a SOD que diminuiu sua atividade nas plantas de cana-energia. Assim, é possível que o Si possa ter diminuído a produção de ERO no metabolismo tendo efeito na estabilidade da proteína da membrana celular (Liang et al., 2007) reduzindo peroxidação lipídica, pois houve benefício na eficiência quântica do FSII e o índice relativo de clorofila, fatos observados por outros autores (Ma, 2004; Gong e Chen, 2012; Cao et al., 2015; Souza Júnior et al., 2019).

Estudos recentes têm constatado o papel do Si na melhoria da Fv/Fm em plantas sob estresse abiótico pela indução do Si na expressão de genes ligados ao FSII independentemente da ação antioxidante visto em plantas de arroz e de tomate (Song et al., 2014; Zhang et al., 2018) e ainda pela diminuição do escape de elétrons que podem reagir com o O₂ gerando espécies que degradam a clorofila (Sharma et al., 2012; Schmidt et al., 2016). Relatos de menor degradação da clorofila pelo fornecimento exclusivo de Si em plantas sob estresse foram descritos em cana-de-açúcar (Teixeira et al., 2020a). Portanto, evidenciou-se que apenas a aplicação foliar de Si em planta deficiente de Mn é suficiente para diminuir o estresse oxidativo favorecendo a eficiência fotossintética e consequentemente aumentando o crescimento das plantas de cana-de-açúcar e da cana-energia.

De forma geral evidenciou-se nesta pesquisa que a adição de Si na calda em relação a sua ausência favoreceu a resposta das duas espécies estudadas que receberam a aplicação foliar de Mn ao aumentar absorção de Mn que refletiu em aspectos bioquímicos e fisiológicos estudados, mas com alguma variação, portanto é oportuno discutir os resultados para cada concentração de Mn estudada.

Na cana-de-açúcar e na cana-energia que receberam aplicação foliar na concentração baixa de Mn (0,32 g L⁻¹), indica resposta antioxidante distinta. Em cana-de-açúcar nesta concentração de Mn não houve efeito do Si sobre a SOD ou a APX, como também não afetou a peroxidação lipídica. Contudo, neste caso, o incremento do Mn acumulado na planta (74%) com adição de Si na calda foi alto nesta concentração subótima. Quando há maior absorção de Mn promovido pelo Si tem-se melhoria das funções fisiológicas do Mn na planta incrementando a eficiência quântica do FSII e o transporte de elétrons e mantendo a estrutura dos tilacóides e preservando a clorofila fato verificado por outros autores avaliando apenas o efeito isolado do Mn (Millaleo et al., 2010; Mousavi et al., 2011; Schmidt et al., 2016). Soma-se a isto, o fato que o Si embora não tenha afetado ação antioxidante estudada pode melhorar sistema de defesa antioxidante por fatores não enzimáticos, a exemplo dos fenóis (Maksimović et al., 2007) fatos que podem ter contribuído para explicar o benefício do Si na concentração relativamente baixa de Mn aplicada na cana-de-açúcar favorecendo seu crescimento.

Em cana-energia, ao contrário, o Si presente na calda reduziu o teor de MDA na concentração $0,32 \text{ g L}^{-1}$ de Mn apesar de não ter afetado o acúmulo do micronutriente. Isto indica provavelmente menor dano celular na presença de Si, possivelmente pelo menor acúmulo das ERO. As reduções da peroxidação lipídica pelo Si são amplamente relatadas na literatura (Kim et al., 2017). Atividades altas da SOD geralmente são associadas à demanda do sistema antioxidante frente ao estresse e acúmulo de $\text{O}_2^{\cdot-}$ que necessita ser dismutado (Sharma et al., 2012; Szóllósi, 2014) o que pode indicar que nas plantas sem Si houve maior demanda para aliviar o estresse. Portanto, a menor atividade da SOD na presença de Si pode indicar que outros sistemas antioxidantes atuaram de forma eficiente nesta condição excetuando-se a SOD e/ou que havia menores acúmulos de $\text{O}_2^{\cdot-}$ na presença do Si, consequentemente induziram menor estresse oxidativo reduzindo a ativação enzimática.

Um outro estudo o Si fornecido via radicular reduziu o MDA e aumentou a concentração de antioxidantes não enzimáticos (fenóis e carotenoides) na deficiência de Mn, no entanto, com reduções na atividade da enzima SOD (Oliveira et al., 2021), reforçando que o Si pode ter beneficiado outros agentes do metabolismo oxidativo. Apesar da diminuição da concentração de MDA o fornecimento de Si na solução para aplicação foliar na concentração baixa de Mn não afetou a Fv/Fm e o índice relativo de clorofila. Isto pode indicar que a produção das ERO pode ter sido resultado de danos em outros locais do metabolismo que não o cloroplasto, pois não apenas o cloroplasto é responsável por aumentar ERO nas plantas (Sachdev et al., 2021).

Por outro lado, a aplicação foliar de Si em relação a sua ausência na concentração $0,64 \text{ g L}^{-1}$ de Mn na cana-de-açúcar diminuiu o estresse oxidativo devido ao incremento do acúmulo do micronutriente (140%) o que desencadeou os benefícios na Fv/Fm e no índice de relativo de clorofila observados, e maior homeostase entre produção e eliminação de ERO associado possivelmente a menor demanda do sistema antioxidante pois em plantas sem Si, houve maior atividade da APX sem redução no MDA.

Os benefícios do Si em relação a sua ausência na solução nesta mesma concentração ($0,64 \text{ g L}^{-1}$ de Mn) em cana-energia também foram observados, mas de forma contrária à cana-de-açúcar, pois não se pode afirmar que esteve relacionado

ao metabolismo antioxidante, pelo fato que não houve efeito na concentração de MDA havendo apenas redução da atividade da SOD. No entanto, ficou claro que possivelmente o incremento do acúmulo de Mn induzido pelo Si foi eficiente em melhorar a resposta das plantas, pois resultou na maior estabilidade do FSII e dos cloroplastos. De forma semelhante, Oliveira et al. (2020) atribuíram os benefícios do Si aplicado via foliar com Mn na Fv/Fm e índice relativo de clorofila, ao incremento do acúmulo de Mn pelo Si, que ampliou as respostas de crescimento do sorgo e do milho.

Na cana-de-açúcar a aplicação foliar utilizando alta concentração de Mn (0,96 g L⁻¹) com a adição de Si na solução em relação a sua ausência, não promoveu incremento do crescimento da planta pois não houve efeitos fisiológicos (Fv/Fm, índice relativo de clorofila) e consequentemente não alterou a peroxidação lipídica apesar de ter aumentado o acúmulo de Mn e diminuído a atividade da SOD e da APX. Enquanto na cana-energia houve resultados semelhantes, pois, o uso do Si na presença de alta concentração de Mn na aplicação foliar apesar de ter diminuído a peroxidação lipídica e a atividade da SOD, não teve importância biológica porque não foi suficiente para incrementar aspectos fisiológicos e consequentemente o crescimento desta espécie. Acredita-se que nesta concentração de Mn aplicada nas duas espécies estudadas a diminuição da massa seca foi relativamente baixa não induzindo um estresse suficiente para resultar o efeito benéfico do Si na atenuação do estresse oxidativo. O maior efeito biológico do Si ocorre em condição de toxicidade de micronutriente em nível moderado a severo (Souza Junior et al., 2019).

Revelou-se neste estudo que as melhorias da adição de Si em aspectos nutricionais aumentando acúmulo de Mn e minimizando os efeitos deletérios da deficiência nas plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia na maioria das concentrações de Mn estudadas, resultaram maior crescimento destas espécies especialmente na produção de massa seca da parte aérea destas culturas. Apesar de haver relatos do benefício da aplicação foliar com Si aplicado de forma isolada visto em cana-de-açúcar (Teixeira et al., 2020 a, b) e em outras gramíneas como o sorgo (Flores et al., 2018; Oliveira et al., 2020), mas a novidade do estudo se dá pelo fato que isso é possível mesmo associado com outro elemento como Mn em solução. Soma-se a isto o fato que o uso de Si na calda com Mn reduziu a concentração ótima de Mn para alcançar o máximo desempenho no crescimento e na produção de massa

seca tanto para a cana-de-açúcar de 0,71 g L⁻¹ para 0,55 g L⁻¹ de Mn ou seja diminuiu em 23%, e em cana-energia de 0,79 g L⁻¹ para 0,62 g L⁻¹ de Mn ou seja diminuiu em 22%. Isso é importante para sustentabilidade dos cultivos pois é possível reduzir o uso de insumos aplicados a exemplo do Mn sem perdas no desempenho agrônomo das espécies.

Portanto, ficou evidenciado que a sinergia do Mn e do Si na calda para aplicação foliar constitui uma estratégia eficiente para atender a demanda de Mn das culturas da cana-de-açúcar e da cana-energia tendo implicação ampla pois existem muitas regiões de cultivos no mundo com essas espécies em solos deficientes de Mn.

5 Conclusão

As plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia são responsivas a aplicação de Mn atingindo a concentração ótima para o crescimento iguais a 0,71 e 0,79 g L⁻¹ de Mn para cana-de-açúcar e cana-energia, respectivamente.

O fornecimento de Si na calda de aplicação quando associada ao Mn proporciona benefício nutricional aumentando o acúmulo de Mn, reduzindo a peroxidação lipídica, modulando atividade da SOD e APX, melhorando a fisiologia, tanto para *Saccharum officinarum* L. quanto para *Saccharum spontaneum* L., induzindo maior crescimento e produção de massa seca.

A pesquisa propõe que a adubação foliar com Mn é eficiente e indica o acréscimo do Si na solução como nova estratégia para melhorar a resposta destas culturas a aplicação foliar de Mn.

6 Referências

Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E (2020) Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science** 11:300. doi: 10.3389/fpls.2020.00300

Bataglia OC, Furlani AMC, Teixeira JPF, Furlani PR, Gallo JR (1983) **Métodos de análise química de plantas**. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 48p. (Boletim Técnico 78).

Boaretto LF, Carvalho G, Borgo L, Creste S, Landell MGA, Mazzafera P, Azevedo RA (2014) Plant physiology and biochemistry water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry** 74:165–175. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.11.016

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248–254. doi: 10.1016/ 0003-2697(76)90527-3

Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: micronutrients. In.: Marschner P (Ed.) **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd Edn, Oxford: Elsevier, p.191–249.

Camargo MS, Keeping MG (2021) Silicon in Sugarcane: Availability in Soil, Fertilization, and Uptake. **Silicon** 13: 3691-3701.doi:10.1007/s12633-020-00935-y

Cao B, Ma Q, Zhao Q, Wang L, Xu K (2015) Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae** 194:53–62. doi: 10.1016/j.scienta.2015.07.037

Carvalho-Netto OV, Bressiani JA, Soriano HL, Fiori CS, Santos JM, Barbosa GV, Xavier MA, Landell MG, Pereira GA (2014) The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture** 1:20. doi:10.1186/s40538-014-0020-2

Cavalcante VS, Prado RM, Vasconcelos RL, Campos CNS (2016) Iron concentrations in sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) cultivated in nutrient solution. **Agrociencia** 50:867–875

Cembrowska-Lech D, Koprowski M, Kępczyński J (2015) Germination induction of dormant *Avena fatua* caryopses by KAR1 and GA3 involving the control of reactive oxygen species (H_2O_2 and $O_2^{\cdot-}$) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase and catalase) both in the embryo and the aleurone layers. **Journal of Plant Physiology** 176:169–179. doi: 10.1016/j.jplph.2014.11.010.

Corpas FJ, Barroso JB, Palma JM, Rodriguez-Ruiz M (2017) Plant peroxisomes: A nitro-oxidative cocktail. **Redox Biology** 11: 535–542. doi:10.1016/j.redox.2016.12.033

De Bang TC, Petersen J, Pedas PR, Rogowska-Wrzesinska A, Jensen ON, Schjoerring JK, Jensen PE, Thelen JJ, Husted S (2015) A laser ablation ICP-MS based method for multiplexed immunoblot analysis: applications to manganese-dependent protein dynamics of photosystem II in barley (*Hordeum vulgare* L.). **The Plant journal** 83:555–565. doi: 10.1111/tpj.12906

de Oliveira RLL, de Mello Prado R, Felisberto G, Checchio MV, Gratão PL (2019) Silicon Mitigates Manganese Deficiency Stress by Regulating the Physiology and Activity of Antioxidant Enzymes in Sorghum Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 19: 524-534. doi: 10.1007/s42729-019-00051-w

de Oliveira Rocha IL, de Mello Prado R, Oliveira KS, da Silva DL, Abreu-Junior CH (2022) Foliar spraying of Mn with addition of Si increases phenolic compound, photosynthetic efficiency, productivity and the protein content of the soybean crop. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. doi:10.1007/s42729-022-00780-5

Fauteux F, Remus-Borel W, Menzies JG, Belanger RR (2005) Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters** 249: 1–6. doi:10.1016/j.femsle.2005.06.034

Flores RA, Arruda EM, Damin V, Souza Junior JP, Maranhão DDC, Correia MAR, Prado RM (2018) Physiological quality and dry mass production of *Sorghum bicolor* following silicon (Si) foliar application. **Australian Journal of Crop Science** 4:631-638. doi: 10.21475/ajcs.18.12.04.pne967

Gong H, Chen K (2012) The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. **Acta Physiologiae Plantarum** 34: 1589-1594. doi: 10.1007/s11738-012-0954-6

Gratão PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 56:79–96. doi:10.1016/j.plaphy.2012.04.009

Hajiboland R (2012) Effect of micronutrient deficiencies on plants stress responses. In: Ahmad P, Prasad M (Eds.) **Abiotic Stress Responses in Plants**. New York, NY: Springer, p. 283–329. doi: 10.1007/978-1-4614-0634-1_16

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 125:189–198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1

Hoagland DR, Arnon DI (1950) **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: Circular 247, 32p.

Jackson C, Dench J, Moore AL, Halliwell B, Foyer CH, Hall DO (1978) Subcellular Localisation and Identification of Superoxide Dismutase in the Leaves of Higher Plants. **European Journal of Biochemistry** 91: 339–344. doi:10.1111/j.1432-1033.1978.tb12685.x

Kim Y-H, Khan AL, 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. doi: 10.3389/fpls.2017.00510

Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A (Eds) (2004) **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. Uberlândia: UFU, 50p.

Kraska JE, Breitenbeck GA (2010) Simple, robust method for quantifying silicon in plant tissue. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 41:2075–2085. doi:10.1080/00103624.2010.498537

Kubicki JD, Heaney PJ (2003) Molecular orbital modeling of aqueous organosilicon complexes: implications for silica biomineralization. **Geochimica et Cosmochimica Acta** 67: 4113–4121. doi:10.1016/ s0016-7037(03)00093-0

Liang Y, Sun W, Zhu YG, Christie P (2007) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. **Environmental Pollution** 147: 422–428. doi: 10.1016/j.envpol.2006.06.008

Lidon FC, Barreiro MC, Ramalho JC (2004) Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology** 161: 1235–1244. doi: 10.1016/j.jplph.2004.02.003

Lindsay WL (1979) **Chemical equilibria in soils**. New York, US: John Wiley & Sons, p. 472.

Ma JF (2004) Role of Silicon in Enhancing the Resistance of Plants to Biotic and Abiotic Stresses. **Soil Science and Plant Nutrition** 50: 11–18. doi:10.1080/00380768.2004.10408447

Majumdar S, Prakash NB (2020) An Overview on the Potential of Silicon in Promoting Defence Against Biotic and Abiotic Stresses in Sugarcane. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 1969-1998. doi:10.1007/s42729-020-00269-z

Maksimović JD, Bogdanović J, Maksimović V, Nikolic M (2007) Silicon modulates the metabolism and utilization of phenolic compounds in cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown at excess manganese. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**. 170: 739–744. doi:10.1002/jpln.200700101

Millaleo M, Reyes-Díaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M (2010) Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 10: 470-481. doi: 10.4067/S0718-95162010000200008

Mishra AK, Shukla SK, Yadav DV, Awasthi SK (2014) Iron, Manganese and Sulphur Uptake and Nutrients Availability in Sugarcane Based System in Subtropical India. **Sugar Tech** 16: 300–310. doi: 10.1007/s12355-013-0269-y

Mousavi SR, Shahsavari M, Rezaei M (2011) A General Overview On Manganese (Mn) Importance For Crops Production. **Australian Journal of Basic Applied Sciences** 5: 1799–1803.

Ness PJ, Woolhouse HW (1980) RNA synthesis in *Phaseolus* chloroplasts: I. Ribonucleic acid synthesis in chloroplast preparations from *Phaseolus vulgaris* L. Leaves and solubilization of the RNA polymerase. **Journal of Experimental Botany** 31: 223–233.

Niu J, Liu C, Huang M, Liu K, Yan D (2021) Effects of Foliar Fertilization: a Review of Current Status and Future Perspectives. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 21: 104–118. doi: 10.1007/s42729-020-00346-3

Nozulaidi N, Nurlnani M, Khairi M, Jahan SMD (2016). Production of Corn; Effects of Manganese Application on Plant Parameters. **Journal of Agricultural Research** 1: 1-7. doi: 10.23880/OAJAR-16000109

Ohki K, Boswell FC, Parker MB, Shuman LM, Wilson DO (1987) Foliar manganese application to soybeans. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 18: 243-253. doi: 10.1080/00103628709367815

Oliveira KS, de Mello Prado R, Guedes VH (2020) Leaf spraying of manganese with silicon addition is agronomically viable for corn and sorghum plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 872-880. doi: 10.1007/s42729-020-00173-6

Oliveira KS, de Mello Prado R, Checchio MV, Gratão PL (2021) Silicon via nutrient solution modulates deficient and sufficient manganese sugar and energy cane antioxidant systems. **Scientific Reports** 11: 16900. doi:10.1038/s41598-021-96427-z

Papadakis IE, Giannakoula A, Therios IN, Bosabalidis AM, Moustakas M, Nastou A (2007) Mn-induced changes in leaf structure and chloroplast ultrastructure of *Citrus volkameriana* (L.) plants. **Journal of Plant Physiology** 164: 100–103. doi:10.1016/j.jplph.2006.04.011

Pavlovic J, Kostic L, Bosnic P, Kirkby EA, Nikolic M (2021) Interactions of Silicon With Essential and Beneficial Elements in Plants. **Frontiers in Plant Science** 12:697592. doi: 10.3389/fpls.2021.697592

Pavlovic J, Samardzic J, Kostic L, Laursen KH, Natic M, Timotijevic G, Schjorring JK, Nikolic M (2016) Silicon enhances leaf remobilization of iron in cucumber under limited iron conditions. **Annals of Botany** 118: 271–280. doi: 10.1093/aob/mcw105

Prado R de M (Ed) (2021) **Mineral nutrition of tropical plants**, Springer: International Publishing, 392p. doi: 10.1007/978-3-030-71262-4

Randall GW, Schulte EE, Corey RB (1975) Effect of Soil and Foliar-applied Manganese on the Micronutrient Content and Yield of Soybeans. **Agronomy Journal** 67: 502. doi: 10.2134/agronj1975.00021962006700040012x

Ranjan A, Sinha R, Bala M, Pareek A, Singla-Pareek SL, Singh AK (2021) Silicon-mediated abiotic and biotic stress mitigation in plants: Underlying mechanisms and potential for stress resilient agriculture. **Plant Physiology and Biochemistry** 163 :15-25. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.03.044.

Sachdev S, Ansari SA, Ansari MI, Fujita M, Hasanuzzaman M (2021) Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. **Antioxidants** 10: 277. doi: 10.3390/antiox10020277

Savant NK, Korndörfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: a review. **Journal of Plant Nutrition** 22: 1853–1903. doi: 10.1080/01904169909365761

Schmidt SB, Jensen PE, Husted S (2016) Manganese deficiency in plants: The impact on photosystem II. **Trends in Plant Science** 21: 622–632. doi:10.1016/j.tplants.2016.03.001

Schmidt SB, Husted S (2019) The Biochemical Properties of Manganese in Plants. **Plants** 8: 381. doi: 10.3390/plants8100381

Sekhon BS (2003) Chelates for micronutrient nutrition among crops. **Resonance** 8:46–53.

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany** 2012: 1–26. doi: 10.1155/2012/217037

Shenker M, Plessner OE, Tel-Or E (2004) Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. **Journal of Plant Physiology** 161: 197–202. doi: 10.1078/0176-1617-00931

Song A, Li P, Fan F, Li Z, Liang Y (2014) The Effect of Silicon on Photosynthesis and Expression of Its Relevant Genes in Rice (*Oryza sativa* L.) under High-Zinc Stress. **PLoS ONE**. 9: e113782. doi: 10.1371/journal.pone.0113782

Souza Junior JP, de Mello Prado R, dos Santos Sarah MM, Felisberto G (2019) Silicon mitigates boron deficiency and toxicity in cotton cultivated in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 182: 805–814. doi: 10.1002/jpln.201800398

Souza Junior JP, de Mello Prado R, Soares MB, da Silva JLF, de Farias Guedes VH, dos Santos Sarah MM, Cazetta JO (2020) Effect of Different Foliar Silicon Sources on Cotton Plants. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 21:95–103. doi: 10.1007/s42729-020-00345-4

Szöllősi R (2014) Superoxide Dismutase (SOD) and Abiotic Stress Tolerance in Plants: An Overview. In.: Ahmad P (Ed.) **Oxidative Damage to Plants**. Academic Press, p. 89–129. doi:10.1016/b978-0-12-799963-0.00003-4

Teixeira GCM, de Mello Prado R, Rocha AMS, dos Santos LCN, dos Santos Sarah MM, Gratão PL, Fernandes C (2020a) Silicon in Pre-sprouted Sugarcane Seedlings Mitigates the Effects of Water Deficit After Transplanting. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 20: 849–859. doi: 10.1007/s42729-019-00170-4

Teixeira GCM, Prado RdM, Rocha AMS, Piccolo MdC (2020b) Root- and foliar-applied silicon modifies C: N: P ratio and increases the nutritional efficiency of pre-sprouted sugarcane seedlings under water deficit. **PLoS ONE**. 15: e0240847. doi: 10.1371/journal.pone.0240847

Will S, Eichert T, Fernández V, Möhring J, Müller T, Römheld V (2011) Absorption and mobility of foliar-applied boron in soybean as affected by plant boron status and application as a polyol complex. **Plant Soil** 344: 283–293. doi: 10.1007/s11104-011-0746-6

Yu Q, Rengel Z (1999) Micronutrient Deficiency Influences Plant Growth and Activities of Superoxide Dismutases in Narrow-leaved Lupins. **Annals of Botany** 83: 175–182. doi: 10.1006/anbo.1998.0811

Yu Q, Osborne L, Rengel Z (1998) Micronutrient deficiency changes activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in tobacco plants. **Journal of Plant Nutrition** 21: 1427–1437. doi: 10.1080/01904169809365493

Zhang Y, Shi Y, Gong H, Zhao H, Li H, Hu Y, Wang Y (2018). Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. **Journal of Integrative Agriculture** 17: 2151–2159. doi:10.1016/s2095-3119(18)62038-6

CAPÍTULO 5 - Considerações finais

Com base nos resultados obtidos neste estudo com nutrição radicular e foliar de cana-de-açúcar e de cana-energia com Mn e Si, pode-se concluir que os genótipos de cana-energia são mais sensíveis a deficiência de Mn que a cana-de-açúcar, principalmente a cana-energia com maior conteúdo de fibras. Isto indica que atenção é necessária quanto a nutrição adequada com o micronutriente nos cultivos destes genótipos, principalmente em locais com solos em que predominam condições que provocam redução de disponibilidade do Mn ou onde os teores deste micronutriente são baixos.

As indicações deste estudo refletem alguma influência do Si na dinâmica de absorção de Mn pelas plantas pois o uso do Si via fertirrigação potencializa o acúmulo de Mn na cana-de-açúcar, e nos genótipos de cana-energia em deficiência e em suficiência de Mn. Isso significa que o uso de Si no manejo da adubação com Mn pode ampliar as respostas produtivas destas espécies em solos com nutrição adequada ou não do Mn. Estudos mais avançados a nível molecular e proteômico devem ser conduzidos para identificar se o Si teria alguma relação com as proteínas transportadoras de Mn nas raízes responsáveis pela absorção e pelo transporte de Mn para a parte aérea para elucidar e confirmar os mecanismos envolvidos no aumento da absorção de Mn pelas plantas.

A melhoria proporcionada pelo Si nas respostas bioquímicas através da defesa antioxidante e na fisiologia das plantas sob estresse por deficiência esteve associada de forma mais direta ao aumento do acúmulo de Mn. Portanto, sugere-se o uso de Si via fertirrigação como nova estratégia sustentável para o cultivo de cana-energia em ambientes com baixo teor de Mn.

A correção da deficiência de Mn através da pulverização foliar aumenta a eficiência da prática e melhora a resposta das plantas de cana-de-açúcar e de cana-energia. Diante disso, há necessidade de avaliar as respostas das plantas em campo na cana-planta e soqueiras, a fim de confirmar ou ajustar as concentrações ideais obtidas neste estudo.