

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

LUCAS FERREIRA

**EFEITOS COMBINADOS DO FÓSFORO E BRASSINOESTERÓIDES NA CANA-
DE-AÇÚCAR**

Ilha Solteira

2020

LUCAS FERREIRA

**EFEITOS COMBINADOS DO FÓSFORO E BRASSINOESTERÓIDES NA CANA-
DE-AÇÚCAR.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Agronomia.

Prof. Dr. Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo

Orientador

Prof. Dra. Lucíola Santos Lannes

Coorientadora

Ilha Solteira

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F383e Ferreira, Lucas.
Efeitos combinados do fósforo e brassinoesteroides na cana-de-açúcar /
Lucas Ferreira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020
42 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2020

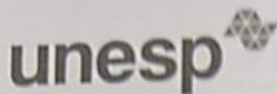
Orientador: Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo

Coorientador: Lucíola Santos Lannes

Inclui bibliografia

1. Fosfatase. 2. Micorrizas. 3. 24-Epibrassinolide.


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9569



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeitos combinados do fósforo e brassinosteroides na cana-de-açúcar

AUTOR: LUCAS FERREIRA

ORIENTADOR: PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO
Diretoria Geral da FCAT / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Prof. Dr. RONALDO DA SILVA VIANA
Curso de Engenharia Agrônoma / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Prof. Dr. MARCELO MENOSSI TEIXEIRA
Departamento de Genética, Evolução, Microbiologia e Imunologia / Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Ilha Solteira, 08 de maio de 2020

DEDICATÓRIA

À minha mãe e tia: Maria Helena Abido e Valéria Abido. Nenhuma palavra poderá expressar a gratidão que sinto.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me abençoar e guiar para os melhores caminhos a serem trilhados.

À minha mãe que sempre batalhou para que eu pudesse estudar e realizar meus sonhos.

Aos meus amigos que claramente tiveram um papel motivador e parceiro em todo este caminho trilhado. Sem vocês não teria chegado à conclusão de mais uma etapa.

Ao meu orientador Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo, pela orientação nesta etapa, fornecendo as condições para realização do trabalho.

À professora Lucíola Santos Lannes, à qual não tenho palavras para agradecer por toda força e ensinamento compartilhado. Gratidão por conhecê-la e ter a honra conviver.

Aos grandes amigos que ganhei em Ilha Solteira, especialmente à Rafaela Neris.

À minha família de Ilha Solteira República Mata-Virgem, obrigado por tornar esta fase possível, e tenham a certeza de que cada integrante tem um espaço enorme em meu coração.

A todos os membros do Laboratório de Ecologia Vegetal da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-FEIS, por toda ajuda nas análises. Meu muito obrigado.

À Prof. Gláucia Amorim Faria, obrigado pela ajuda imensa em meu trabalho. Muito honrado pelos conhecimentos adquiridos.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas- FCAT, pela disponibilidade em me ajudar sempre que necessário.

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

Nunca deixe o medo de errar impedir que você jogue.

Babe Ruth

RESUMO

Diante da iminente escassez de fósforo (P) para utilização agrícola, surge a necessidade de estudos voltados para o melhor entendimento de estratégias de suprimento deste elemento. Estudos recentes demonstram que a atividade hormonal potencializa processos em que o P é vital para ocorrência no metabolismo, destacando os análogos de Brassinoesteróides (BR) pela influência sobre o desenvolvimento vegetal. São escassos os estudos sobre a interação P e BR e sua aplicação em grandes culturas consumidoras de fósforo, como é o caso da cana-de-açúcar. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da aplicação de doses do análogo de BR 24-epibrassinolide (0; 0,5; 1,0; 2,0 mg. L⁻¹), associado à presença ou ausência de fertilização fosfatada sobre os parâmetros de crescimento, fosfatase, micorrização e fotossíntese de plantas jovens de cana-de-açúcar. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em DBC com fatorial 4x2 com seis repetições. A aplicação dos BR proporcionou um incremento nos valores de massa seca radicular até o ponto máximo da curva de 1,27 mg.L⁻¹. A interação P com BR incrementou respectivamente em 30% e 48% os valores de massa seca aérea nas doses 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹ do hormônio; e apresentou uma correlação de Pearson positiva das doses de BR com adição de P sobre essa variável. A presença de P estimulou todas as variáveis de crescimento da cana-de-açúcar. O BR desencadeou um pico significativo na atividade da enzima fosfatase ácida na dose de 1,0 mg. L⁻¹ e não afetou a colonização micorrízica radicular. A temperatura interna da folha e condutância estomática responderam positivamente à adição de P. A assimilação líquida de CO₂ foi aumentada na presença de P e dobrou em sua interação com BR. Foi verificada uma influência positiva do fósforo, dos Brassinoesteróides, assim como sua interação sobre o desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar. Os resultados podem contribuir para demais estudos visando o incremento de produção por área de plantio.

Palavras chaves: Crescimento. Fosfatase. Fotossíntese. Micorrizas. 24-epibrassinolide.

ABSTRACT

In view of the imminent shortage of phosphorus (P) for agricultural use, increase the need for studies aimed at better understanding the supply strategies of this element. Recent studies show that hormonal activity potentiates processes in which it is vital for the occurrence of metabolism, highlighting the analogues of Brassinoesterteroids (BR) for their influence on plant development. There are few studies on P and BR interaction and their application in large phosphorus-consuming crops, such as sugar cane. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effect of applying doses of the 24-epibrassinolide dialogue (0; 0.5; 1.0; 2.0 mg. L⁻¹), associated with the presence or absence of phosphate fertilization on the growth, phosphatase, mycorrhization and photosynthesis parameters of young sugarcane plants. The experiment was conducted in the greenhouse, in the DBC with a 4x2 factorial with six replications. The application of BR provides an increase in the values of root dry mass up to the maximum point of the curve of 1.27 mg. L⁻¹. A P interaction with BR increases, respectively, by 30% and 48% the values of air dry mass at doses 0.5 and 1.0 mg.L⁻¹ of the hormone; and showed a positive Pearson correlation of BR doses with the addition of P on this variable. The presence of P stimulates all sugar cane growth variables. BR triggered a significant peak of acid phosphatase enzyme activity at a dose of 1.0 mg. L⁻¹ and did not affect root mycorrhizal colonization. The internal temperature of the leaf and the stomatal conductance respond positively to the addition of P. The net assimilation of CO₂ was increased in the presence of P and doubled in its interaction with BR. A positive influence of phosphorus and steroidal metals was observed, as well as their interaction on the initial development of sugarcane. The results may contribute to other studies on the increase in production by plant area.

Keywords: Growth. Phosphatase. Photosynthesis. Mycorrhizae. 24-epibrassinolide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Mudas de cana-de-açúcar após dez dias de transplante para o vaso	21
Figura 2	- Massa seca radicular (MSR) em função da aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 75 dias após o transplante	24
Figura 3	- Desdobramento da interação Brassinoesteróides na presença ou ausência de fósforo sobre a massa seca aérea aos 75 dias após o transplante	25
Figura 4	- Atividade de fosfatase ácida das raízes à aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 75 dias após o transplante	26
Figura 5	- Desdobramento da Assimilação líquida de CO ₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em função da ausência ou presença de fósforo e a aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 30 dias após o transplante	28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Valores de massa seca radicular (MSR), aérea (MSA) e total (MST) em g/planta aos 75 dias após à aplicação das doses de Brassinoesteróides, sobre a presença ou ausência do elemento fósforo 23
- Tabela 2** - Médias de massa seca aérea da interação entre doses de Brassinoesteróides (BR) na presença ou ausência de fósforo (P) 24
- Tabela 3** - Análise de variância para atividade de fosfatase do sistema radicular (PME) e quantificação da porcentagem de colonização micorrízica de cana-de-açúcar, na presença ou ausência do elemento fósforo e aplicação de doses do hormônio Brassinoesteróides 26
- Tabela 4** - Análise de variância dos parâmetros fotossintéticos, sendo, temperatura interna da folha (TLEAF), concentração interna de CO₂ (CI), Taxa de transpiração da folha (E), condutância estomática (GS), assimilação líquida de CO₂ (A) e eficiência do uso da água (EUA 27
- Tabela 5** - Médias de Assimilação líquida de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para interação das doses de Brassinoesteróides (BR) na presença ou ausência de fósforo (P) 27

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	BRASSINOESTERÓIDES	13
2.2	O FÓSFORO E AGRICULTURA	15
2.3	CANA-DE-AÇÚCAR	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
4	RESULTADOS	23
5	DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÕES	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das culturas intensamente exploradas pelo agronegócio brasileiro (CORDEIRO *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020), exercendo um papel primordial na produção de etanol, biomassa e açúcar (WACLAWOSKY *et al.*, 2010). Para cana e demais culturas, o fósforo (P) é considerado um elemento chave nos processos fisiológicos, como alongamento celular, transporte de energia, transdução de sinal, fotossíntese e respiração celular (KHAN; ZAIDI; AHMAD, 2014; TAIZ *et al.*, 2017).

Devido às baixas concentrações de P disponíveis nos solos, os fertilizantes fosfatados são altamente utilizados; e resultam no esgotamento das reservas de suas rochas não renováveis (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009; OBERSTEINER *et al.*, 2013). Outro problema é que solos podem rapidamente imobilizar o fósforo fertilizado, devido à alta reatividade com óxidos e hidróxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), o que acarreta em um grande estoque de P indisponível no solo (RISKIN *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2016; ROY *et al.*, 2016).

Wang *et al.* (2010) relatam que para aquisição de P as características das raízes são fundamentais; e que as plantas para obter um maior incremento podem sacrificar carboidratos para aquisição de nutrientes. Assim, surgem as micorrizas, uma associação com fungos que possibilita a troca entre carboidratos por fósforo (BAUM *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2015). Outra possibilidade de aquisição de P são as fosfatases, enzimas capazes de tornar o fosforo indisponível em disponível para as plantas (OLDE VENTERINK & GÜSEWELL, 2010), sendo relatada como mantedora das leguminosas em ambientes limitados por P (OLDE VENTERINK, 2011).

Portanto, há a necessidade da busca de formas para uma melhor absorção de P, frente a grande quantidade indisponível no solo oriundo de fertilizações (RODRIGUES *et al.*, 2016). Outro caminho é o investimento no estudo de estratégias que contribuam para uma melhor utilização de P na agricultura, especialmente, no cultivo da cana-de-açúcar. Pesquisas apontam que a atividade hormonal exerce efeitos relacionados ao P, destacando a influência dos Brassinoesteróides (BITTERLICH *et al.*, 2014; LV *et al.*, 2018; MCGUINNESS; REID; FOO, 2019; WEI; LI, 2016).

Os Brassinoesteróides (BR) apresentam uma ampla ocorrência no reino vegetal e sua aplicação vem demonstrando resultados promissores (SINGH; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2015; WEI; LI, 2016). Relata-se que os BR estão envolvidos praticamente em todos os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (VRIET; RUSSINOVA; REUZEAU, 2012). Em plantas cultivadas, sua aplicação promoveu o aumento da produção

pelo incremento no desenvolvimento vegetativo, como demonstrado por Bocaiúva (BORCIONI; NEGRELLE, 2012). Na cultura do tomate, mostrou haver uma interferência sobre fungos micorrízicos pela importância sobre o transportador de sacarose SISUT2, composto envolvido diretamente na manutenção da associação (BITTERLICH *et al.* 2014).

Assim, evidências indicam que os BR são importantes reguladores do desenvolvimento radicular, mas há, ainda, uma grande lacuna sobre seus efeitos com P sobre crescimento, fosfatase, associações micorrízicas e fotossíntese em grandes culturas na fase inicial, como a cana-de-açúcar. A hipótese do presente estudo é que a aplicação do análogo na forma do 24-epibrassinolide associado à adubação fosfatada possa incrementar o desenvolvimento inicial das plantas de cana-de-açúcar, atuando no metabolismo por meio do acúmulo da matéria vegetal em decorrência de um incremento fotossintético. Em contrapartida, a obtenção de dados iniciais que possam contribuir em relação a associação com micorrizas e atividade de fosfatase da cana-de-açúcar, como alternativa para mitigar a crise do P. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de Brassinoesteróides na presença ou ausência de fósforo, sobre o crescimento, a atividade de fosfatase ácida, associações micorrízicas e fotossíntese da cana-de-açúcar nas suas fases iniciais de crescimento e desenvolvimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BRASSINOESTERÓIDES

Os Brassinoesteróides (BR) são uma classe de hormônios esteroides polihidroxilados produzidos pela planta, ou, sintetizados e aplicados de maneira exógena como reguladores vegetais. Sendo considerados essenciais pelo ajuste adequado de múltiplos processos fisiológicos (CLOUSE, 2011; DIVI; KRISHNA, 2009). Conhecidos cientificamente como a sexta classe entre os hormônios vegetais das plantas, classificados como BRs C₂₇, C₂₈ ou C₂₉ de acordo com o número de carbonos que apresentam em sua forma (VARDHINI, 2016a, 2016b).

A descoberta desse promotor de crescimento foi através de pesquisas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) em conjunto com a Universidade de Nagoya no Japão (YOKOTA *et al.*, 1998). Foi analisada uma vasta quantidade de extratos orgânicos de pólen, até a descoberta de um extrato mais ativo feito do pólen de *Brassica napus*, capaz de promover o crescimento, denominando-se assim “brassininas”. Entretanto, acreditava-se que o componente ativo era um éster de ácido graxo (CLOUSE, 2011).

A verdadeira elucidação química do componente ativo de brassina envolveu várias pesquisas até obtenção de uma substância de 4mg pura, identificada como uma lactona de esteroide, nomeada de brassinolida (BL), a qual foi sintetizada em conjunto ao seu isômero estéreo 24-epiBL de modo a eliminar a dependência de extração em massa (GROVE *et al.*, 1979). O brassinolide (BL), 28-homobrassinolide (28-HomoBL) e 24-epibrassinolide (24-EpiBL) constituem os três bioativos amplamente utilizados em estudos experimentais (VARDHINI; ANURADHA; RAO, 2006).

Em 1996 pesquisas sobre as propriedades de três mutantes com deficiência de BR, mostraram que os mutantes exibem um fenótipo anão extremo de raízes curtas; e como consequência à aplicação exógena de Brassinoesteróides conseguiu-se resgatar para o tipo selvagem e assim, forneceram evidências genéticas e bioquímicas do papel essencial para o crescimento e desenvolvimento vegetal dos BR (KAUSCHMANN *et al.*, 1996; LI *et al.*, 1996).

Estudos mais recentes mostraram essa resposta apresentada por mutantes prejudicados na sinalização de BR. Os mutantes de *Arabidopsis thaliana* apresentam o fenótipo de raiz curta devido o desenvolvimento anormal do ciclo celular e taxa de expansão celular reduzida, indicando que a sinalização de BRs equilibrada é necessária para o

crescimento ideal da raiz (GONZÁLEZ-GARCÍA *et al.*, 2011; HACHAM *et al.*, 2011). Demonstrou-se uma relação sinérgica em relação às dosagens, em especial doses baixas capazes de promover o crescimento radicular e doses altas (>0,04 nM) capazes de cessar o crescimento radicular (GONZÁLEZ-GARCÍA *et al.*, 2011).

Com advento das pesquisas, sabemos que os BR não estão apenas envolvidos na expansão das células radiculares, e sim em diversos aspectos do meristema radicular, de modo a atuarem na manutenção do tamanho do meristema, formação de pelos radiculares, iniciação lateral da raiz, respostas gravitrópicas; ainda, estudos iniciais apontam o envolvimento com associações micorrízicas e nodulações em espécies leguminosas (WEI; LI, 2016).

Em ervilhas demonstrou-se que as enzimas envolvidas no processo de sinalização de BR em situações de mutação, refletem em uma organogênese reduzida, e elucidam que os BR atuam significativamente no número de nódulos de ervilhas (FERGUSON; ROSS; REID, 2005). Por outro lado, em soja tem-se que a aplicação de brassinolide resultou em diminuição de nódulos e aumento de entrenós em comparação com plantas não tratadas, e a aplicação do inibidor de síntese de BR resultou em aumento do número de nódulos (TERAKADO *et al.*, 2005). Baseados nestes estudos, levantam-se questões sobre a aplicação exógena (BL) desempenhar resultados distintos em diferentes espécies vegetais (WEI; LI, 2016).

As relações entre os BR e associações micorrizas permanecem iguais ao campo de nodulações, estudos como de Foo *et al.*, (2013) mostram que mutantes de ervilha deficientes em BR, giberelinas e proteínas DELLA não apresentam alterações na taxa de associações micorrízicas. Bitterlich *et al.* (2014) relata que tomates mutantes defeituosos na biossíntese de BR demonstram diminuição significativa nas associações micorrízicas.

Não se pode descartar que a regulação do desenvolvimento da raiz é modulada por outros reguladores de crescimento, e que eles formam uma rede complexa que cria a necessidade de saber, assim, como esses hormônios interagem entre si (WEI; LI, 2016).

A auxina é um dos reguladores de crescimento mais importantes, destacada na indução da iniciação de raízes, desenvolvimento radicular lateral e inibição do alongamento celular dependente da concentração (UBEDA-TOMÁS; BEEMSTER; BENNETT, 2012). Os BR e auxina necessitam de um balanço hormonal ideal entre si para dinâmica equilibrada de células troncos no meristema radicular, para manter o crescimento correto das raízes (CHAIWANON; WANG, 2015).

Em alguns casos, os efeitos ocasionados da auxina foram inibidos por *DWARF4* (expressão que codifica uma hidroxilase C-22 necessária para biossíntese de BR), e

resgatados pela aplicação de brassinolide, de forma a sugerir um controle (YOSHIMITSU *et al.*, 2011).

Além dos efeitos citados sobre crescimento, desenvolvimento e regulação hormonal dos BR, esta classe também atua na respostas a estresses bióticos e abióticos de plantas (VARDHINI, 2016a). Em milho, foi avaliado os efeitos da aplicação de BR no alívio dos deletérios da seca sobre as características de trocas gasosas, teores de clorofila, proteínas, teores água e antioxidantes enzimáticos. A aplicação de 0,1 mg.L⁻¹ melhorou notavelmente os atributos fotossintéticos e de massa seca, tanto em condições de seca quanto de água (ANJUM *et al.*, 2011).

Relata-se a influência dos BRs no estresse ocasionado por altas temperaturas, e a aplicação do hormônio é vista com uma das manobras mais eficazes para atenuar os efeitos deletérios (TANVEER, 2019). Ademais, demonstrou-se que os BR promovem aumento do sistema radicular em mudanças abruptas de temperatura e o efeito desta mudança sobre este órgão (21° e 26° C), de maneira a desmistificar os efeitos da auxina através do uso de plantas mutantes (MARTINS *et al.*, 2017). Para o estresse salino, também há relatos dos benefícios ocasionados da aplicação exógena de BR em *Robinia pseudoacacia* L., a aplicação do 24-epiBL melhorou a estabilidade da membrana e reduziu o Na⁺ foliar, atenuando as alterações induzidas pelo estresse (YUE *et al.*, 2019).

Assim, os BR tornam-se uma possibilidade única para o aumento do rendimento nas culturas agrônômicas (DIVI; KRISHNA, 2009). E os estudos sobre esse tema são necessários para compreensão de seus efeitos, uma vez que permanecem em estágio inicial e apresentam algumas respostas distintas em relação as culturas.

2.2 O FÓSFORO E AGRICULTURA

O crescente aumento da população ocasionou uma grande demanda por alimentos, que levou o futuro da agricultura a duas vertentes: intensificar as áreas agrícolas existentes ao máximo, ou expandir para áreas de vegetação nativa (ALEXANDRATOS; BRUINSMA, 2012; TILMAN *et al.*, 2011).

Intensificar a produção das áreas agrícolas é a decisão viável (ROCKSTRÖM *et al.*, 2017), porém, um dos principais entraves são as deficiências ocasionadas pela falta de nutrientes (MCLAUCHLAN, 2006). Dentre elas, a ocasionada pelo fósforo (P) é considerada uma das mais limitantes para produtividade, pois o P tem uma mobilidade menor no solo tornando-se menos disponível para as plantas (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). O

P é relatado como o elemento fertilizante fundamental para manter ou elevar a produtividade dos ecossistemas cultivados (CONDRON; NEWMAN, 2011; JOHNSTON *et al.*, 2014).

A agricultura faz uso de grandes quantidades dos fertilizantes fosfatados, um recente estudo mostrou aumento partindo de 5 milhões de toneladas por ano em 1961 para 20 milhões de toneladas por ano em 2013 (CHEN; GRAEDEL, 2016). Com essa alta demanda ocorre a redução das reservas das rochas não renováveis, o que contribui para uma crise que envolve o P no futuro, a qual poderá acarretar sérias preocupações sobre a eficiência da utilização deste recurso não renovável (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009).

A maioria dos solos brasileiros são fixadores de P e geram uma competição com as plantas pelo fósforo inorgânico, essa disputa ocorre em solos altamente intemperizados ricos em ferro (Fe) e alumínio (Al) devido à alta reatividade com esses elementos (RODRIGUES *et al.*, 2016; ROY *et al.*, 2016).

Assim é possível facilmente distinguir os solos em relação ao teor de P, um grupo são os solos com baixo teor de P, como os argilosos e arenosos, outro são com alto teor de P, porém com uma quantidade grande “retida” aos coloides do solo, tornando-se indisponíveis às plantas, como os nitossolos e solos calcários/alcalinos (DRIESSEN *et al.*, 2000; FAIRHUST, 1999).

No Brasil as minas de rocha fosfática (PR) disponibilizam quantidades limitadas de P devido à baixa solubilidade do P da rocha ígnea e os altos custos do processo envolvido, assim é importado quase todo P usado na agricultura nacional. No ano de 2010 o Brasil importou aproximadamente 51% da sua demanda por rocha fosfática para uso interno, o qual equivale à uma aplicação média de 29 kg P ha⁻¹ ano⁻¹ e estima-se um aumento nos próximos anos (ANDA, 2017). Esse aumento é devido a necessidade de compensar à rápida imobilização citada, entretanto esse índice é alto comparado a outros países (NOVAIS *et al.*, 1985; SATTARI *et al.*, 2012).

As culturas amplamente cultivadas como milho (*Zea mays*), soja (*Glycine max* L) e cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) utilizam a maior parte do fósforo exportado e uma pequena parte 1,5% do consumo de fertilizantes é direcionado às pastagens (SOARES-FILHO *et al.*, 2016). Para melhorar a eficiência pelo uso do P e reduzir as altas taxas de fertilização deve-se buscar por uma melhor compreensão de como o solo e as práticas de manejo de culturas e fertilizantes podem influenciar a disponibilidade de P (ROWE *et al.*, 2016).

Dessa maneira, vários estudos buscam uma forma de potencializar a fertilização fosfatada. Albuquerque *et al.*(2016) testou fontes e doses de fósforo no desenvolvimento da cana-de-açúcar, onde o fosfato da rocha reativo Bayóvar foi o responsável por incrementar o

diâmetro do caule e matéria seca em 120 dias após plantio. Gumiere *et al.*, (2019), testou três fontes alternativas de fósforo associado à inoculação com micorrizas e mostrou que suas fontes com alto teor de P resultaram no incremento de biomassa e atividade bacteriana, entretanto houve diminuição da atividade micorrízica.

Outro importante estudo, mostrou os impactos do plantio direto e convencional sobre as formas não imediatamente disponíveis (acumuladas ou herdadas) de P, onde, em comparação com os solos da savana nativa, houve um aumento de P (orgânico e inorgânico) dos solos fertilizados anualmente. Porém 70 a 85% foram armazenados em formas moderadamente lábeis e não lábeis associadas aos oxi-hidróxidos de Fe/Al, ao invés de formas disponíveis às plantas (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Contribuí, assim, para o entendimento sobre influência do preparo do solo na disponibilidade de nutrientes, e como o teor de P nos solos do Cerrado quase dobrou em apenas 30 a 40 anos devido a fertilizações.

Há um recurso de P não imediatamente disponível às plantas o qual é muito grande, e caso consiga-se explorar essa fonte, haveria a diminuição da utilização de fertilizantes agrícolas (RODRIGUES *et al.*, 2016; ROWE *et al.*, 2016). As plantas que crescem em situações de carência de fósforo apresentam algumas estratégias para absorção do P não imediatamente disponível, como associação com fungos, exsudação de enzimas e alocação de reservas para o crescimento do sistema radicular (LAMBERS *et al.*, 2006; LOPEZ-ARREDONDO *et al.*, 2014). Estas estratégias se compreendidas pode vir a ser uma solução para os problemas acerca do uso do fósforo.

A fosfatase é uma enzima produzida e liberada pela raiz que atua no ciclo do P e realiza a retirada de grupamentos fosfato de fontes orgânicas de fósforo (OLDE VENTERINK; GÜSEWELL, 2010), as micorrizas atuam como uma extensão do sistema radicular disponibilizando nutrientes às plantas (BAUM; EL-TOHAMY; GRUDA, 2015; YANG *et al.*, 2015) e o crescimento radicular por si permite melhor exploração e, conseqüentemente, uma maior absorção de recurso. (WEI; LI, 2016).

Bulgarelli *et al.* (2017) estudaram o efeito da inoculação da bactéria noduladora *Bradyrhizobium elkanii* na soja (*Glycine max*) associado ao fungo micorrízico *Glomus macrocarpum*, mostrou-se que a associação melhorou o desempenho das plantas comparado às não inoculadas, houve influência no crescimento e a nodulação nos estágios de floração enchimento dos grãos e aumento no teor de P nos nódulos. O teor de P na folha, beneficiou as plantas com a maior taxa de carboxilação da Rubisco e atenuou os efeitos da falta do P no metabolismo da fotossíntese, indicando sua participação nestes processos.

Essas pesquisas são emergentes, reconhecem o papel e a importância principalmente no desenvolvimento em ambientes limitados por fósforo. Contribuindo muito para as possíveis decisões da agricultura. Houlton *et al.* (2008) mostraram que as plantas leguminosas, graças à fixação biológica do nitrogênio (N), investem o N adquirido para aquisição de P e em contrapartida apresentam altas taxas da atividade de fosfatase ácida e resultam no desenvolvimento nesses ambientes com deficiência de P disponível.

Assim, para o sustento da agricultura que visa ao abastecimento da demanda crescente por alimentos, deve-se investir em pesquisas sobre o uso e aproveitamento do fósforo e sobre as estratégias que as plantas realizam em sua ausência.

2.3 CANA-DE-AÇÚCAR

Com a vinda dos portugueses no período colonial no Brasil, iniciaram-se os primeiros cultivos de cana-de-açúcar, favorecidos pela adaptabilidade ao clima e solo (DE CASTRO *et al.*, 2018). Nesta época, o cultivo era de subsistência e garantia a sobrevivência dos assentamentos.

Atualmente, a cana-de-açúcar é uma das culturas que apresenta maior crescimento interno devido ao impulso da produção de etanol (GALON *et al.*, 2012), associado à preocupação ocasionada pelo aquecimento global, diminuição das reservas fósfil e à necessidade da produção de energias renováveis (DEFANTE; VILPOUX; SAUER, 2018).

O Etanol é um combustível líquido de alta energia e de manuseio seguro, tornou-se um grande substituto ao petróleo na matriz energética Brasileira. Sua produção inicial foi impulsionada devido à crise do petróleo em 1970 e criação do programa Proálcool em 1975 (DE CASTRO *et al.*, 2018).

Os biocombustíveis de origem vegetal são considerados alternativas sustentáveis para mitigação das mudanças climática, e a cana-de-açúcar é uma importante fonte de biomassa que apresenta uma maior economia de carbono do que o milho (*Zea mays* L.), soja [*Glycine max* (L) Merr.] ou óleo de palma (*Elaeis guineenses*) (MACEDO; DAVIDSON, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

O Brasil apresenta-se como maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e em segundo lugar na produção de Bioetanol (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Tendo uma produção de 736,8 milhões de toneladas na safra 2016/2017, sendo 400,8 milhões produzidos pelo estado de São Paulo, seguido pelos estados do Paraná e Minas Gerais (AGRIANUAL, 2017).

Foram vários eventos que contribuíram desde 1975 para o aumento de produção, os quais resultaram em muitas transformações (CORDEIRO *et al.*, 2019). Podemos destacar a mecanização da cultura (DE CASTRO *et al.*, 2018), a realização de pesquisas com colmos e uso de reguladores de crescimento (ARAUJO, 2015), ou o lançamento de outras formas de plantio (LANDELL *et al.*, 2012).

O plantio de cana-de-açúcar é realizado por propagação através da utilização de minirrebolos ou pelo plantio de mudas (MASUDA *et al.*, 1981). Deve escolher corretamente, pois garante a economia no manejo do ciclo da cultura, principalmente com relação a pragas, doenças e à perda da camada fértil do solo devido ao arraste das partículas do solo (SILVA *et al.*, 2007).

Em 1980 surgiu o método de cultivo denominado MEIOSI - Método Interocupacional Ocorrendo Simultaneamente (ARAUJO, 2015). Constitui no aproveitamento de áreas de plantio já ocupadas por culturas temporárias, para garantia econômica ou fonte de adubação verde (SEGATO *et al.*, 2006).

Posteriormente surge no mercado as mudas Pré-brotadas (MPB), consiste em mudas oriundas de pequenos rebolos contendo uma gema de cana-de-açúcar plantada em tubetes e mantidas em casa de vegetação, e em seguida levadas para aclimação, prontas para o plantio (ARAUJO, 2015; LANDELL *et al.*, 2012).

Nota-se um esforço científico constante para potencializar a produção da cana-de-açúcar por área de plantio, como a introdução de novas tecnologias, publicações de pesquisas na área e o surgimento de novos cultivares.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas-FCAT/UNESP, localizada no Município de Dracena, Estado de São Paulo. A coleta do solo foi realizada em 05/10/2018, em uma área de Cerrado em Selvíria-MS.

O solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, textura argilosa (SANTOS *et al.*, 2018). Após a análise nutricional do solo, os atributos foram determinados, segundo a metodologia descrita por Raij *et al.* (2001), o qual apresentou os seguintes resultados: 2,0 mg dm⁻³ P (resina); 22,0 g dm⁻³ matéria orgânica; 5,0 mg dm⁻³ S-SO₄; 4,1 de pH (CaCl₂); K, Ca, Mg, H+Al= 0,9; 3,0; 3,0 e 58,0 mmolc dm⁻³, respectivamente; B, Cu, Fe, Mn, Zn = 0,13; 1,8; 33,0; 15,0 e 0,2 mg dm⁻³, CTC = 64,9 mmolc dm⁻³ e 11% de saturação por bases.

Foram utilizadas mudas pré-brotadas (MPB) da variedade RB 966928, com 40 dias de formação, fornecidas pelo viveiro credenciado do IAC-APTA de Ribeirão Preto-SP. As mudas foram transplantadas para vasos de 25 litros no dia 08/10/2018. O preparo do solo para o transplante foi baseado nas exigências da cultura da cana-de-açúcar (RAIJ *et al.*, 1997), sendo adicionados, em cada vaso, 70 g de calcário dolomítico, 3,2 g de nitrogênio na forma de ureia e 5,9 g de cloreto de potássio.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x2, o primeiro fator constituiu-se pelas doses de Brassinoesteróides (0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹) e o segundo fator pela presença ou ausência de adubação fosfatada. Foram utilizadas 6 repetições, tendo assim 48 parcelas experimentais.

As parcelas sob presença de fósforo receberam 5,2 g de Super Fosfato Simples (P₂O₅) em cada vaso. Após o estabelecimento das mudas, ou seja, dez dias após o transplante (18/10/2018) para o vaso (Figura 1), foi realizada a aplicação dos tratamentos com Brassinoesteróides. Foi utilizado o análogo (C₂₈H₄₈O₆) conhecido como 24-epibrassinolide da marca comercial SIGMA[®], dissolvido em etanol e dimetil sulfóxido para obtenção da solução estoque, posteriormente diluída em água destilada para as concentrações, de acordo com as doses adotadas. Foi aplicado um volume de 5,0 ml da solução do modo que foi possível uma cobertura completa das mudas pela calda.

Figura 1 - Mudanças de cana-de-açúcar após dez dias de transplante para o vaso



Fonte: Próprio autor.

Trinta dias após a aplicação das doses de BR (18/11/2018), foi realizada uma análise fisiológica a fim de que fossem mensurados parâmetros fotossintéticos. As medições foram realizadas na região mediana da Folha +1, completamente expandida, totalmente exposta à radiação solar no período compreendido entre às 10h00min às 14h00min. Para tanto, foi utilizado um equipamento portátil de trocas gasosas, (Infra Red Gas Analyser –IRGA, marca ADC BioScientific Ltd, modelo LC-Pro). As condições inicialmente impostas para realização das medidas constaram de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), providas por lâmpadas LED; 380 ppm de CO_2 e temperatura da câmara em 28°C . Foram avaliadas as seguintes características: taxa de assimilação líquida de CO_2 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); taxa de transpiração nas folhas ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e temperatura interna da folha ($^\circ\text{C}$). A eficiência do uso da água ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$) foi mensurada de acordo com a relação entre a assimilação líquida de CO_2 e os valores de transpiração da folha (DONOVAN; EHLERINGER, 1994).

O experimento foi encerrado no dia 23/12/2018 com 75 dias após o transplante. Nessa ocasião, as massas radicular e aérea foram levadas à estufa de circulação a 60°C durante 72 horas para secagem e posterior pesagem em balança de precisão. Através da somatória da massa dos pesos secos dessas regiões, a massa seca total da planta foi obtida.

Uma amostra de 130 mg de raiz foi coletada e enviada para o laboratório de Ecologia Vegetal da Unesp de Ilha Solteira-FEIS, onde foi determinada a atividade de fosfatase ácida radicular, seguindo o protocolo do nitrofenil-fosfato (adaptado de OLDE VENTERINK,

2011) e determinação de colonização micorrízica, seguindo o protocolo de Vierheilig *et al.* (1998).

De acordo com o software SISVAR (FERREIRA, 2014), a hipótese da normalidade foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi realizada a análise de variância (ANAVA), sendo aplicado o teste F a 5% de probabilidade. Para as doses aplicadas foi realizada a análise de variância na regressão.

4 RESULTADOS

A massa seca radicular (MSR), massa seca aérea (MSA) e massa seca total (MST) aumentaram significativamente em resposta à adição de fósforo (Tabela 1). O tratamento BR, isoladamente, afetou significativamente MSR, a qual não respondeu à interação entre os fatores. Já os valores de MSA e MST não responderam significativamente às doses do hormônio isoladamente. Porém, foi verificado um efeito da interação entre P e BR sobre MSA.

Tabela 1 - Valores de massa seca radicular (MSR), aérea (MSA) e total (MST) em g/planta aos 75 dias após à aplicação das doses de Brassinoesteróides (BR), sobre a presença ou ausência do elemento fósforo (P).

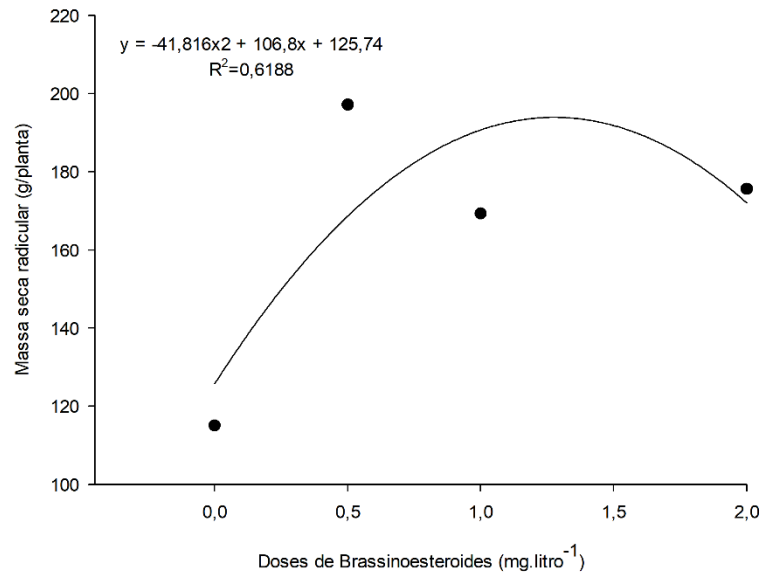
		MSR	MSA	MST
P	Presença	184,54 a	104,20 a	298,16 a
	Ausência	144,54 b	78,23 b	222,32 b
BR	0	115,06 b	82,19 a	216,08 a
	0,5	197,18 a	87,584 a	284,73 a
	1	169,36 ab	100,76 a	270,12 a
	2	175,64 ab	94,39 a	270,03 a
Teste F	Bloco	1,725 ^{ns}	2,805 [*]	2,058 ^{ns}
	P	5,946 [*]	13,502 ^{**}	10,394 ^{**}
	BR	4,433 ^{**}	1,309 ^{ns}	1,653 ^{ns}
	P x B	0,660 ^{ns}	3,797 [*]	0,799 ^{ns}
Média Geral		164,315	91,22	260,24
CV (%)		34,97	26,84	31,31

Nota: **, * e ^{ns}, significativo a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente, pelo Teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey a 5%

Fonte: Próprio autor.

Ressalta-se que a dose 0,5 mg. L-1 de Brassinoesteróides refletiu no melhor desenvolvimento das raízes. A derivação da regressão aponta para o ponto máximo da curva em 1,27 mg. L-1 (Figura 2).

Figura 2 - Massa seca radicular (MSR) em função da aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 75 dias após o transplântio



Fonte: Próprio autor.

A regressão quadrática apresentou o melhor ajuste ao conjunto de dados da variável MSA. De acordo com o desdobramento, devido a interação entre os fatores, foi observado que os melhores resultados foram obtidos nas doses de 0,5 e 1,0 mg. L⁻¹ de Brassinoesteróides na presença de fósforo (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias de massa seca aérea da interação entre doses de Brassinoesteróides (BR) na presença ou ausência de fósforo (P).

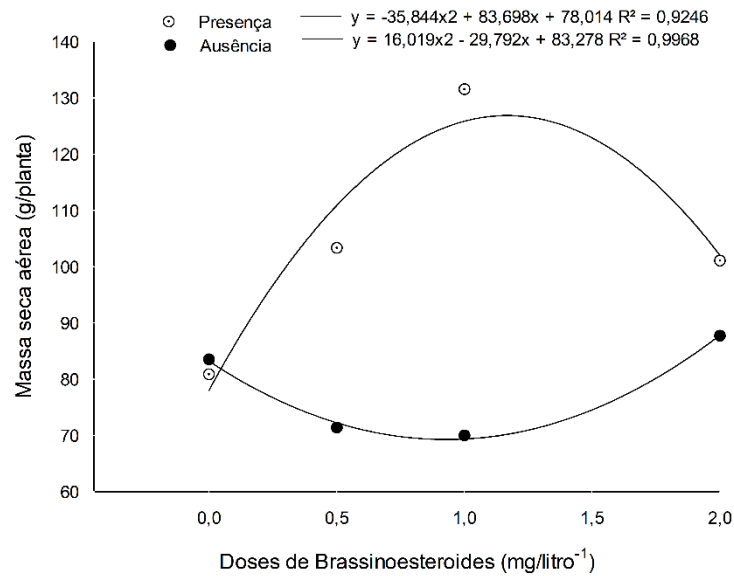
		Massa seca aérea			
		Brassinoesteróides			
		0 ^{ns}	0,5 [*]	1,0 ^{**}	2,0 ^{ns}
Fosforo	Presença ^{**}	80,25 a	103,34 a	131,54 a	101,09 a
	Ausência ^{ns}	83,25 a	71,24 b	69,99 b	87,69 a

Nota: **, * e ^{ns}, significativo a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente, pelo Teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si nas colunas pelo teste F a 5%

Fonte: Próprio autor.

A regressão quadrática proporcionou o melhor ajuste ao desdobramento da interação massa seca aérea sobre a presença ou ausência do elemento fósforo em relação às doses de Brassinoesteróides; E coeficiente de determinação de 92,46% (Figura 2), com uma correlação de Pearson de 96,15 %. Foi verificado um comportamento crescente da curva até seu ponto máximo de 1,16 mg. L⁻¹ na presença do fósforo (Figura 3).

Figura 3 - Desdobramento da interação Brassinoesteróides na presença ou ausência de fósforo sobre a massa seca aérea aos 75 dias após o transplântio



Fonte: Próprio autor.

A adição de fósforo não afetou significativamente atividade de fosfatase ácida e colonização micorrízica. As doses de Brassinoesteróides, entretanto, influenciaram na atividade dessa enzima (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise de variância para atividade de fosfatase ácida radicular (PME) e quantificação da porcentagem de colonização micorrízica de cana-de-açúcar, na presença ou ausência do elemento fósforo e aplicação de doses do hormônio Brassinoesteróides.

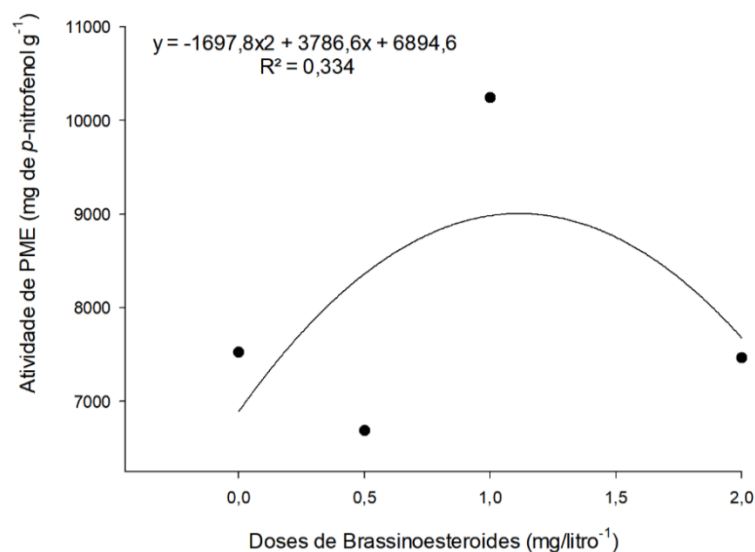
		PME (μg de p-nitrofenol g^{-1} raiz)	Micorrizas
P	Com P	8440,08 a	55,40 a
	Sem P	7519,14 a	57,79 a
BR	0	7523,46 ab	55,99 a
	0,5	6686,59 b	52,04 a
	1	10241,16 a	53,74 a
	2	7467,23 ab	64,59 a
Teste F	Bloco	1,668 ^{ns}	0,77 ^{ns}
	P	1,535 ^{ns}	0,288 ^{ns}
	BR	4,377*	1,554 ^{ns}
	P x B	0,949 ^{ns}	0,495 ^{ns}
Média Geral		7979,61	56,59
CV (%)		32,27	27,35

Nota: **, * e ^{ns}, significativo a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente, pelo Teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey a 5%

Fonte: Próprio autor.

A aplicação do hormônio vegetal na dose de 1,0 mg. L^{-1} , desencadeou um aumento na atividade de fosfatase ácida da planta. (Figura4).

Figura 4 - Atividade de fosfatase ácida das raízes à aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 75 dias após o transplantio



Fonte: Próprio autor.

Aos 30 dias após transplantio, as variáveis temperatura interna da folha ($^{\circ}\text{C}$), concentração interna de CO_2 e eficiência do uso da água não demonstraram diferença estatística em relação à aplicação dos tratamentos. A adição de fósforo acarretou incrementos

significativos nas variáveis transpiração da folha ($p < 0,05$), condutância estomática ($p < 0,01$) e assimilação líquida de CO_2 ($p < 0,01$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise de variância dos parâmetros fotossintéticos, sendo, temperatura interna da folha (TLEAF), concentração interna de CO_2 (CI), Taxa de transpiração da folha (E), condutância estomática (GS), assimilação líquida de CO_2 (A) e eficiência do uso da água (EUA).

		TLEAF	CI	E	GS	A	EUA
P	Com P	38,662 a	273,50 a	2,710 a	0,071 a	10,27 a	3,44 a
	Sem P	39,312 a	124,54 a	2,197 b	0,053 b	7,709 b	3,529 a
BR	0	39,375 a	148 a	2,385 a	0,057 a	7,48 a	3,114 a
	0,5	39,208 a	111 a	2,545 a	0,065 a	9,556 a	3,745 a
	1	39,175 a	122 a	2,67 a	0,069 a	9,409 a	3,619 a
	2	38,191 a	114 a	2,217 a	0,058 a	9,518 a	3,47 a
Teste F	Bloco	2,887*	1,476 ^{ns}	1,639 ^{ns}	1,270 ^{ns}	2,366*	2,792*
	P	1,447 ^{ns}	0,012 ^{ns}	4,931*	7,847**	9,374**	0,091 ^{ns}
	BR	0,990 ^{ns}	1,305 ^{ns}	0,722 ^{ns}	0,795 ^{ns}	1,454 ^{ns}	0,987 ^{ns}
	P x B	0,621 ^{ns}	1,001 ^{ns}	0,389 ^{ns}	0,670 ^{ns}	3,193*	0,358 ^{ns}
Média Geral		38,987	123,75	2,454	0,062	8,99	3,487
CV (%)		4,8	41,21	32,6	34,63	32,25	27,31

Nota: **, * e ^{ns}, significativo a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente, pelo Teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey a 5%

Fonte: Próprio autor.

A adição de fósforo e de Brassinoesteróides em conjunto influenciaram na assimilação líquida de CO_2 . Para essa variável, a maior dose do hormônio na presença de fósforo proporcionou uma maior taxa fotossintética para as plantas (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias de Assimilação líquida de CO_2 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para interação das doses de Brassinoesteróides (BR) na presença ou ausência de fósforo (P).

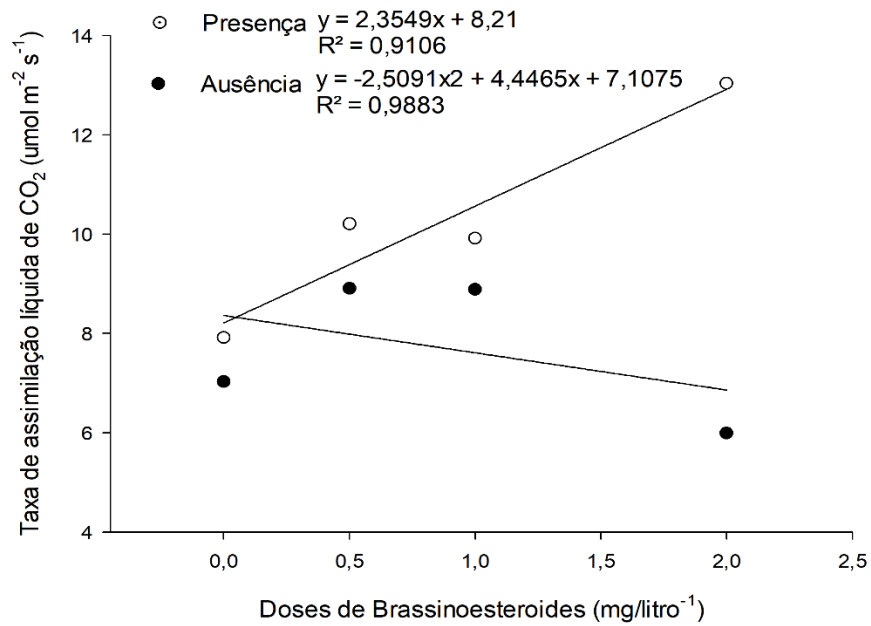
		Assimilação Líquida de CO_2			
		Brassinoesteróides			
		0 ^{ns}	0,5 ^{ns}	1,0 ^{ns}	2,0 ^{**}
Fosforo	Presença*	7,92 a	10,21 a	9,92 a	13,04 a
	Ausência ^{ns}	7,03 a	8,91 a	8,89 a	5,99 b

Nota: **, * e ^{ns}, significativo a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente, pelo Teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey a 5%

Fonte: Próprio autor.

A regressão linear mostrou melhor ajuste ao desdobramento da interação (P e BR) sobre a variável de assimilação líquida de CO₂ (Figura 5).

Figura 5 - Desdobramento da Assimilação líquida de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em função da presença ou ausência de fósforo e a aplicação das doses de Brassinoesteróides aos 30 dias após o transplante.



Fonte: Próprio autor.

5 DISCUSSÃO

A sobrevivência e o desenvolvimento das plantas são dependentes de um sistema radicular vigoroso, o que reflete numa melhor captação de água e nutrientes (WEI; LI, 2016). Neste estudo, observou-se uma resposta positiva da massa seca radicular da cana-de-açúcar à presença do fósforo e Brassinoesteróides. Estudos como de Larré *et al.* (2014) demonstram os efeitos benéficos similares desencadeados pela adição do 24-epibrassinolideo no cultivo de arroz, constatando que a adição de doses de 0,1 e 1,0 μM aumentaram o sistema radicular de suas plantas e beneficiaram as mesmas. Em cevada, a adição do hormônio na dose de 1,0 μM praticamente dobrou o crescimento radicular quando comparado ao tratamento controle, associando este efeito com o aumento constatado da atividade mitótica do órgão (KARTAL *et al.*, 2009).

As respostas à adição dos Brassinoesteróides possuem um comportamento dose dependente, no qual, pequenas doses estimulam o desenvolvimento do sistema radicular; e altas doses inibem este crescimento, de acordo com estudo realizados com *Arabidopsis thaliana* (GOMES, 2011; GONZÁLES *et al.*, 2011; HACHAM *et al.*, 2011; CHAIWANON; WANG, 2015; GUPTA; SINGH; LAXMI, 2015; LEE *et al.*, 2015). Os dados desta pesquisa seguem este padrão até então não apresentados nesta cultura, onde somente a dose 0,5 mg. L⁻¹ apresentou resultados significativos.

Nas variáveis massa seca radicular, massa seca aérea e massa seca total nota-se a importância do fósforo. Tendo em vista que os solos brasileiros no geral são pobres em fósforo (DUARTE *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2015), entende-se que, nessas condições, a adição do mesmo tenha aliviado a limitação nutricional. O solo utilizado neste estudo foi oriundo de uma área de Cerrado, Bioma especificamente conhecido pela carência nutricional de fósforo, a qual é limitante para o desenvolvimento de algumas espécies que vivem no mesmo (LANNES *et al.*, 2016). Diversos estudos relatam o efeito benéfico da adição de fósforo sobre a biomassa na cultura da cana-de-açúcar (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016; LISBOA; HEINRICHS; FIGUEIREDO, 2017; BORGES *et al.*, 2019; GUMIERE *et al.* 2019; SOLTANGHEISI *et al.*, 2019); e que sua falta acarreta grandes prejuízos (NETO *et al.*, 2015). Esse efeito significativo da presença do P sobre a massa seca da planta pode ser compreendido pela importância do mesmo em diversas substâncias estruturais, como proteínas da parede celular, lipídios, açúcares, dentre outras que servem de fonte de energia para o crescimento vegetal (TAIZ *et al.*, 2017).

Esta pesquisa é, provavelmente, a primeira demonstrar o efeito sinérgico entre o BR e P sobre a massa seca área de plantas de cana-de-açúcar. Os resultados encontrados podem ser explicados por uma resposta causada pelo incremento ocasionado pelos elementos separadamente sobre massa seca radicular e o efeito sinérgico sobre a variável de assimilação líquida de CO₂. Vale destacar que, outros autores obtiveram este incremento ao adotarem à adição do referido hormônio em suas pesquisas. Freitas *et al.* (2012) constatou que a adição do 24-epibrassinolideo no cultivo do abacaxizeiro na dosagem de 1,0 mg.L⁻¹ desencadeou um incremento sobre a biomassa seca da parte aérea. Zhang *et al.* (2013) relatam que a aplicação do Brassinoesteróides na dosagem de 1,0 mg.L⁻¹ foi benéfica sobre as variáveis de biomassa seca área e radicular em melão, minimizando os efeitos ocasionados pelo estresse por altas temperaturas.

Da mesma forma, a aplicação do 24 epibrassinolideo em pepino aumentou de 20,06 para 22,6% a área foliar e acúmulo de biomassa da parte aérea (JIANG *et al.*, 2012).

A atividade da fosfatase ácida não é constante nas plantas. Além disso, essa enzima é influenciada pelas condições ambientais do solo, principalmente pelas variações de N e P (OLDE VENTERINK, 2011). Geralmente a atividade de fosfatase da raiz aumenta em resposta à baixa disponibilidade de P no solo ou alta disponibilidade de N (FUJITA *et al.*, 2010; OLDE VENTERINK; GUSEWELL, 2010). Assim, a correção de N realizada no solo na forma de ureia pode explicar a não significância entre o tratamento com fósforo e o tratamento controle, uma vez que o solo foi devidamente corrigido. Ainda, a adição deste elemento visou o suprimento da necessidade da planta, baseado no incremento encontrados nas variáveis de massa seca e fotossíntese.

Sendo assim, a adição do hormônio vegetal resultou em um aumento da atividade de fosfatase ácida, o que pode ser explicado pelo efeito do mesmo sobre crescimento radicular da planta, baseado nos valores significativos de BR sobre o crescimento aéreo. A aplicação, tanto do fósforo, como do hormônio vegetal não demonstrou efeito significativo sobre a porcentagem de colonização micorrízica nas plantas estudadas.

As associações micorrízicas são benéficas às plantas pela troca entre nutrientes e carbono (NOURI *et al.*, 2014). Essas associações são influenciadas por múltiplos fatores, como a intensidade da limitação, o tipo de limitação (N ou P), o investimento necessário de carbono pela planta e a origem dos fungos (locais vs não locais) (Johnson *et al.*, 2010). O fato da adição de fósforo não ter desencadeado um aumento na colonização micorrízica pode ser explicado pelo fornecimento do P nos vasos, sendo o investimento nas micorrizas uma desvantagem devido à oferta e pelo custo do carbono se tornar mais caro para planta; Já que

as mesmas tiveram na presença do fósforo o elemento facilmente disponível (SOKA; RITCHIE, 2014). Demonstrou na presente pesquisa, que as plantas de cana-de-açúcar em sua fase inicial investiram o déficit de P sobre crescimento de raiz (baseado nos valores apresentados na Análise de Variância) ao invés de associação com fungos micorrízicos (HALING *et al.*, 2016).

Gumiere *et al.* (2019), estudando os efeitos de fontes de fósforo nas interações microbianas do solo de cana-de-açúcar, demonstraram que a adição das fontes de superfosfato simples (18% de P_2O_5), fosfato de rocha Catalão (2,93 de P_2O_5) e fosfato de rocha Bayovar (14% de P_2O_5) desencadearam efeitos antagonistas sobre a colonização da cana-de-açúcar. A utilização da fonte com maior concentração de P (super fosfato simples), ocasionou em maior teor de matéria seca total e atividade bacteriana no solo em seu estudo. Porém, com a adição de micorrizas houve uma redução na matéria seca total.

No trabalho de Gumiere *et al.* (2019) utilizou a fonte de P na forma de superfosfato simples, e houve uma resposta significativa na massa seca total. Assim, esse resultado pode ser associado ao presente estudo, ou o a fertilização suprimindo a vantagem da colonização micorrizica (SOKA; RITCHIE, 2014).

Poucos trabalhos abordam a adição de Brassinoesteróides sobre as associações micorrízicas. No entanto, Bitterlich *et al.* (2014) demonstraram que tomates mutantes apresentaram uma deficiência na biossíntese de Brassinoesteróides, o que ocasionou uma micorrização diminuída e redução do conteúdo de açúcares elaborados. Como os açúcares servem de energia para manutenção da associação, sugere-se uma possível intervenção de BR na infecção e colonização das micorrizas.

Foo *et al.* (2013) demonstraram que mutantes de ervilha deficientes em giberelinas, proteínas *DELLA* e Brassinoesteróides não apresentaram alterações na colonização, supondo assim, que se esta classe de hormônios estiver envolvida nesta espécie, mudanças grandes nos seus níveis seriam necessárias.

As respostas benéficas nas variáveis de transpiração, condutância estomática e assimilação líquida de CO_2 da fotossíntese à adição de P permitem que as plantas por meio de reações metabólicas obtenham a energia necessária para o seu crescimento e desenvolvimento (FERREIRA *et al.*, 2019).

Silva *et al.* (2010) demonstraram que mudas de café arábica (*Coffea arabica*) submetidas à dosagem ideal de P, e também duas vezes essa dosagem, apresentaram um incremento na assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática, refletindo em maior produção de matéria seca.

A assimilação líquida de CO₂ representa a taxa de fotossíntese líquida da planta em resposta ao aproveitamento da energia luminosa, sendo o tanto que a planta aproveita da energia que recebe do sol (Ferraz *et al.*, 2014). A interceptação da luz solar é um fator importante, responsável para a obtenção do máximo de produtividade das culturas agrícolas (NOBERTO *et al.*, 2018).

Uma vez que a abertura dos estômatos permite uma maior entrada de CO₂ nos sítios de carboxilação da Rubisco, o efeito sobre a variável de assimilação e condutância estomática é entendido (DALLAGNOL *et al.*, 2011; PINHEIRO; CHAVES, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2011). Foi levantada a hipótese do efeito aditivo inicial dos BR ao P sobre os processos de fotossíntese.

Existem relatos sobre os benefícios da adição de BR separadamente sobre a fotossíntese, sendo citada a influência em mutantes de tomate, onde os BR são atenuante da enzimas do ciclo de Calvin-Benson, maximalizando os benefícios da fotossíntese por induzir a planta a um status redox (LI *et al.*, 2016). Em pepinos, por exemplo, a aplicação na dosagem de 0,1µM beneficiou o acúmulo de biomassa (JIANG *et al.*, 2012). No cultivo de tomate, a aplicação dos BR (1µM) minimizou os efeitos deletérios do estresse por salinidade, causando uma melhora nas variáveis relacionadas à condutância estomática, assimilação líquida de CO₂ e conteúdo intercelular (AHANGER *et al.*, 2020).

Em geral, os dados obtidos neste trabalho suportam essa questão, ressaltando os efeitos inéditos sobre o desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar. A adição de P exerceu uma influência positiva sobre a fotossíntese. A combinação com BR resultou em um incremento da assimilação líquida de CO₂.

Os resultados ocasionados pela combinação do 24-epibrassinolideo e fósforo são promissores. Entretanto há necessidade de pesquisas utilizando outras formas de fósforo. Esses resultados junto aos trabalhos citados, levantam questões a serem respondidas para potencializar a fertilização das culturas, atividade de fosfatase e associações com as micorrizas visando um aproveitamento e aumento da produção.

6 CONCLUSÕES

Houve um benefício na presença do nutriente fósforo e o hormônio vegetal Brassinoesteróides sobre plantas de cana-de-açúcar apoiando a hipótese do presente estudo. Observou-se o efeito positivo sinérgico nas variáveis de massa seca aérea e fotossíntese.

A adubação fosfatada atuou incrementando os valores de crescimento, transpiração, condutância estomática e assimilação líquida de CO₂. Por sua vez, os BR atuaram sobre massa seca radicular e atividade de fosfatase

REFERÊNCIAS

- AHANGER, M. A.; MIR, R. A.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. Combined effects of brassinosteroid and kinetin mitigates salinity stress in tomato through the modulation of antioxidant and osmolyte metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 147, p. 31–42, 2020.
- ALBUQUERQUE, A. W. de; SÁ, L. de A.; RODRIGUES, W. A. R.; MOURA, A. B.; OLIVEIRA FILHO, M. dos S. Growth and yield of sugarcane as a function of phosphorus doses and forms of application. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 1, p. 29–35, 2016.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. **World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision**. [S. l.: s. n.], 2012.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DIFUSÃO DE ADUBOS - ANDA. **Estatísticas indicadores: principais indicadores do setor de fertilizantes**. São Paulo: ANDA, 2017. Disponível em: <http://anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00>. Acesso em: 23 nov. 2017.
- AGRIANUAL. **Yearbook of Brazilian agriculture**. São Paulo: Informa Economics, 2017.
- ANJUM, S. A.; WANG, L. C.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; XUE, L. L.; ZOU, C. M. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. **Journal of Agronomy and Crop Science**, London, v. 197, n. 3, p. 177–185, 2011.
- ARAUJO, R. B. de. **Avaliação de diferentes tipos de propágulos no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.)**. 2015. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.
- BAUM, C.; EL-TOHAMY, W.; GRUDA, N. Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: A review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 187, p. 131–141, 2015.
- BITTERLICH, M.; KRÜGEL, U.; BOLDT-BURISCH, K.; FRANKEN, P.; KÜHN, C. The sucrose transporter Sl SUT 2 from tomato interacts with brassinosteroid functioning and affects arbuscular mycorrhiza formation. **The Plant Journal**, London, v. 78, n. 5, p. 877–889, 2014.
- BORCIONI, E.; NEGRELLE, R. R. B. Aplicação de análogo de brassinosteróide (Biobras 16®) sobre a germinação e crescimento in vitro de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bociuva. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 270–275, 2012.
- BORGES, B. M. M. N.; ABDALA, D. B.; DE SOUZA, M. F.; VIGLIO, L. M.; COELHO, M. J. A.; PAVINATO, P. S.; FRANCO, H. C. J. Organomineral phosphate fertilizer from sugarcane byproduct and its effects on soil phosphorus availability and sugarcane yield. **Geoderma**, Amsterdam v. 339, p. 20–30, 2019.

- BULGARELLI, R. G.; MARCOS, F. C. C.; RIBEIRO, R. V.; DE ANDRADE, S. A. L. Mycorrhizae enhance nitrogen fixation and photosynthesis in phosphorus-starved soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford v. 140, p. 26–33, 2017.
- CHAIWANON, J.; WANG, Z.-Y. Spatiotemporal brassinosteroid signaling and antagonism with auxin pattern stem cell dynamics in *Arabidopsis* roots. **Current Biology**, London, v. 25, n. 8, p. 1031–1042, 2015.
- CHEN, M.; GRAEDEL, T. E. A half-century of global phosphorus flows, stocks, production, consumption, recycling, and environmental impacts. **Global Environmental Change**, Guildford v. 36, p. 139–152, 2016.
- CLOUSE, S. D. Brassinosteroids. **The arabidopsis book**, [s. l.], v. 9, p. e0151, 2011.
- CONDON, L. M.; NEWMAN, S. Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils. **Journal of Soils and Sediments**, Basel, v. 11, n. 5, p. 830–840, 2011.
- CORDEIRO, N. K.; SOUZA, D. H. G.; BERNARDI, D.; CARDOSO, K. P. S.; LAZARETTI, N. S.; ABRAÃO, P. C.; DA MATA, T. C.; JÚNIOR, E. K. M. Analysis of regression and correlation on production of sugarcane in the States of Paraná, São Paulo and Minas Gerais, Brazil. **Journal of Experimental Agriculture International**, London, p. 1–8, 2019.
- CORDELL, D.; DRANGERT, J.-O.; WHITE, S. The story of phosphorus: global food security and food for thought. **Global environmental change**, Guildford, v. 19, n. 2, p. 292–305, 2009.
- DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F. A.; MARTINS, S. C. V.; CAVATTE, P. C.; DAMATTA, F. M. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. **Australasian Plant Pathology**, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 360–365, 2011.
- DA SILVA, M. C.; DA COSTA, F. R.; LEANDRO, W. M.; DE LIMA JUNIOR, A. F.; BRITO, G. de S.; DA SILVA, L. R. Eficiência de uso de termofosfato de alumínio como fonte de fósforo na produção de feijão, em solo incubado. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, São Luís de Montes Belos, v. 9, n. 1, p. 1-18, 2015.
- DE CASTRO, R. E. N.; DE BRITO ALVES, R. M.; DO NASCIMENTO, C. A. O.; GIUDICI, R. Assessment of Sugarcane-Based Ethanol Production. *In*: BASSO, T. P.; BASSO L. C. (ed.) **Fuel ethanol production from sugarcane**. [S. l.]: IntechOpen, 2018.
- DEFANTE, L. R.; VILPOUX, O.; SAUER, L. Evolution of sugar cane production in the state of Mato Grosso do Sul. **Informe GEPEC**, Toledo, v. 22, n. 1, p. 150–169, 2018.
- DIVI, U. K.; KRISHNA, P. Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. **New Biotechnology**, Amsterdam, v. 26, n. 3–4, p. 131–136, 2009.
- DONOVAN, L. A.; EHLERINGER, J. R. Carbon isotope discrimination, water-use efficiency, growth, and mortality in a natural shrub population. **Oecologia**, Berlin, v. 100, n. 3, p. 347–354, 1994.

DRIESSEN, P.; DECKERS, J.; SPAARGAREN, O.; NACHTERGAELE, F. **Lecture notes on the major soils of the world.** [S.l.]: Food and Agriculture Organization (FAO), 2000.

DUARTE, C. F. D.; PAIVA, L. M.; FERNANDES, H. J.; PROCHERA, D. L.; CASSARO, L. H.; BREURE, M. F.; FLORES, L. S.; FERNANDES, R. L.; SOUZA, E. R. C.; FLEITAS, A. C. Piata palisadegrass fertilized with different sources of phosphorus for solubility in water. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 1, p. 315–318, 2015.

FAIRHUST, T. The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics. **Agroforestry Forum**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 2-8, 1999.

FERRAZ, R. L. S.; BELTRÃO, N. E. M.; MAGALHÃES, I. D.; FERNANDES, P. D.; ROCHA, M. S. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina**, v. 35, n. 2, p. 735-748, 2014

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.

FERREIRA, L. *et al.* Photosynthetic characteristics in fig tree accessions for diversification of production. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 13, p. 268-278, 2019.

FERREIRA, N. S. *et al.* Interaction of phytohormone-producing rhizobia with sugarcane mini-setts and their effect on plant development. **Plant and Soil**, The Hague, p. 1-18, 2020.

FOO, E.; ROSS, J. J.; JONES, W. T.; REID, J. B. Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins. **Annals of Botany**, London, v. 111, n. 5, p. 769–779, 2013.

FREITAS, S. J.; SANTOS, P. C.; CARVALHO, A. J. C. De; BERILLI, S. S.; GOMES, M. M. A. Brassinosteroid e adubação nitrogenada no crescimento e estado nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes do seccionamento de caule. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 34, n. 2, p. 612–618, 2012.

FUJITA, Y.; ROBROEK, B. J. M.; DE RUITER, P. C.; HEIL, G. W.; WASSEN, M. J. Increased N affects P uptake of eight grassland species: the role of root surface phosphatase activity. **Oikos**, Buenos Aires, v. 119, n. 10, p. 1665–1673, 2010.

GALON, L.; TIRONI, S. P.; SILVA, A. F. Da; BEUTLER, A. N.; ROCHA, P. R. R.; FERREIRA, E. A.; SILVA, A. A. Da. Macronutrients availability in sugarcane varieties grown under increasing densities of *Brachiaria brizantha*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1372–1379, 2012.

GOMES, M. M. A. Physiological effects related to brassinosteroid application in plants. *In*: HAYAT, S.; BASHIR, A. **Brassinosteroids: a class of plant hormone**. London: Springer, 2011. p. 193–242.

GONZÁLEZ-GARCÍA, M.-P.; VILARRASA-BLASI, J.; ZHIPONOVA, M.; DIVOL, F.; MORA-GARCÍA, S.; RUSSINOVA, E.; CAÑO-DELGADO, A. I. Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in Arabidopsis roots. **Development**, Cambridge, v. 138, n. 5, p. 849–859, 2011.

GROVE, M. D.; SPENCER, G. F.; ROHWEDDER, W. K.; MANDAVA, N.; WORLEY, J. F.; WARTHEN JR, J. D.; STEFFENS, G. L.; FLIPPEN-ANDERSON, J. L.; COOK JR, J. C. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen. **Nature**, London, v. 281, n. 5728, p. 216, 1979.

GUMIERE, T.; ROUSSEAU, A. N.; DA COSTA, D. P.; CASSETARI, A.; COTTA, S. R.; ANDREOTE, F. D.; GUMIERE, S. J.; PAVINATO, P. S. Phosphorus source driving the soil microbial interactions and improving sugarcane development. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 4400, 2019.

GUPTA, A.; SINGH, M.; LAXMI, A. Interaction between glucose and brassinosteroid during the regulation of lateral root development in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 168, n. 1, p. 307–320, 2015.

HACHAM, Y.; HOLLAND, N.; BUTTERFIELD, C.; UBEDA-TOMAS, S.; BENNETT, M. J.; CHORY, J.; SAVALDI-GOLDSTEIN, S. Brassinosteroid perception in the epidermis controls root meristem size. **Development**, Cambridge, v. 138, n. 5, p. 839–848, 2011.

HALING, R. E.; YANG, Z.; SHADWELL, N.; CULVENOR, R. A.; STEFANSKI, A.; RYAN, M. H.; SANDRAL, G. A.; KIDD, D. R.; LAMBERS, H.; SIMPSON, R. J. Root morphological traits that determine phosphorus-acquisition efficiency and critical external phosphorus requirement in pasture species. **Functional Plant Biology**, [s. l.], v. 43, n. 9, p. 815–826, 2016.

HOULTON, B. Z.; WANG, Y.-P.; VITOUSEK, P. M.; FIELD, C. B. A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. **Nature**, London, v. 454, n. 7202, p. 327, 2008.

JIANG, Y.-P.; CHENG, F.; ZHOU, Y.-H.; XIA, X.-J.; SHI, K.; YU, J.-Q. Interactive effects of CO₂ enrichment and brassinosteroid on CO₂ assimilation and photosynthetic electron transport in *Cucumis sativus*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford v. 75, p. 98–106, 2012.

JOHNSON, N. C.; WILSON, G. W. T.; BOWKER, M. A.; WILSON, J. A.; MILLER, R. M. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 107, n. 5, p. 2093–2098, 2010.

JOHNSTON, A. E.; POULTON, P. R.; FIXEN, P. E.; CURTIN, D. Phosphorus: its efficient use in agriculture. *In: Advances in agronomy*. Amsterdam: Elsevier, 2014. v. 123. p. 177–228.

KARTAL, G.; TEMEL, A.; ARICAN, E.; GOZUKIRMIZI, N. Effects of brassinosteroids on barley root growth, antioxidant system and cell division. **Plant Growth Regulation**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 261–267, 2009

KAUSCHMANN, A.; JESSOP, A.; KONCZ, C.; SZEKERES, M.; WILLMITZER, L.; ALTMANN, T. Genetic evidence for an essential role of brassinosteroids in plant development. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 701–713, 1996.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; AHMAD, E. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. *In*: KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (ed.). **Phosphate solubilizing microorganisms**. London: Springer, 2014. p. 31–62.

LAMBERS, H.; SHANE, M. W.; CRAMER, M. D.; PEARSE, S. J.; VENEKLAAS, E. J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. **Annals of Botany**, London, v. 98, n. 4, p. 693–713, 2006.

LANDELL, M. G. de A.; CAMPANA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; XAVIER, M. A.; ANJOS, I. A. Dos; DINARDO-MIRANDA, L. L.; SCARPARI, M. S.; GARCIA, J. C.; BIDÓIA, M. A. P.; SILVA, D. N. da. **Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas**. Ribeirão Preto: Instituto Agrônômico de Campinas, 2012.

LANNES, L. S.; BUSTAMANTE, M. M. C.; EDWARDS, P. J.; VENTERINK, H. O. Native and alien herbaceous plants in the Brazilian Cerrado are (co-) limited by different nutrients. **Plant and Soil**, The Hague, v. 400, n. 1–2, p. 231–243, 2016.

LARRÉ, C. F.; MARINI, P.; MORAES, C. L.; DO AMARANTE, L.; DE MORAES, D. M. Influence of the 24-epibrassinolide on tolerance to salt stress in rice seedlings. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 67–76, 2014.

LEE, H.-S.; KIM, Y.; PHAM, G.; KIM, J. W.; SONG, J.-H.; LEE, Y.; HWANG, Y.-S.; ROUX, S. J.; KIM, S.-H. Brassinazole resistant 1 (BZR1)-dependent brassinosteroid signalling pathway leads to ectopic activation of quiescent cell division and suppresses columella stem cell differentiation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 15, p. 4835–4849, 2015.

LI, J.; NAGPAL, P.; VITART, V.; MCMORRIS, T. C.; CHORY, J. A role for brassinosteroids in light-dependent development of Arabidopsis. **Science**, [s. l.], v. 272, n. 5260, p. 398–401, 1996.

LI, X.-J.; GUO, X.; ZHOU, Y.-H.; SHI, K.; ZHOU, J.; YU, J.-Q.; XIA, X.-J. Overexpression of a brassinosteroid biosynthetic gene Dwarf enhances photosynthetic capacity through activation of Calvin cycle enzymes in tomato. **BMC plant biology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–12, 2016.

LISBOA, L. A. M.; HEINRICHS, R.; FIGUEIREDO, P. A. M. Efeitos da fosfatagem nos atributos químicos do solo e produção de cana-de-açúcar para forragem. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 74, n. 3, p. 213–220, 2017.

LOPEZ-ARREDONDO, D. L.; LEYVA-GONZÁLEZ, M. A.; GONZÁLEZ-MORALES, S. I.; LÓPEZ-BUCIO, J.; HERRERA-ESTRELLA, L. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 65, p. 95–123, 2014.

LV, B.; TIAN, H.; ZHANG, F.; LIU, J.; LU, S.; BAI, M.; LI, C.; DING, Z. Brassinosteroids regulate root growth by controlling reactive oxygen species homeostasis and dual effect on ethylene synthesis in Arabidopsis. **PLoS Genetics**, Washington, v. 14, n. 1, p. e1007144, 2018.

MACEDO, M. N.; DAVIDSON, E. A. Climate and land use: forgive us our carbon debts. **Nature Climate Change**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 538, 2014.

MASUDA, Y.; GHELLER, A. C. A.; DAL PICCOLO, C. R.; SORDI, R. A. **Produção de mudas sadias**. Piracicaba: IAA, PLANALSUCAR, 1981. 22 p.

MARTINS, S.; MONTIEL-JORDA, A.; CAYREL, A.; HUGUET, S.; PAYSANT-LE ROUX, C.; LJUNG, K.; VERT, G. Brassinosteroid signaling-dependent root responses to prolonged elevated ambient temperature. **Nature Communications**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 309, 2017.

MCGUINNESS, P. N.; REID, J. B.; FOO, E. The role of gibberellins and brassinosteroids in nodulation and arbuscular mycorrhizal associations. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 10, 2019.

MCLAUCHLAN, K. The nature and longevity of agricultural impacts on soil carbon and nutrients: a review. **Ecosystems**, New York., v. 9, n. 8, p. 1364–1382, 2006.

NETO, D. E. S.; DE OLIVEIRA, A. C.; FREIRE, F. J.; DOS SANTOS FREIRE, M. B. G.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; DA ROCHA, A. T. Adubação fosfatada para cana-de-açúcar em solos representativos para o cultivo da espécie no Nordeste brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 50, n. 1, p. 73–81, 2015.

NOBERTO, P.; ALVARENGA, A. A.; ANDRADE, J. C.; RODRIGUES, F. A.; PEREIRA, L. V.; GONÇALVES, E. D. Cultivo da Figueira “Purple Valinhos” em Diferentes Densidades Vegetais para Produção de Figos Verdes para Indústria na Região do Campo das Vertentes-MG. **Agricultural Sciences**, v. 9, p. 1097-1106, 2018.

NOURI, E.; BREUILLIN-SESSOMS, F.; FELLER, U.; REINHARDT, D. Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. **PLoS One**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. e90841, 2014.

NOVAIS, R. F.; FERREIRA, R. P.; NEVES, J. C. L.; DE BARROS, N. F. Absorção de fósforo e crescimento do milho com sistema radicular parcialmente exposto a fonte de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 7, p. 749–754, 1985.

OBERSTEINER, M.; PEÑUELAS, J.; CIAIS, P.; VAN DER VELDE, M.; JANSSENS, I. A. The phosphorus trilemma. **Nature Geoscience**, [s. l.], v. 6, n. 11, p. 897, 2013.

OLDE VENTERINK, H.; GÜSEWELL, S. Competitive interactions between two meadow grasses under nitrogen and phosphorus limitation. **Functional Ecology**, Oxford, v. 24, n. 4, p. 877–886, 2010.

OLDE VENTERINK, H. Legumes have a higher root phosphatase activity than other forbs, particularly under low inorganic P and N supply. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 347, n. 1–2, p. 137–146, 2011.

OLIVEIRA, D. M. S.; CHERUBIN, M. R.; FRANCO, A. L. C.; SANTOS, A. S.; GELAIN, J. G.; DIAS, N. M. S.; DINIZ, T. R.; ALMEIDA, A. N.; FEIGL, B. J.; DAVIES, C. A. Is the expansion of sugarcane over pasturelands a sustainable strategy for Brazil's bioenergy industry? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 102, p. 346–355, 2019.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of experimental botany**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 869–882, 2011.

RAIJ, B. Van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas - IAC, 1997.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas - IAC, 2001. 285 p.

RISKIN, S. H.; PORDER, S.; NEILL, C.; FIGUEIRA, A. M. e S.; TUBBESING, C.; MAHOWALD, N. The fate of phosphorus fertilizer in Amazon soya bean fields. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 368, n. 1619, p. 20120154, 2013.

ROCKSTRÖM, J.; WILLIAMS, J.; DAILY, G.; NOBLE, A.; MATTHEWS, N.; GORDON, L.; WETTERSTRAND, H.; DECLERCK, F.; SHAH, M.; STEDUTO, P. Sustainable intensification of agriculture for human prosperity and global sustainability. **Ambio**, Stockholm, v. 46, n. 1, p. 4–17, 2017.

RODRIGUES, H. J. B.; COSTA, R. F.; RIBEIRO, J. B. M.; FILHO, D. C. S.; RUIVO, M. L. P.; JÚNIOR, J. A. S. Variabilidade sazonal da condutância estomática em um ecossistema de manguezal amazônico e suas relações com variáveis meteorológicas. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 26, n. 2, p. 189-196, 2011.

RODRIGUES, M.; PAVINATO, P. S.; WITHERS, P. J. A.; TELES, A. P. B.; HERRERA, W. F. B. Legacy phosphorus and no tillage agriculture in tropical oxisols of the Brazilian savanna. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 542, p. 1050–1061, 2016.

ROWE, H.; WITHERS, P. J. A.; BAAS, P.; CHAN, N. I.; DOODY, D.; HOLIMAN, J.; JACOBS, B.; LI, H.; MACDONALD, G. K.; MCDOWELL, R. Integrating legacy soil phosphorus into sustainable nutrient management strategies for future food, bioenergy and water security. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 104, n. 3, p. 393–412, 2016.

ROY, E. D.; RICHARDS, P. D.; MARTINELLI, L. A.; COLETTA, L. Della; LINS, S. R. M.; VAZQUEZ, F. F.; WILLIG, E.; SPERA, S. A.; VAN-WEY, L. K.; PORDER, S. The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. **Nature Plants**, [s. l.] v. 2, p. 16043, 2016.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; DOS ANJOS, L. H. C.; DE OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; DE ALMEIDA, J. A.; DE ARAUJO FILHO, J. C.; DE OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SATTARI, S. Z.; BOUWMAN, A. F.; GILLER, K. E.; VAN ITTERSUM, M. K. Residual soil phosphorus as the missing piece in the global phosphorus crisis puzzle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 109, n. 16, p. 6348–6353, 2012.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 116, n. 2, p. 447–453, 1998.

SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. De. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP, 2006. v. 2. 415 p.

SILVA, L. Da; MARCHIORI, P. E. R.; MACIEL, C. P.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Photosynthesis, water relations and growth of young coffee plants according to phosphorus availability. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 9, p. 965–972, 2010.

SINGH, A. P.; SAVALDI-GOLDSTEIN, S. Growth control: brassinosteroid activity gets context. **Journal of Experimental Botany**, Oxford,, v. 66, n. 4, p. 1123–1132, 2015.

SOARES-FILHO, B.; RAJÃO, R.; MERRY, F.; RODRIGUES, H.; DAVIS, J.; LIMA, L.; MACEDO, M.; COE, M.; CARNEIRO, A.; SANTIAGO, L. Brazil's market for trading forest certificates. **PLoS One**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. e0152311, 2016.

SOKA, G.; RITCHIE, M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. **Open Journal of Ecology**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 11, 2014.

SOKA, G.; RITCHIE, M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. **Open Journal of Ecology**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 11, 2014.

SOLTANGHEISI, A.; SANTOS, V. R. Dos; FRANCO, H. C. J.; KOLLN, O.; VITTI, A. C.; DIAS, C. T. dos S.; HERRERA, W. F. B.; RODRIGUES, M.; SOARES, T. de M.; WITHERS, P. J. A. Phosphate Sources and Filter Cake Amendment Affecting Sugarcane Yield and Soil Phosphorus Fractions. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 43, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TANVEER, M. Role of 24-epibrassinolide in inducing thermo-tolerance in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, p. 1–11, 2019.

TERAKADO, J.; FUJIHARA, S.; GOTO, S.; KURATANI, R.; SUZUKI, Y.; YOSHIDA, S.; YONEYAMA, T. Systemic effect of a brassinosteroid on root nodule formation in soybean as revealed by the application of brassinolide and brassinazole. **Soil Science & Plant Nutrition**, Tokyo, v. 51, n. 3, p. 389–395, 2005.

TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; BEFORT, B. L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 108, n. 50, p. 20260–20264, 2011.

UBEDA-TOMÁS, S.; BEEMSTER, G. T. S.; BENNETT, M. J. Hormonal regulation of root growth: integrating local activities into global behaviour. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 6, p. 326–331, 2012.

VARDHINI, B. V. Brassinosteroids are potential ameliorators of heavy metal stresses in plants. In: **Plant Metal Interaction**, London, p. 209–237, 2016a.

VARDHINI, B. V. Enhancement of vegetables and fruits growth and yield by application of brassinosteroids under abiotic stresses. In AZOOZ, M. M.; AHMAD, P. (ed.) **Plant-environment interaction: responses and approaches to mitigate stress**. London: Wiley, 2016b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119081005.ch7>. Acesso em: 23 nov. 2018.

VARDHINI, B. V.; ANURADHA, S.; RAO, S. S. R. Brassinosteroids-new class of plant hormone with potential to improve crop productivity. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 11, n. 1, p. 1, 2006.

VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A. P.; WYSS, U. R. S.; PICHÉ, Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Appl. Environ. Microbiol.**, [s. l.], v. 64, n. 12, p. 5004–5007, 1998.

WACLAWOVSKY, A. J.; SATO, P. M.; LEMBKE, C. G.; MOORE, P. H.; SOUZA, G. M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 263–276, 2010.

WANG, X.; SHEN, J.; LIAO, H. Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops?. **Plant Science**, Limerick, v.179, n.4, p.302-306, 2010.

WEI, Z.; LI, J. Brassinosteroids regulate root growth, development, and symbiosis. **Molecular Plant**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 86–100, 2016.

YANG, H.; ZHANG, Q.; DAI, Y.; LIU, Q.; TANG, J.; BIAN, X.; CHEN, X. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth depend on root system: a meta-analysis. **Plant and Soil**, The Hague, v. 389, n. 1–2, p. 361–374, 2015.

YOKOTA, T.; HIGUCHI, K.; TAKAHASHI, N.; KAMURO, Y.; WATANABE, T.; TAKATSUTO, S.; YASUTA, E.; TERAHATA, T.; NAKAYAMA, M.; ABE, H. Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications, 26-35, 1991. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 526–531, 1998.

YOSHIMITSU, Y.; TANAKA, K.; FUKUDA, W.; ASAMI, T.; YOSHIDA, S.; HAYASHI, K.; KAMIYA, Y.; JIKUMARU, Y.; SHIGETA, T.; NAKAMURA, Y. Transcription of DWARF4 plays a crucial role in auxin-regulated root elongation in addition to brassinosteroid homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. **PLoS One**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. e23851, 2011.

YUE, J.; YOU, Y.; ZHANG, L.; FU, Z.; WANG, J.; ZHANG, J.; GUY, R. D. Exogenous 24-epibrassinolide alleviates effects of salt stress on chloroplasts and photosynthesis in *Robinia pseudoacacia* L. seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 38, n. 2, p. 669–682, 2019.

ZHANG, Y. P.; ZHU, X. H.; DING, H. D.; YANG, S. J.; CHEN, Y. Y. Foliar application of 24-epibrassinolide alleviates high-temperature-induced inhibition of photosynthesis in seedlings of two melon cultivars. **Photosynthetica**, Prague, v. 51, n. 3, p. 341–349, 2013.