

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**USO DE SILÍCIO NO CONTROLE DA ESCALDADURA
DA FOLHA EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Mayara Cristina Malvas Nicolau

Bióloga

**Jaboticabal, São Paulo
2023**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**USO DE SILÍCIO NO CONTROLE DA ESCALDADURA
DA FOLHA EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Mayara Cristina Malvas Nicolau

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Priscila Lupino Gratão

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal

Jaboticabal, São Paulo
2023

N639u Nicolau, Mayara
Uso de silício no controle da escaldadura da folha em
cana-de-açúcar / Mayara Nicolau. -- Jaboticabal, 2023
74 p.

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

1. Fisiologia das plantas. 2. Estresse vegetal. 3. Metabolismo. 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: USO DE SILÍCIO NO CONTROLE DA ESCALDADURA DA FOLHA EM CANA-DE-AÇÚCAR

AUTORA: MAYARA CRISTINA MALVAS NICOLAU

ORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente

Pesquisador Dr. RICARDO JARDIM DE PAULA (Participação Virtual) **gov.br**
ADAMA Brasil / Londrina/PR

RICARDO JARDIM DE PAULA
Data: 04/09/2023 14:56:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. GILMAR DA SILVEIRA DE SOUSA JÚNIOR (Participação Virtual)
Instituto Municipal de Ensino Superior de Bebedouro / Bebedouro/SP

Documento assinado digitalmente
GILMAR DA SILVEIRA SOUSA JÚNIOR
Data: 04/09/2023 17:14:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisador Dr. JUAN RICARDO ROCHA (Participação Virtual) **gov.br**
CENA USP / Piracicaba/SP

Documento assinado digitalmente

JUAN RICARDO ROCHA
Data: 31/08/2023 18:56:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. JÉSSICA PACHECO DE LIMA (Participação Virtual) **gov.br**
Biotrop Soluções Biológicas / Vinhedo/SP

Documento assinado digitalmente

JÉSSICA PACHECO DE LIMA
Data: 04/09/2023 18:12:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 31 de agosto de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mayara Cristina Malvas Nicolau – nascida em 04 de Abril de 1995, na cidade de Pontal, Estado de São Paulo, filha de Mariluci Malvas Nicolau e Eziquiel Fonseca Nicolau. Graduiu-se em Ciências Biológicas (bacharelado) pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV) no ano de 2016 e modalidade licenciatura em 2018. Foi bolsista PIBIC/REITORIA de iniciação científica na área de fisiologia animal (2014-2015) e bolsista Capes na área de fisiologia vegetal (2015-2017) onde desenvolveu projetos na área de Fisiologia Vegetal e Metabolismo oxidativo, defendendo o trabalho de conclusão de curso “Silício como atenuante do estresse salino na germinação da alface” sob orientação da Prof^a. Dr^a. Priscila Lupino Gratão. Realizou o mestrado entre 2018 e 2020, no Caunesp/UNESP sob orientação da Prof^a. Titular Lúcia Helena Sipaúba Tavares, onde desenvolveu o trabalho “Avaliação de antioxidantes no cultivo da microalga *Messastrum gracile* (Reinsch) T. S. Garcia”, ganhando em primeiro lugar na apresentação oral no “III Congresso Paulista de Ciências Biológicas- UNESP- São José do Rio Preto”. Doutorado pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP), Campus de Jaboticabal-SP, como bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) sob orientação da Prof^a. Dr^a. Priscila Lupino Gratão. Estagiou na empresa Núcleo de Pesquisas Aplicada- NPA Industria de Pesquisa e elaborou projetos para órgãos de fomento para empresa Conatus Ambiental

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar durante minha trajetória, por me abençoar nos momentos de fraqueza.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Priscila Lupino Gratão pela escuta, pela preocupação, por me acalmar e não me deixar desistir, por acreditar sempre em mim, pelos ensinamentos e crescimento que eu tive e pela amizade construída. A toda minha família, meus tios, meu avô, meus pais, minha irmã e meus primos, por acompanharem todos os meus passos e sempre me ajudarem no que fosse preciso. Obrigada por acreditarem em mim, vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

A todos os meus colegas do laboratório de Fisiologia Vegetal que já passaram ou ainda permanecem, que me ajudaram sempre que precisei, pelos ensinamentos no laboratório e amizades que ganhei. Em especial agradeço a técnica Soninha pelo auxílio durante cada protocolo, pela palavra amiga, pelo conforto do abraço, por sempre torcer por mim e pelos cuidados dentro e fora do laboratório.

Agradeço aos meus amigos de Pontal e os que tive a sorte de conhecer em Jaboticabal por toda a ajuda, por me entenderem em todos os momentos pelas palavras sempre precisas e tão calmas e acolhedoras nos momentos de desespero e tristeza. Por acreditarem em mim sempre e me mostrarem que as coisas acontecem no momento certo.

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

Ao Programa de Pós-graduação e o laboratório de fisiologia vegetal (FCAV) pelas análises de antioxidante. E a todos que contribuíram com este trabalho e minha formação, meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVO	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
3.1 Cana-de-açúcar	8
3.2 Deficiência hídrica na cana-de-açúcar	11
3.3 <i>Xanthomonas albilineans</i> e a doença escaldadura da folha	13
3.4 Silício	16
3.5 Estresse Oxidativo e o sistema de defesa antioxidante	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Ensaio experimental	20
4.2 Condições de cultivo e delineamento experimental	20
4.2.1. Primeira etapa	21
4.2.2 Segunda etapa: transplântio das mudas para vasos com solo:	24
4.3 Preparação do inóculo	24
4.4 Inoculação e deficiência hídrica	25
4.5 Monitoramento dos sintomas, Extração de DNA e quantificação da bactéria nos tecidos vegetais (TaqMan)	26
4.6 Análises Fisiológicas	27
4.7 Análises Bioquímicas	28
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	46
6.1 Análises fisiológicas	46
6.2 Antioxidantes não enzimáticos	47
6.3 Antioxidantes enzimáticos	48
7. CONCLUSÃO	51
8. REFERÊNCIAS	53

RESUMO

USO DE SILÍCIO NO CONTROLE DA ESCALDADURA DA FOLHA EM CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas no mundo, representando grande importância para a economia brasileira. Entretanto, problemas fitossanitários fazem com que sua produção esteja estagnada desde 2010. A escaldadura das folhas, doença causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* acomete os canaviais reduzindo sua produtividade, sendo seus efeitos intensificados pela deficiência hídrica. Atualmente, não existem tratamentos para o controle dessa bacteriose, tornando imprescindível o desenvolvimento de novas estratégias para a redução de seus danos. Assim o uso de silício (Si) apresenta resultados alentadores à atenuação dos efeitos ocasionados por diversos estresses. Entretanto, pouco se conhece sobre o papel do Si como indutor de resistência a escaldadura das folhas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da aplicação do Si no controle da escaldadura em cana-de-açúcar associada à deficiência hídrica. Foram utilizadas duas cultivares de cana-de-açúcar, uma suscetível (SP78-4467) e uma resistente a doença (SP80-3280), submetidas a dois estresses (*X. albilineans* e deficiência hídrica) e pré-tratadas com Si. Análises fisiológicas de massa seca e potencial hídrico foram mais expressivas na cultivar resistente pr-tratada com Si, assim como as análises bioquímicas da clorofila total, carotenoides e prolina. Já a cultivar suscetível demonstrou melhores respostas, quando tratadas com Si, na indução do sistema enzimático e no menor conteúdo de MDA. Os resultados demonstram que a aplicação exógena de Si atua na indução do sistema de defesa das plantas de cana-de-açúcar contra os efeitos do estresse ocasionado pela bactéria *X. albilineans* e pela deficiência hídrica.

Palavras-chave: sistema de defesa, cana-de-açúcar, patógeno, estresse, enzimas, antioxidantes.

ABSTRACT

USE OF SILICON TO CONTROL LEAF SCALT IN SUGARCANE

Sugarcane is one of the main crops in the world, representing great importance for the Brazilian economy. However, phytosanitary problems have caused its production to be stagnant since 2010. Leaf scald, a disease caused by the bacterium *Xanthomonas albilineans*, affects sugarcane fields, reducing productivity, and its effects are intensified by water deficit. Currently, there aren't treatments to control this bacteriosis, making it essential to develop new strategies to reduce its damage. Thus, the use of silicon (Si) presents encouraging results in attenuating the effects caused by different stresses. However, little is known about the role of Si as an inducer of leaf scald resistance. Thus, the present work aimed to evaluate the efficiency of Si application in the control of sugarcane scald associated with water deficit. Two sugarcane cultivars were used, one susceptible (SP78-4467) and one resistant to the disease (SP80-3280), subjected to two stresses (*X. albilineans* and water deficit) and Si priming. Physiological analyzes of dry mass and water potential were higher in the resistant cultivar with Si, as well as biochemical analyzes of total chlorophyll, carotenoids and proline. The susceptible cultivar, by the other hand, showed better responses when treated with Si, in relation to antioxidante enzymes responses and lowest MDA content. The findings demonstrate that the exogenous application of Si can act in the induction of the defense system of sugarcane plants against the effects of stress caused by the bacteria *X. albilineans* and water deficit.

Keywords: defense system, sugarcane, pathogen, stress, enzymes, antioxidants.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) pertencente à família das Poaceas, ocupa o terceiro lugar no mercado agrícola do Brasil, posicionando-a como uma das principais culturas do Brasil, sendo disseminada em todas as regiões do país (CONAB, 2019; Lacerda et al, 2019).

Apesar da grande produção de cana-de-açúcar no país, o rendimento da cultura encontra-se estagnado há mais de uma década, o que inclui os problemas fitossanitários. Neste contexto, a Escaldadura das folhas afeta substancialmente a cana-de-açúcar, com um grande potencial destrutivo, sobretudo em variedades suscetíveis, cujas perdas podem chegar a 100% (Saumtally e Dookun-Saumtally, 2004; FAO 2018). Esta doença é causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, reportada no Brasil pela primeira vez em 1943, no estado de São Paulo, podendo se estabelecer no xilema, floema e tecidos não vasculares, como o parênquima e sua contaminação ocorre por meio de mudas infectadas, do vento e instrumentos de corte, como facões e colheitadeiras mecanizadas, que promovem ferimentos no colmo e disseminam a doença no canavial (Birch et al., 2001; Mensi et al., 2014; Casagrande et al., 1997).

De fato, a manifestação da doença pode ocorrer de forma variada, sendo latente (assintomática), identificada apenas por métodos de alta sensibilidade; crônica e aguda. Os sintomas da forma crônica são o de estrias brancas e finas longitudinais, que se estendem por todo limbo foliar e bainha (Ricaud et al., 2012). Entretanto, se durante a fase crônica ou fase de latência, a planta for submetida a uma condição ambiental desfavorável, a doença pode evoluir para a forma aguda com sintomas mais graves e aparentes, como a perda da dominância apical, aumento da brotação das gemas basais e sintomas de queima das folhas (Rott e Davis, 2000; Root et al., 2010). Além da redução da qualidade do caldo e má formação de soqueira, as folhas apresentam áreas esbranquiçadas (clorose), com aspecto seco e grande necrose, conferindo o aspecto de planta escaldada (Rott et al., 2010; Santos e Borém, 2013).

O clima e os microrganismos fitopatogênicos estão relacionados diretamente, e os impactos dessa interação sobre os problemas fitossanitários foram pouco explorados. Assim, qualquer fator ambiental que venha contribuir

com o aumento da incidência ou severidade da doença deve ser analisado tanto no contexto atual, quanto no futuro; em que o ambiente atua sobre a planta hospedeira, sobre o patógeno e sobre a interação hospedeiro-patógeno (AGRIOS, 1997).

Um vasto número de trabalhos tem demonstrado que tanto os estresses bióticos quanto os abióticos proporcionam a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) como o ânion superóxido (O_2^-), a hidroxila ($OH^\cdot$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podendo levar ao estresse oxidativo (Liu et al., 2015). Estas ERO podem acelerar a peroxidação lipídica, afetando assim a fluidez e permeabilidade da membrana devido a alterações na composição dos lipídeos (Manquían-Cerda et al., 2016). Consequentemente, estas respostas desencadeiam os mecanismos de resposta ao estresse, capazes de prevenir a oxidação descontrolada, aos quais incluem enzimas chaves como a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), glutathione redutase (GR, EC 1.6.4.2), catalase (CAT, 1.11.1.6), glutathione peroxidase (GSH-Px, EC 1.11.1.9), ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e outras peroxidases, que agem contra o H_2O_2 (Gratão et al., 2015). Mecanismos não enzimáticos também podem operar nesta defesa, incluindo antioxidantes como o ascorbate (AsA) e a glutathione (GSH), assim como vitaminas, flavonoides, alcaloides, carotenoides e clorofilas. Assim, o complexo caminho bioquímico dentro da célula é desencadeado como uma indução do sistema antioxidante que têm o potencial de controlar cascatas descontroladas de oxidação nas células sob condições normais, ou quando estimuladas por alguma situação de estresse. Apesar de um sistema de defesa complexo, a resposta pode não ser efetiva e os sintomas e deficiências causados pelo patógeno podem acontecer (Hasan et al., 2016).

Atualmente, o plantio de cultivares resistente e de mudas saudáveis são as formas mais eficazes para manejo da doença, (Saumtally e Dookun-Saumtally, 2004; Ricaud et al., 2012). Entretanto a diversidade genética que *Xanthomonas albilineans* apresenta faz com que o patógeno consiga quebrar a resistência de algumas cultivares e com isso, limita o produtor na escolha das variedades que apresentam resistência à escaudadura em detrimento a outras, limitando o potencial de produtividade daquela área. E ainda, alterações fisiológicas na planta podem alterar os mecanismos de resistência de cultivares, podendo ocorrer a quebra da resistência da planta em função da maior pressão da

doença, modificando o controle genético, além da necessidade do preparo extensivo de áreas de viveiros para eliminar bactérias do solo e restos de cultura, e desinfecção de equipamentos e ferramentas utilizadas no seu manejo. Assim, a análise das alternativas de adaptação torna-se estratégico para a agricultura brasileira. Dessa forma, há necessidade de intensificar a investigação e o desenvolvimento de técnicas efetivas e soluções sustentáveis no controle de fitopatógenos (Zhang et al., 2020; Rott e Davis, 2000).

Poucos estudos se concentram em formas de minimizar os efeitos e sintomas dessa doença em canaviais já contaminados pela bactéria e também na maneira de atenuar os sintomas da associação entre o estresse provocado pela bactéria *X. albilineans* (biótico) com aquele da deficiência hídrica (abiótico) na cana-de-açúcar (Meng et al., 2020). Apesar das mudanças climáticas serem o maior desafio da humanidade, qualquer fator ambiental que venha contribuir com o aumento da incidência ou severidade da doença deve ser analisado no contexto atual.

A procura por estratégias de manejo que possam vir a induzir os mecanismos de respostas e reduzir os efeitos negativos nas plantas infectadas pela *X. albilineans* se tornam de suma importância reduzir os sintomas e prejuízos provocados por essa bactéria na cana-de-açúcar (Meng et al., 2020).

A suplementação das plantas com elementos minerais de forma isolada ou combinada é uma das estratégias que pode ser adotada, principalmente por estes terem uma rota conhecida no metabolismo das plantas e assim, minimizar a toxicidade gerada pelo estresse (Feng et al., 2013). O silício (Si), por exemplo, pode atenuar os efeitos provenientes de adversidades climáticas e biológicas atuando no aumento do conteúdo relativo de água, pigmentos fotossintéticos, e atividade de enzimas antioxidantes na cana-de-açúcar sob condições de deficiência hídrica. Isso é especialmente importante no caso da escaldadura, pois a fase de maior taxa de mortalidade da cultura é sua fase aguda, que pode ser intensificada em condições de deficiência hídrica. O Si também desempenha função de defesa, combinando atributos físicos e químicos, tais como a lignificação da parede celular e indução de várias proteínas de defesa (Lima Filho, 2006; Schultz, 2012; Verma et al., 2019).

Com isso, a busca por meios alternativos de controle torna-se importante, não somente para a escaldadura, mas para um grande número de doenças e pragas que acometem as culturas (Montes et al., 2015).

2. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da aplicação do Si no controle da escaldadura em cana-de-açúcar associada à deficiência hídrica, através de respostas fisiológicas e bioquímicas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp) é uma gramínea pertencente à família das Poaceas, sendo originada no sudeste da Ásia e cultivada no Brasil desde 1532 (Figueiredo, 2008). As variedades modernas de cana-de-açúcar são originadas do cruzamento de *Saccharum officinarum*, que fornece alto acúmulo de sacarose e *Saccharum spontaneum*, que proporciona melhoria do vigor e resistência a doenças (D'hont et al., 1996).

É uma planta C4, ou seja, a primeira molécula formada apresenta quatro carbonos e com essa conformação além de apresentarem a Rubisco, contam com a fosfoenolpirúvico carboxilase (PEPcase) no mesófilo foliar, aumentando a capacidade de fixar CO₂ pela sua alta afinidade. Algumas características dessa formação como, suportar temperaturas mais elevadas, ter um ponto de saturação maior, um melhor uso da água e ter uma alta taxa fotossintética, faz com que se diferencie das plantas C3 e com isso se desenvolva melhor em ambientes mais quentes e úmidos (Taiz e Zeiger, 2013; Casagrande, 1996).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e a cultura ocupa o terceiro lugar no mercado agrícola nacional, onde a agricultura responde por cerca de 26% do PIB, sendo disseminada em todas as regiões do país (CONAB, 2019; Cruz et al., 2022). Para isso, a quantidade de cana-de-açúcar produzida na safra 2020–21 totalizou 654,5 milhões de toneladas ou cerca de 35% da produção mundial (CONAB, 2021; FAO, 2021). A cultura vem ganhando espaço na produção mundial, já que é considerada uma importante fonte de energia renovável, produzindo açúcar e álcool (Teixeira et al., 2021).

Em âmbito nacional, o posto de maior produtor fica para o estado de São Paulo, que é responsável por cerca de 51% em área plantada e produção devido ao elevado desenvolvimento de pesquisas, solos com boas condições, clima e relevo da região, além da grande procura a fontes alternativas de bioenergia sustentável, como o bioetanol (CONAB, 2020; Garofalo et al., 2020). O açúcar na região paulista começa a se tornar o produto econômico mais importante por volta de 1759, o que gerou crescimento populacional e econômico local (Rodrigues e Ross, 2020). Entretanto, de acordo com a CONAB (2019) no ano

agrícola 2018/2019 houve redução na produção de 4,2% em relação à safra 2017/18, devido as mudanças climáticas que vem crescendo ao longo dos anos.

Várias propriedades biofísicas e bioquímicas das plantas afetam a produtividade da cana-de-açúcar, sendo uma delas o forte potencial de perfilhamento. A característica do perfilhamento é a ramificação das plantas gramíneas e o perfilho de uma planta de cana-de-açúcar é um componente estrutural e funcional (Shrivastava et al., 2015). A quantidade de cana usinável, que é o principal fator de produtividade, é determinada pela taxa de perfilhamento, que é crucial para a produção de cana (Zhao et al., 2017). O tamanho e diâmetro são fatores adicionais que afetam a produção (Zhao et al., 2019). Aproximadamente 70% da produção de cana-de-açúcar é determinada pela quantidade de canas usináveis, 27% pelo comprimento da cana e 3% pelo diâmetro da cana, segundo Shrivastava et al. (2015).

Nas lavouras comerciais, a cana-de-açúcar pode ser propagada vegetativamente, a partir do tolete ou rebolo, que é a parte da planta que contém as gemas, reservas de nutrientes, água e hormônios vegetais. Em condições adequadas, a gema se torna ativa e ocorre o desenvolvimento da planta, sendo imprescindível a presença de água para que ocorra a ativação de enzimas e produção de hormônios e para que haja a divisão e crescimento celular das raízes. Durante os primeiros 60 dias as reservas são fundamentais para que ocorra a brotação (Dinardo-Miranda et al., 2008; Landell et al., 2012).

A cana-de-açúcar também pode ser propagada por mudas pré-brotadas (MPB), que foram desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Este método de plantio pode ser utilizado para minimizar as falhas que ocorrem no canavial e renovar as áreas plantadas, pois possuem alta taxa de multiplicação nos viveiros e utilizam um menor volume de material no campo, assim aumentam a eficiência do canavial. Além da produção rápida, a MPB confere uniformidade e padrão de fitossanidade para o canavial (Pinto et al., 2016; De Marco et al., 2017; Braga et al., 2019; Jesus et al., 2019). Um contraponto é o fato de as MPB já não disponibilizarem das reservas de nutriente e água, assim mudas recém transplantadas pode sofrer maiores danos em relação a deficiência hídrica (Martins et al., 2015).

Para o crescimento da cultura, ocorre o desenvolvimento dos colmos e raízes e órgãos vegetativos, que são divididos em quatro fase: brotação e emergência; perfilhamento; crescimento e maturação dos colmos. Para a brotação e emergência é de suma importância o ambiente, a qualidade da muda e a época que é inserida no ambiente, já que é nesse período que ocorre o início do enraizamento e o aparecimento das primeiras folhas. No perfilhamento, as touceiras das plantas são originadas. Já no crescimento, os colmos começam a crescer e se desenvolver e acumular açúcar, sendo totalmente estimulado pela luz e umidade do ambiente. No último estágio, o de maturação, o acúmulo de sacarose nos colmos se intensifica (Gascho e Shih, 1983).

A temperatura do ar tem um impacto sobre o crescimento dos colmos, sendo a faixa ideal de crescimento entre 25 e 35°C. O crescimento do caule é lento entre 19 e 25°C e para completamente abaixo de 19°C. (Casagrande, 1991). Portanto, o crescimento do caule é limitado durante a fase de desenvolvimento vegetativo, quando há restrição hídrica, o que também diminui a produtividade da cultura (Almeida, 2006). Para limitar o crescimento dos colmos e maximizar o acúmulo de sacarose, as restrições hídricas são necessárias durante a fase de maturação (Robertson et al., 1996). Aos 220 dias após o corte, a taxa de crescimento da cana começa a diminuir devido ao aumento da competição entre plantas e fatores ambientais como água, luz, nutrientes e difusão de CO₂ (Gava et al., 2001). Devido à escassez de água neste período fenológico, o número inicial de perfilhos é reduzido diminuindo a produtividade. Segundo Barbieri (1993), a cultura da cana-de-açúcar se desenvolve gradativamente durante a fase de brotamento, aumenta até o ponto máximo, depois declina gradativamente, estabilizando o desenvolvimento da cultura, que corresponde a fase maturação da planta. Todas essas fases são influenciadas pelo clima, mas a boa umidade do solo é a mais necessária para o desenvolvimento da cultura, por isso as áreas com irrigação apresentam maior produtividade durante os períodos de seca (Magro, 2000).

A cana-de-açúcar tem um ciclo semiperene com alta produtividade que pode durar muitos anos no campo devido a rebrota da soqueira. Portanto, é típico que experimentem períodos de seca ao longo do tempo. Apesar de ser considerada uma planta tolerante a deficiência hídrica, ainda necessita de altos volumes de

água para sua máxima reprodução, com variação de 1500 a 2500 mm ao ano. Isso faz com que a produção de biomassa e seu desenvolvimento sejam mais restritos nesse período, podendo diminuir em até 60% a produtividade (Manhães et al., 2015; Marchiori et al., 2017; FAO, 2021b; Gentile et al., 2015; Robertson et al., 1999).

Programas de melhoramento de cana-de-açúcar visam produzir cultivares com características melhoradas, melhor rendimento, teor de sacarose, além de tolerância ao estresse abiótico, como a deficiência hídrica e biótico, como doenças e pragas (Brumbley et al., 2009).

A relação compensatória entre tolerância ao estresse e rendimento é um desafio no melhoramento da cana-de-açúcar para a tolerância ao estresse (Ming et al., 2006). O desenvolvimento de variedades adaptadas a diferentes climas poderia melhorar a produção da cultura em áreas com restrição severas, com isso uma cana-de-açúcar com maior eficiência no uso da água e tolerância ao frio ou ao calor são critérios de seleção para esse objetivo. Outra forma de superar esse desafio seria encontrar formas alternativas que ajudem a cultura a se tornar tolerante ao estresse e introduzi-los em germoplasma comercial.

3.2 Deficiência hídrica na cana-de-açúcar

Por restringir a produção de várias culturas agrícolas importantes, incluindo a cana-de-açúcar, a deficiência hídrica é um dos estresses abióticos que mais ameaçam a segurança alimentar e a produção de energia (Ferreira et al., 2017). Os efeitos da deficiência hídrica vêm se agravando devido as mudanças climáticas, em que as culturas ficam expostas por longos períodos ao déficit hídrico (Besharat et al., 2020).

Por se tratar de uma cultura semi-perene, a cana-de-açúcar tem o seu ciclo em todas as condições climáticas (Basnayake et al., 2012). As fases iniciais do desenvolvimento da planta são as mais estudadas em relação a deficiência hídrica já que, se exposta a esse estresse, principalmente em fases essenciais para o seu desenvolvimento, como o estabelecimento no campo e no seu crescimento (entre 84 e 135 dias após o transplante), pode ocasionar severas limitações ao desenvolvimento, e comprometer as próximas fases fenológicas (Jain et al., 2015; Ramesh, 2000). Esses fatores se agravam em MPB, já que a

planta conta com a reserva natural, que apresenta menos nutrientes e água, o que pode ocasionar falhas e mortes no campo (Martins et al., 2015).

As respostas da cultura frente a deficiência hídrica podem variar de acordo com a duração e intensidade do estresse, o genótipo e também o tecido afetado (Inman-Bamber et al., 2012). Entretanto os principais efeitos ocasionados pela falta de água, são principalmente diminuição do conteúdo de água, aumento da transpiração, diminuição do potencial hídrico, fechamento parcial dos estômatos e consequentemente a inibição da fotossíntese e enrolamento das folhas. O alongamento da folha e do caule são os processos de crescimento mais seriamente afetados na cultura (Inman-Bamber, 2004 ; Inman-Bamber et al., 2008). Além disso afeta o metabolismo bioquímico, como aumento da formação de espécies reativas de oxigênio e do estresse oxidativo e diminuição do sistema de defesa da planta. Consequentemente todos esses efeitos são refletidos no desenvolvimento e produtividade final da cultura (Verma et al., 2021; Bezerra et al., 2019).

Os modelos de mudança climática demonstram que, no futuro, a frequência e a intensidade das ondas de calor e dos períodos de seca vão aumentar e podem reduzir a produção agrícola. A deficiência hídrica pode ser definida como um desbalanço entre a disponibilidade de água no solo e a necessidade evaporativa. E a resistência a seca é a capacidade que o organismo apresenta de manter o balanço hídrico e a turgescência adequada frente condições de seca (Inman-Bamber e Smith, 2005).

Para a resistência a seca, a primeira estratégia da planta é evitar o déficit hídrico, mantendo seu potencial hídrico, sendo conseguida principalmente pelo fechamento dos estômatos por meio do ácido abscísico (ABA), apresentando uma diminuição da fotossíntese e uma expansão das raízes na busca de água. Todos esses aparatos tem o intuito de fornecer a planta subsídios para manter a sua produtividade durante períodos curtos de deficiência hídrica. Quando há persistência do estresse, outros mecanismos podem entrar em ação para minimizar os danos ocasionados pela deficiência hídrica, entre eles o acúmulo de osmoprotetores, desintoxicação das espécies reativas de oxigênio (ERO) e ajustes no metabolismo.

As respostas frente ao estresse não podem ser baseadas apenas a estratégias de evitar ou tolerar a deficiência hídrica, e sim, devem ser analisadas como um processo complexo e multifacetado. As plantas apresentam diferentes mecanismos de adaptação para enfrentar o estresse, como o mecanismo de fuga, evitar e tolerar, sendo que essas estratégias podem acontecer de forma individual ou combinadas na mesma planta (Ferreira et al., 2017).

A estratégia de fuga consiste na adaptação do ciclo da planta em relação a disponibilidade de água, como no caso de culturas desérticas que possuem ciclos mais rápidos nos períodos de chuva, fazendo com que a planta escape do período crítico de seca, ou seja, utilizam a sazonalidade como estratégia. A cana-de-açúcar por se tratar de uma cultura semi-perene, não consegue utilizar este tipo de estratégia (Tardieu 2013).

Na estratégia de evitar a deficiência hídrica, a planta faz a manutenção do seu status hídrico, no intuito de aumentar a absorção de água e reduzir a perda da mesma, seja pelo tamanho ou por fechamento estomático e redução da área foliar, como também pelo aumento do sistema radicular, na busca por água em regiões mais profundas do solo, em regiões que possuem boa absorção do solo (de Dorlodot et al., 2007; Tardieu et al., 1992). Esta estratégia é importante frente a um estresse severo, pois captura o máximo de água do solo e retem a hidratação do organismo, o que pode permitir a recuperação da planta mediante o alívio do estresse. Em contrapartida, o acúmulo de biomassa, área foliar diminui (Blum, 2005; Tardieu, 2012).

Na tolerância, as plantas conseguem tolerar e se manter na condição de estresse, com suas funções fisiológicas mesmo frente o déficit hídrico. Para isso, há um ajuste osmótico, melhoria da capacidade antioxidante e desenvolvimento para tolerar o estresse. Entretanto, essa estratégia é utilizada principalmente em estresses de deficiência hídrica leves e moderados, pois a planta continua com o seu crescimento mesmo em uma situação não adequada (Osmolovskaya et al., 2018).

3.3 *Xanthomonas albilineans* e a doença escaldadura da folha

A escaldadura da folha é uma doença causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, reportada no Brasil pela primeira vez em 1943, no estado de São

Paulo (Casagrande et al., 1997). Sua contaminação ocorre por meio de mudas infectadas, do vento e instrumentos de corte, como facões e colheitadeiras mecanizadas, que promovem ferimentos no colmo e disseminam a doença no canavial (Birch et al., 2001).

A manifestação da doença pode ocorrer de forma variada, sendo latente, crônica e aguda. Na fase crônica, a planta apresenta estrias brancas longitudinais na bainha e no limbo foliar, mas esses sintomas podem desaparecer fornecendo um resultado equivocado a respeito daquele canavial. Na fase de latência plantas toleram a presença da bactéria por várias semanas sem apresentar nenhum sintoma, tendo grande importância, pois possibilita a dispersão da bactéria para plantas e áreas anteriormente não contaminadas, já que o produtor acredita que o canavial está saudável. Entretanto, se durante a fase crônica ou fase de latência, a planta for submetida a uma condição de deficiência hídrica, a doença pode evoluir para a forma aguda com sintomas mais graves e aparentes, como a perda da dominância apical e aumento da brotação das gemas basais (Rott e Davis, 2000; Birch, 2001; Root et al., 2010). Além disso, há redução da qualidade do suco e má formação de soqueira, as folhas apresentam áreas esbranquiçadas, com aspecto seco e grande necrose, conferindo o aspecto de planta escaldada (Santos & Borém, 2013).

A bactéria *X. albilineans* tem grandes quantidades de enzimas capazes de degradar a parede celular da planta, com isso a mesma consegue se estabelecer no xilema, floema e tecidos não vasculares, como o parênquima (Mensi et al., 2014). Dentro de seu hospedeiro, a bactéria produz um composto chamado albicidina que é exclusivo de *X. albilineans*, considerado antibiótico e fitotoxina já que inibe a replicação do DNA procariótico. A albicidina impede que o cloroplasto se diferencie, por inibir suas DNA girases, o que gera o principal sintoma da doença - estrias brancas nas folhas da planta infectada. Além disso, a albicidina é capaz de inibir o crescimento de outras bactérias gram-negativas e positivas, conferindo à *X. albilineans* uma vantagem competitiva durante a colonização da cana-de-açúcar (Hashimi et al., 2007; Pieretti et al., 2015).

Em contrapartida, as plantas apresentam mecanismos que dificultam que o patógeno se instale e assim diminui as chances da doença se instalar. A interação entre planta e patógeno pode acontecer de maneira incompatível ou

compatível. Na incompatível o patógeno é intermediado pelo sitio de infecção, ocasionando uma explosão oxidativa e gerando respostas para uma morte celular, a resposta de hipersensibilidade (HR). Já na interação compatível, o patógeno é capaz de inativar as defesas do organismo e invadir o tecido vegetal, desenvolvendo os sintomas (Mittler, 2002).

O mecanismo de resistência a doença foi apresentado por H.H. Flor em 1946, na hipótese chamada “gene por gene”, em que cada gene de resistência de um hospedeiro tem um gene correspondente no patógeno, criando resistência. A resistência pode ser dividida em etapas, a primeira irá começar no encontro entre o elicitor do patógeno, também chamado de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que são reconhecidos pelo receptor de reconhecimento de padrões (PRRs) da planta, ocasionando a imunidade desencadeada por PAMPs, os (PTI), que pode frear a colonização do patógeno. Após a elicitação de PAMP, a resposta da planta é uma explosão oxidativa gerada por NADPH oxidase e a superprodução de ERO. Em seguida os patógenos que conseguem passar pela primeira fase implantam efetores que irão interferir com PTI, originando a suscetibilidade desencadeada por efetor (ETS). Em seguida, na terceira etapa, um efetor específico é reconhecido por uma proteína, gerando a imunidade desencadeada por efetor (ETI), que é uma resposta aumentada e acelerada de PTI, provocando uma resistência a doença e podendo promover uma resposta incompatível, que é uma resposta de hipersensibilidade (HR) e consequentemente a morte celular programada freando a infecção ou gerar uma resposta compatível (Apel e Hirt, 2004; Hakmaoui et al., 2012),.

A resistência induzida (IR) é o “estado de capacidade defensiva aumentada” (Van Loon et al., 1998) e permanece inativa, até que é acionada por patógenos ou tratamento prévio, ativando a defesa sistêmica do organismo, sendo dividida em resistência sistêmica adquirida (SAR) e resistência sistêmica induzida (ISR), que variam de acordo com a natureza do elicitor e a as vias regulatórias desencadeadas. A SAR ocorre por meio de um estímulo externo, sendo uma característica da planta que eleva sua defesa inerente ou imunidade inata de forma duradoura e ampla, que pode fornecer as partes não infectadas das plantas proteção em novas infecções, podendo ser induzido por

elicitores/indutores. Já a ISR ocorre por bactérias promotoras de crescimento vegetal, como as rizobacterias, e não está relacionada com o acúmulo de proteínas e sim as vias que são reguladas por jasmonato e etileno (Van Loon et al., 1998).

Atualmente, o plantio de cultivares resistente e de muda sadias são as formas mais eficazes para manejo da doença, entretanto a diversidade genética que *X. albilineans* apresenta faz com que o patógeno consiga quebrar a resistência de algumas cultivares e com isso, limita o produtor na escolha das variedades para o plantio (Zhang et al., 2020; Rott e Davis, 2000).

3.4 Silício

O Silício é o segundo elemento mais abundante da superfície terrestre, ficando atrás apenas do oxigênio (O). É absorvido pelas plantas na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4), que é a forma disponível presente no solo. Ele pode ser absorvido na forma passiva, onde acompanha o fluxo de massa pelas raízes e é transportado para a parte aérea via xilema pelo fluxo de transpiração, se acumulando na parte aérea, ou pela ou pela forma ativa, pois foram encontradas proteínas transportadoras nas células radiculares de arroz, que são específicas para absorção de Si (SNYDER et al., 2007; Ma e Yamaji, 2006; Epstein, 2009; Yoshida, 1965).

O Si pode atuar de forma física, fisiológica e bioquímica, com a deposição de Si ocasionando maior resistência para a folha por meio da dupla camada de sílica, fornecendo também folhas mais eretas e conseqüentemente uma diminuição do alto sombreamento. O depósito de Si na superfície foliar também é um importante aliado em situações de deficiência hídrica, já que previne o desequilíbrio do status hídrico foliar, diminuindo a perda de água por transpiração (Yoshida, 1965), auxiliando no ajuste osmótico e na manutenção do potencial hídrico, protege contra a destruição da clorofila e mantém a fotossíntese e com isso está associado com a prevenção da senescência celular (Farooq e Dietz, 2015; Ma e Yamaji, 2015; Hattori et al., 2003; Gong et al., 2005; Amin et al., 2014).

Dentro da célula, o Si também contribui para um maior conteúdo de água, pois auxilia na absorção de água pelas raízes devido ao aumento da ação

osmorreguladora da prolina (Avila et al., 2021). Também ajuda no controle de espécies reativas, visto que diminui os danos ocasionados na fase fotoquímica da fotossíntese, preservando assim a integridade celular e dos pigmentos (Camargo et al., 2019; Teixeira et al., 2020; Teixeira et al., 2021; Inman-Bamber e Smith, 2005).

Em situações de estresse biótico, estudos demonstraram o papel do Si, que depositado abaixo da cutícula provoca maior rigidez na célula dificultando a penetração de patógenos e minimizando o ataque de pragas. Além disso, auxilia na ativação de genes que estão envolvidos na produção de fenóis e induz a produção de compostos antimicrobianos e do sistema de defesa como as peroxidases (POX, EC 1.11.1.7) superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) e glutatona e ativação da resistência sistêmica através dos hormônios vegetais, como por exemplo do etileno que se acumula na planta em respostas a doenças. (Epstein, 1994; Marschner, 1995; Adatia e Besford, 1986; Marschner, 1995; Lima Filho et al., 2003; Farooq e Dietz, 2015; Hattori et al., 2003; Gong et al., 2005; Agarie et al., 1998a).

As gramíneas, como é o caso da cana-de-açúcar, são plantas acumuladoras de Si pois possuem transportadores específicos (ZmLsi1 e ZmLsi6), para absorção e transporte de Si (Mitanl et al., 2008). Estudos demonstraram a relação do Si com o aumento da biomassa da cana-de-açúcar (Oliveira et al., 2010), produção de açúcar (Camargo et al., 2014), potencial hídrico (Camargo et al., 2019), pigmentos fotossintéticos (Verma et al., 2019) e a atenuação dos efeitos do estresse oxidativo (Bezerra et al., 2019; Verma et al., 2019).

De acordo com Camargo et al. (2017) a fertilização com Si via solo, na fase de perfilhamento, proporcionou maior rendimento de sacarose, diâmetro do caule e acúmulo de biomassa em condições de moderado déficit hídrico (55% da capacidade de retenção de água), mesmo para cultivares sensíveis à seca.

Dessa forma, acredita-se que a nutrição com Si seja capaz de promover uma fortificação em plantas de cana-de-açúcar, conferindo resistência às condições de déficit hídrico, sobretudo na fase inicial de desenvolvimento da cultura, considerada a de maior sensibilidade à seca, sobretudo para MPB. Em MPB o fornecimento de Si pode ser realizado via fertirrigação ou por pulverização foliar.

3.5 Estresse Oxidativo e o sistema de defesa antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são produzidas naturalmente no metabolismo dos organismos, seja vegetal ou animal, durante processos metabólicos como a fotossíntese e a respiração. O radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($OH^{\cdot}$), são produtos da redução do oxigênio molecular e o oxigênio singlete (1O_2) é gerado a partir da excitação da clorofila com o oxigênio (Gratão et al., 2005).

O peróxido de hidrogênio tem uma meia vida considerada longa e moderadamente reativa; por ser muito pequeno consegue passar através de membranas espalhando seus danos e atuando como mensageiro do estresse. É também capaz de inativar enzimas por oxidação e faz parte da formação de $OH^{\cdot}$ (Barbosa et al., 2014).

A $OH^{\cdot}$ é a mais oxidante e ocasiona reações rápidas e sem especificidade, sendo capaz de reagir com todas as moléculas biológicas, gerando mutação no DNA, desnaturação de proteínas e causando a peroxidação lipídica e não pode ser eliminada diretamente, por isso é necessário que o sistema de defesa antioxidante regule os seus precursores que são o $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 (Barbosa et al., 2014).

As funções da ERO são dependentes da quantidade produzida e de sua acumulação no organismo, podendo regular o crescimento e desenvolvimento e quando em níveis baixos e adequados, também podem estar envolvidas em fornecer uma mensagem para o organismo frente a estresses bióticos e abióticos fazendo com que o sistema de defesa entre em ação (Mittler et al., 2004; Ahmad et al., 2010; Mittler et al., 2011; Baxter et al., 2014).

O acúmulo de ERO pode gerar o estresse oxidativo, que é o desequilíbrio entre a produção e eliminação das mesmas, principalmente em condições de estresse, em que as ERO podem ser produzidas em excesso e consequentemente ocasionar danos a proteínas, lipídeos e membrana celular). A consequência do estresse não é apenas o oxigênio singlete, mas sim a superprodução de ERO e a sobrecarga da cadeia transportadora de elétrons nas mitocôndrias e nos cloroplastos (Cruz de Carvalho, 2008; Gill e Tuteja, 2010; Miller et al., 2010).

A peroxidação lipídica é uma consequência do estresse oxidativo ocasionado por ERO. O malondialdeído (MDA) é produto desse sistema e pode ocasionar mudanças na membrana celular e na atividade enzimática, podendo causar danos irreversíveis e com isso é utilizado como um marcador de estresse oxidativo e, para monitorar o MDA, são utilizadas substâncias reativas a ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Sharma et al., 2012; Hodges et al., 1999; Shulaev e Oliver, 2006).

Para combater as espécies reativas de oxigênio e consequentemente, a produção do estresse oxidativo, os organismos são munidos de um sistema de defesa antioxidante, que é qualquer composto capaz de eliminar as ERO sem gerar um radical nocivo para o sistema, ou seja, que é capaz de neutralizar os radicais livres gerados nas células e proteger as mesmas contra os danos provocados pela ERO (Noctor e Foyer, 1998).

O sistema antioxidante é composto por um maquinário enzimático e não enzimático, entre eles a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), glutathione redutase (GR, EC 1.6.4.2), catalase (CAT, 1.11.1.6), glutathione peroxidase (GSH-Px, EC 1.11.1.9), guaiacol peroxidase (GPOX, EC 1.11.1.7) prolina, carotenoides e compostos fenólicos (Gratão et al., 2005; Gratão et al., 2008).

A SOD é considerada a primeira linha de defesa frente as espécies reativas de oxigênio, dismutando dois superóxidos ($O_2^{\bullet-}$), em que um é reduzido gerando H_2O_2 e o outro é oxidado formando O_2 (Gratão et al., 2005). Com isso diminui o risco de formação de hidroxila ($OH^{\bullet}$) a partir do $O_2^{\bullet-}$ (Dinakar et al., 2012).

A APX é uma peroxidase encontrada dentro do citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos e parede celular. Tem uma grande afinidade pelo H_2O_2 , fazendo com que ele possa ser eliminado mesmo quando está em quantidades pequenas e em condições normais, sem níveis de estresse. (Caverzan 2008; Barbosa et al., 2014).

Já a glutathione peroxidase é a responsável por oxidar a glutathione (GSH) e transforma-la em glutathione oxidada (GSSG). Neste processo, ocorre a quebra do peróxido em álcool, principalmente quando o H_2O_2 se encontra em pequenas porções, já que esta enzima possui uma grande afinidade pelo peróxido de hidrogênio (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Outra enzima de grande importância no ciclo ascobato-glutationa é a glutathione redutase, que utiliza o NADPH para reduzir a glutathione oxidada (GSSG) à sua forma reduzida (GSH), removendo H_2O_2 em diferentes componentes celulares (Gratão et al., 2005). A Gr e a GSH-px são enzimas que se completam para manter em equilíbrio a relação entre GSH e GSSG no organismo (Halliwell e Gutteridge, 2007).

A prolina pode funcionar como um osmolito compatível pois apresenta baixo peso molecular, carga em pH neutro e é altamente solúvel, conseguindo equilibrar o pH citosólico, tendo ação também contra os danos provocados pelas ERO, atuando na sua eliminação, sendo assim uma importante sinalização da ocorrência de estresse (Verbruggen e Hermans, 2008; Das e Roychoudhury, 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Ensaio experimental

O trabalho foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP-Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP, em casa de vegetação (21°14'46,68"S, 48°18'6,39"O e 600 m de altitude). O clima da região é do tipo Aw, tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, de acordo com a Estação Agroclimática da UNESP, Campus de Jaboticabal. Foram utilizados dois genótipos contrastantes de cana-de-açúcar, um suscetível (SP78- 4467) a *X. albilineans* e outro com nível superior de resistência, comercializada e com genoma sequenciado (SP80-3280). As plantas indexadas para doenças sistêmicas e para identidade genética por fingerprint de DNA (tecnologia INVICTA) foram cedidas pelo Centro de Cana, Instituto Agrônomo, Laboratório de Biotecnologia de Ribeirão Preto. Para evitar qualquer tipo de contaminação, as plantas foram mantidas em estufa e processo de produção das mudas a partir de toletes dessas matrizes foi realizado de maneira asséptica e com total esterilização dos utensílios de corte utilizados.

4.2 Condições de cultivo e delineamento experimental

As condições estressantes consistiram da contaminação com *X. albilineans*, deficiência hídrica e a combinação entre os estresses biótico e

abiótico. O experimento utilizou o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4x4, com sete repetições por tratamento, para cada cultivar, com e sem fornecimento de cada um dos indutores, na ausência e presença da doença e da deficiência hídrica (30% da capacidade de retenção de água no solo – CRA).

O experimento foi desenvolvido em duas etapas: o cultivo das mudas pré-brotadas (MPB), com uma muda por vaso plástico de 0,7 dm³, sendo preenchido com areia lavada, que recebeu a solução nutritiva e os indutores de resistência. A outra foi a do transplântio das mudas em vasos com amostras de um Neossolo Quartzarênico que recebeu os tratamentos com déficit hídrico. O experimento foi desenvolvido em duas etapas, visando unir a melhor estratégia de aplicação dos indutores de resistência aliado a aplicação da técnica ao produtor. Devido a isso, o pré-tratamento das mudas é um fator interessante, já que apresenta um baixo custo e disponibilidade de ser transportada ao campo já tratada. O uso de um substrato inerte nesta primeira fase foi importante para evitar qualquer problema na absorção e interferência com os indutores. O emprego dos atenuantes durante a formação destas mudas pode aumentar a resistência das mesmas no momento do transplântio para o campo.

4.2.1. Primeira etapa

Cultivo das mudas pré-brotadas (MPB) sendo preenchido com areia lavada com água até a matéria orgânica ser removida. Cada vaso recebeu a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), com alteração na fonte de ferro para Fe–EDDHMA, considerando o dobro da concentração recomendada, conforme indicação de Cavalcante et al. (2016) para cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva. Inicialmente as mudas sofreram o processo de rustificação por 30 dias, após esse período receberam a solução nutritiva por 90 dias, juntamente com os indutores de resistente (aplicação a cada 7 dias). Para evitar a salinização dos sais, a concentração da solução nutritiva durante a primeira semana de cultivo foi mantida a 25%, e 50% a partir da segunda semana. O volume de solução aplicado foi definido a partir de teste preliminar de saturação do substrato, evitando perda por lixiviação (Sousa et al., 2018). O pH da solução foi mantido em 5,8±0,2 com o uso de solução de HCl ou NaOH, ambos a 1,0 M L⁻¹.



Fig. 1: Primeira etapa do ensaio experimental. Toletes de cana-de-açúcar cultivados em vasos contendo areia lavada.

Indutores de resistência aplicados na solução nutritiva: Foi utilizado silicato de potássio estabilizado com sorbitol ($113,4 \text{ g L}^{-1}$ de Si e $18,9 \text{ g L}^{-1}$ de K_2O e pH 11,8), com aplicação na solução nutritiva, seguindo a concentração de Si amplamente utilizada nos ensaios com elemento em diferentes culturas que seria $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Barreto et al., 2017). Concentrações maiores que esta pode se polimerizar, decrescendo sua forma monomérica (H_4SiO_4) e a absorção de Si pelas plantas (Birchall, 1995). O fornecimento do Si via radicular foi contínuo durante a fase de produção de mudas sendo adicionado à solução nutritiva a cada 6 dias por 90 dias.

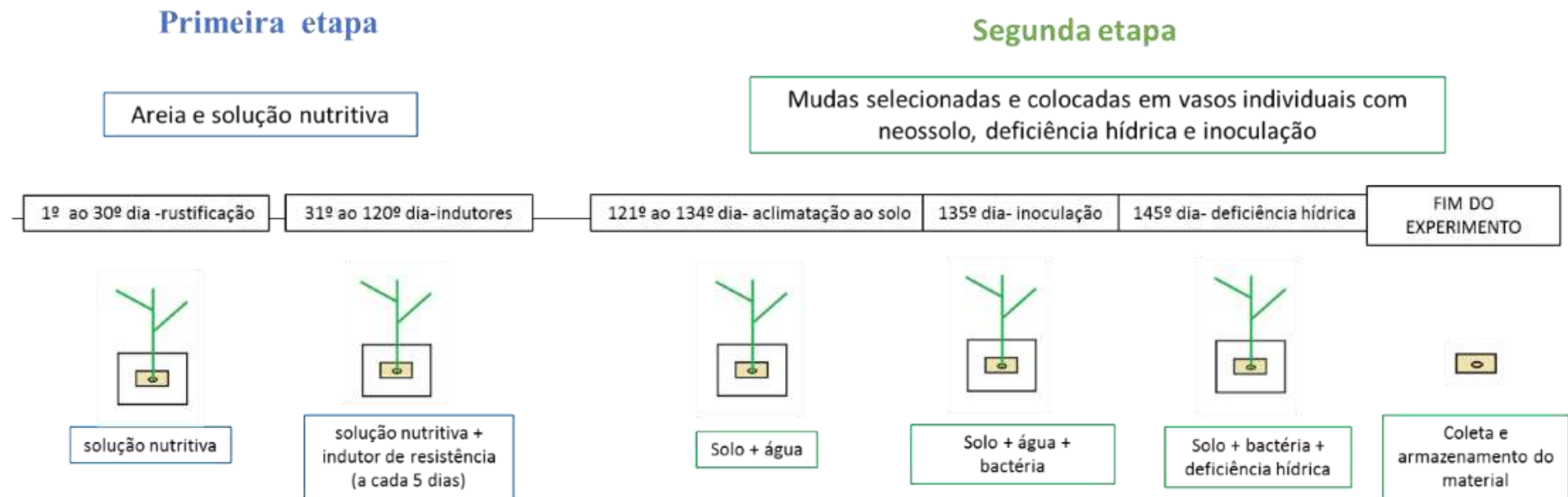


Fig. 2: Esquema que resume e demonstra a primeira e segunda etapa do ensaio experimental

4.2.2 Segunda etapa: transplântio das mudas para vasos com solo:

Após o período da rustificação (30 dias) e aplicação dos indutores (90 dias), ao qual corresponderão a 120 DAE (dias após emergência), as mudas foram transplantadas para vasos de 7 dm³ preenchidos com 5,5 dm³ de amostras de um Neossolo Quartzarênico.

Foram realizadas análises do solo utilizado para fins da avaliação da fertilidade conforme método descrito por Rajj et al. (2001) e análise granulométrica.



Fig. 3: Mudança da primeira para a segunda etapa da condição experimental. A- Muda de cana-de-açúcar na pré-lavagem das raízes. B- Muda de cana-de-açúcar após lavagem das raízes. C- Comparativo de muda de cana-de-açúcar em vasos contendo areia e após o transplante para vasos com solo.

4.3 Preparação do inóculo

Um pré-inóculo de *Xanthomonas albilineans* obtido de uma colônia de isolado Xa11 foi cultivado por 24 horas em meio líquido *Xanthomonas albilineans* seletivo (XAS) (Davis et al., 1994). O inóculo inicia com OD_{600nm} = 0,1 onde foi cultivado a 28°C e 200 rpm (fase logarítmica, OD_{600nm} ~ 1,5) durante 20h. Em seguida o patógeno foi transferido para tubos de 50mL e centrifugado por 5min a 40°C e 400 g. O sobrenadante foi descartado e o patógeno suspenso novamente em solução salina tamponada com fosfato (PBS) a 108 UFC/ mL (DO = 0,3). A bactéria foi mantida em gelo até o momento da inoculação da planta.

4.4 Inoculação e deficiência hídrica

Após o período de 135 DAE, as mudas foram inoculadas com 50 μ L de solução de *X. albilineans* (OD=0.3, 108 CFU/mL, tampão fosfato salino, PBS) pelo método de decaptação (ROTT et al., 1997; BRUMBLEY et al., 2004). Plantas falso inoculadas (50 μ L de PBS) foram utilizadas como controles. Após 10 dias da inoculação, foi imposta a deficiência hídrica.



Fig. 4: Segunda etapa da condição experimental: A e B- Processo de decaptação e inoculação das plantas de cana-de-açúcar com a bactéria *X. albilineans*. C- Plantas de cana-de-açúcar cortadas e inoculadas com a bactéria *X. albilineans*. D e E- Plantas após a decaptação e inoculação da bactéria *X. albilineans*.

A condição de déficit hídrico foi com a manutenção do nível de água a 30% da CRA e os vasos que não receberam o déficit hídrico foram mantidos a 70%. A determinação da CRA foi realizada com uso de lisímetros de pesagem. Os valores de

massa de cada lisímetro foram registrados por uma célula de carga modelo GL 50 da empresa Alfa Instrumentos Eletrônicos S.A com capacidade de 50 kg e precisão de 0,57 mm. As células de carga foram conectadas ao sistema de aquisição de dados, composto por um multiplexador de canais diferenciais (AM 416 Relay Multiplexer, Campbell Sci., Logan – USA) e um datalogger (CR10X Campbell Sci., Logan – USA). O sistema foi energizado por uma bateria de 12 V ligada a uma placa solar. Os dados armazenados foram transferidos para um módulo de memória, utilizando-se como interface o programa PC200W. Antes da instalação das mudas de cana-de-açúcar, foram determinados o armazenamento de água disponível do solo do lisímetro e os valores de umidade de capacidade de campo e de ponto de murcha permanente.

O solo foi saturado com água e depois de cessada a drenagem, se iniciou o ciclo de secagem até que a variação no armazenamento de água tornou-se desprezível. Um experimento piloto foi realizado para a determinação do tempo de manutenção da deficiência hídrica, por suspensão durante três e cinco dias, obtendo melhores respostas o tratamento de 5 dias. Assim, após do início da deficiência hídrica (148 dias DAE), as folhas foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, logo condicionadas em ultra freezer (-80°C) para as posteriores análises bioquímicas.

4.5 Monitoramento dos sintomas, Extração de DNA e quantificação da bactéria nos tecidos vegetais (TaqMan)

Para quantificar as bactérias estabelecidas após os 15 dias de infecção nos genótipos contrastantes, o DNA das folhas (Folhas, Palmito e Folhas+Palmito) infectadas foi extraído de 200mg de tecido vegetal utilizando o kit GenElutePlantGenomic DNA Miniprep Kit (Sigma). A concentração e integridade do DNA extraído foram avaliados por meio de espectrofotômetro Nanodrop e gel de agarose (0.8%) corado com brometo de etídio. O ensaio de TaqMan foi realizado usando sondas e primers específicos para *X. albilineans* desenvolvidos previamente pelo “Instituto Agrônomo, Centro de Cana” e por Garces et al., (2014); Gutierrez et al., (2016). As reações de qPCR foram realizadas utilizando o equipamento StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems) e o kit GoTaq®ProbeqPCR Master Mix (Promega) em um volume final de 20 µL. Controles

positivos para todos os experimentos de qPCR foram obtidos de folhas de plantas sintomáticas testadas previamente como positivas para *X. albilineans*. Os controles negativos foram compostos de plantas saudáveis (INVICTA). O gene alvo de *X. albilineans* (Xa 24 isolate, TARDIANI et al., 2014) foi amplificado via PCR e clonado no vetor pGEM®-T Easy Vector System (Promega). Uma diluição seriada de 10x do plasmídeo foi utilizada para gerar a curva padrão (107 to 101 cópias/reação) para quantificar o número de cópias do gene alvo em cada reação de qPCR.

Para a curva padrão cada diluição seriada foi gerada em triplicata e para as amostras alvo duplicata técnica. A média e o erro padrão do Ct (the cycle thres hold) obtido para as repetições técnicas foram calculados e utilizados para obter o número de cópias do gene alvo por reação. E como resultado foi comprovado que a inoculação foi realizada de forma efetiva, em que aproximadamente 10^9 cópias do gene da bactéria por grama de tecido da planta foram encontradas, quantidade similar encontrada no controle positivo padrão (planta inoculada de forma controlada e com sintomas visíveis usadas no IAC).



Fig. 5: Segunda etapa da condição experimental. Folhas de cana-de-açúcar com sintomas de escaldadura da folha

4.6 Análises Fisiológicas

Massa seca: As plantas foram coletadas e embaladas em sacos de papel que foram colocados em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C para secagem até peso constante (72 h). Em seguida, anotou-se o peso final em balança de precisão e

os valores foram expressos em g por planta, sendo utilizada a média de cada planta para posterior análise.

Potencial hídrico foliar: O potencial da água na folha foi avaliado como um indicador do status hídrico na planta e foi será medido imediatamente após a coleta das folhas com uma câmara de pressão (Scholander et al., 1965).

Quantificação de Si: O teor de Si foi obtido pela extração do elemento de acordo com a metodologia descrita por Kraska e Breitenbeck (2010) e a leitura realizada por espectrofotômetro a 410 nm conforme indicado por Korndörfer et al. (2004).

4.7 Análises Bioquímicas

Teores de clorofilas e carotenoides: Os teores de clorofila e carotenoides foram quantificados a partir de discos das folhas colocados em acetona 80%. As leituras foram realizadas nos seguintes comprimentos de onda: Clorofila α em 663 nm; Clorofila β em 647 nm e Carotenoides (caroteno [c]+ xantofilas [x]) em 470 nm em triplicatas (Lichtenthaler, 1987).

Eficiência quântica do FSII (Fv/Fm): A eficiência do fotossistema foi estimada pela medição da fluorescência da clorofila utilizando um fluorímetro de clorofila. As plantas foram deixadas no escuro durante 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. Os seguintes parâmetros foram avaliados: F0 (fluorescência mínima para excitação da clorofila) e Fm (fluorescência máxima para excitação da clorofila). Estes dois parâmetros foram usados para calcular Fv (variação na fluorescência calculada a partir de F0 e Fm), Fv/Fm (razão de fluorescência variável e fluorescência máxima), e Fv/F0 (razão de fluorescência variável e fluorescência mínima (Lichtenthaler et al., 2005).

Fenóis totais: Para determinar o teor de fenólicos totais foi utilizado 0,1g de matéria fresca, que foi pesado e imerso em etanol concentrado, sendo mantido no escuro por 3 horas. Após a extração, foi induzida por meio de Folin-Ciocalteu 2 N, uma reação colorimétrica, reagindo por 3 minutos e com carbonato de sódio 20% por 2 horas, posteriormente sendo lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 765 nm. O conteúdo fenólico foi determinado usando uma curva padrão com ácido

gálico, sendo expresso como equivalente de ácido gálico (GAE) 100 g^{-1} (Singleton e Rossi, 1965).

Prolina: Folhas frescas foram homogeneizadas em ácido sulfosalicílico a 3% e filtradas. O filtrado da mistura foi adicionado a 1 mL de ninidrina ácida e ácido acético glacial sendo colocado em água fervente por 1 h, juntamente com e tolueno (4 mL). A absorbância foi medida espectrofotometricamente a 520 nm e convertida em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco contra prolina padrão (Bates et al., 1973)

Estresse oxidativo (MDA): foi realizada por quantificar o teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como produto final do processo de peroxidação lipídica. O tecido da folha foi moído com 20% (p/v) polivinilpirrolidona (PVPP) e ácido tricloroacético a 0,1% (TCA). Depois disso, as amostras foram centrifugadas a $11.000 \times g$ por 10 min, o sobrenadante foi adicionado a uma solução de 20% TCA e ácido tiobarbitúrico (TBA) a 5% e incubados em banho quente e seco a 95°C por 30 min. As amostras foram colocadas em gelo para parar a reação por resfriamento por 10 min e centrifugado a 4°C ($11.000 \times g$) por 10 minutos. A concentração de malondialdeído equivalentes (MDA) foi calculado usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, com leituras entre 535 e 600 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol mg}^{-1}$ tecido de peso fresco (Gratão et al., 2012).

Extração e quantificação de proteínas totais: As amostras de material vegetal foram maceradas em N_2 líquido e homogeneizadas em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 1 mM EDTA, 3 mM DTT e 4% PVPP. A mistura foi centrifugada a 10.000 g por 30 min a 4°C e o sobrenadante mantido a -80°C para serem utilizadas nos ensaios enzimáticos (Azevedo et al., 1998). A quantificação das proteínas solúveis totais foi realizada conforme Bradford (1976).

Superóxido Dismutase – SOD (EC 1.15.1.1): foi conduzida em uma câmara de reação iluminada por uma lâmpada fluorescente de 15 W a 25°C . A mistura da reação foi uma solução contendo 50 μl da amostra, com 5 ml com tampão fosfato de sódio, NBT, EDTA, metionina e riboflavina. A reação foi alocada dentro da caixa, evitando a incidência de qualquer luz exterior, em seguida foi acendida a luz no interior da caixa por um período de 5 minutos, onde neste intervalo se formará o composto blue

formazana pela fotorreação do NBT. As leituras foram realizadas a 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977).

Ascorbato peroxidase - APX (EC 1.11.1.11): A atividade da APX foi realizada por método espectrofotométrico, com leituras a 290 nm. A mistura de reação consistiu de uma solução contendo 650 µL tampão fosfato de potássio 80 mM pH 7,0; 100 µL ascorbato 5 mM; 100 µL EDTA 1 mM; 100 µL H₂O₂ 1 mM e 50 µL de extrato, permanecendo em banho a 30°C. O H₂O₂ foi adicionado na hora da leitura, sendo realizadas após um período de 1 min em cubetas de quartzo (CAKMAK & HORST, 1991).

Glutathione redutase - GR (EC 1.6.4.2): tampão fosfato de potássio, 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid, NBT), glutathione oxidada, NADPH e 25 µL de extrato. A atividade da GR foi estimada pela redução da glutathione oxidada (Azevedo et al., 1998).

Guaiacol Peroxidase- GPOX (EC 1.11.1.): A atividade da Guaiacol Peroxidase foi determinada como descrito por Gomes-Junior et al. (2007). O meio da reação foi composto por 250 µl de tampão fosfato-citrato (fosfato de sódio dibásico 0,2 M: ácido cítrico 0,1 M) pH 5,0, 150 µl do extrato vegetal e 25 µl de guaiacol 0,5%, que foi agitada em vórtex e incubada a 30 °C durante 15 min. A reação foi parada por arrefecimento rápido num banho água com gelo, seguido pela adição de 25 µl a 2% da solução de metabisulfureto de sódio. A mistura da reação foi mantida durante 10 min e determinada em espectrofotômetro com leituras em absorbância a 450 nm.

Glutathione Peroxidase- GSH-Px (EC 1.11.1.9): A atividade de GSH-Px foi determinada pela adição de extrato vegetal a um meio de reação consistindo em 100 mM de fosfato de potássio tampão (pH 7,0), 3 mM de EDTA, 0,24 U GR/mL, 10 mM de GSH e 1 mM de azida de sódio. Esta mistura foi incubada a 37°C durante 10 min. A reação foi catalisada pela adição de 1,5 mM de NADPH e 1,5 mM de H₂O₂. A oxidação do NADPH foi monitorada por 5 min a 340 nm. Enzima atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 6,22 mM⁻¹ cm⁻¹. Os resultados do GPX foram expressos em µmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (Anderson and Davis, 2004).

FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

Salienta-se que, para as análises bioquímicas, as leituras em espectrofotômetro para cada repetição, foram realizadas em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas usando o software R (R CORE TEAM, 2018).

5. RESULTADOS

O tratamento de bactéria+deficiência hídrica da cultivar SP80-3280, teve uma maior massa seca com a presença de silício, enquanto pra aos outros tratamentos não houve diferença. Já a cultivar SP78-4467 não apresentou diferença estatística entre os tratamentos (Fig. 1).

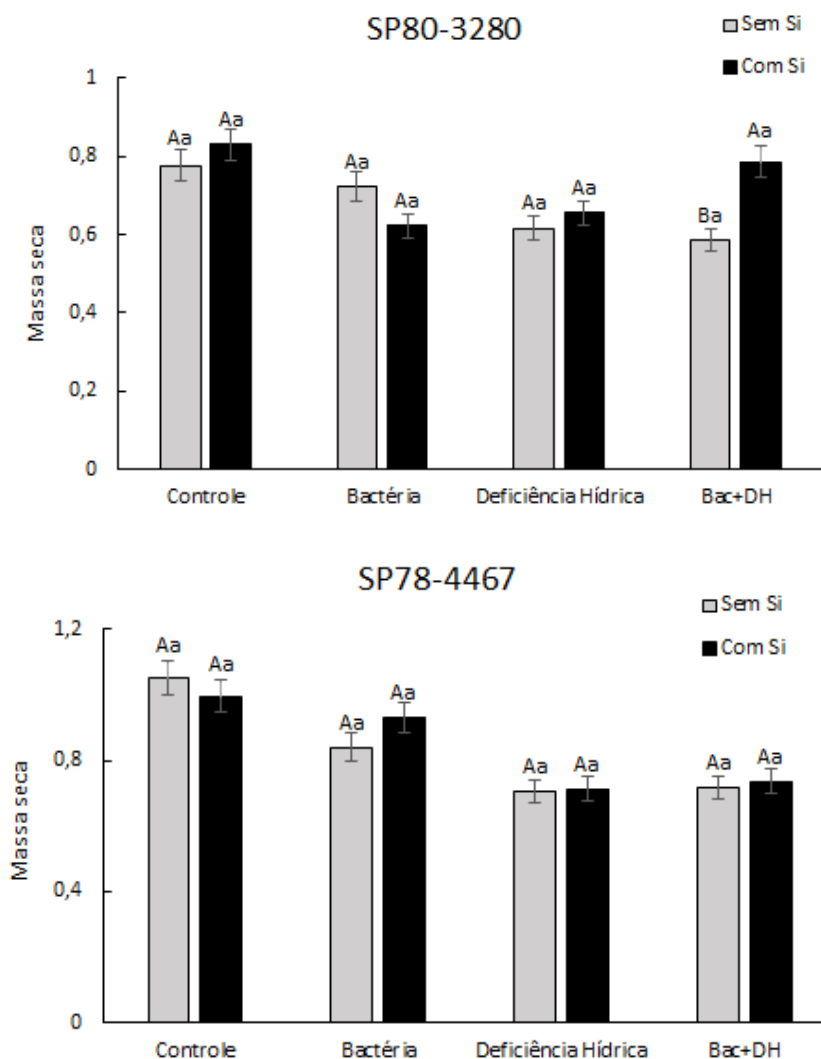


Fig. 1: Massa seca da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Nas duas cultivares, plantas pré-tratadas com Si, tiveram um aumento na eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) em todas as condições estressante em comparação aos tratamentos sem silício. Porém, o fornecimento de silício no controle diminuiu a eficiência fotoquímica do FSII na cultivar SP80-3280, o que não ocorreu na cultivar SP78-4467. Quando comparada a aplicação do silício em cada tratamento, houve diferença significativa apenas na cultivar SP80-3280, em que os tratamentos com bactéria obtiveram uma maior eficiência quântica em comparação ao grupo controle (Fig. 2).

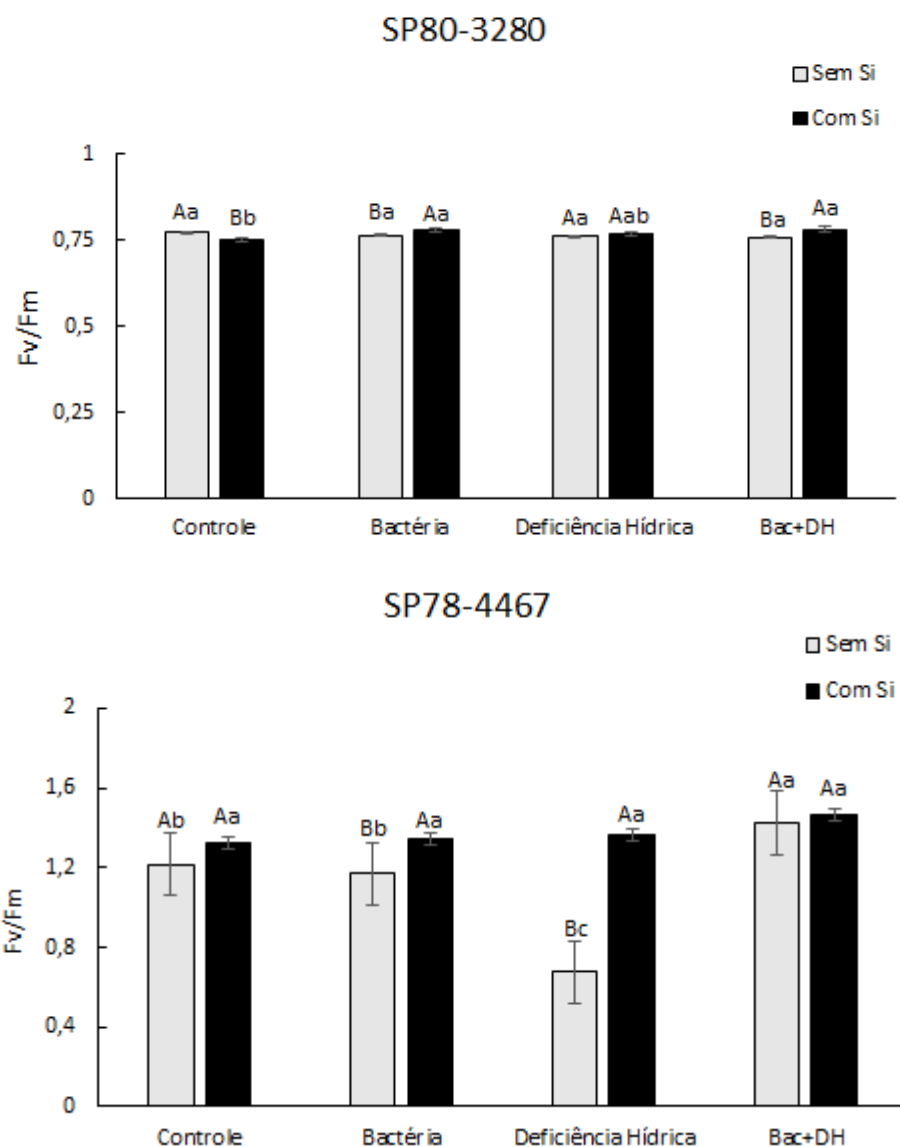


Fig. 2: Eficiência quântica do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m) da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Na cultivar SP80-3280, quando comparado a presença e ausência de silício, houve menor potencial hídrico no tratamento de bactéria nas plantas pre-tratada com Si e um maior potencial hídrico nos tratamentos de deficiência hídrica e bactéria+deficiência hídrica com fornecimento de Si. Já para a cultivar SP78-4467, a diferença ocorreu no tratamento bactéria+deficiência hídrica e bactéria, em que com o fornecimento de silício, o potencial hídrico foi mais elevado (Fig. 3).

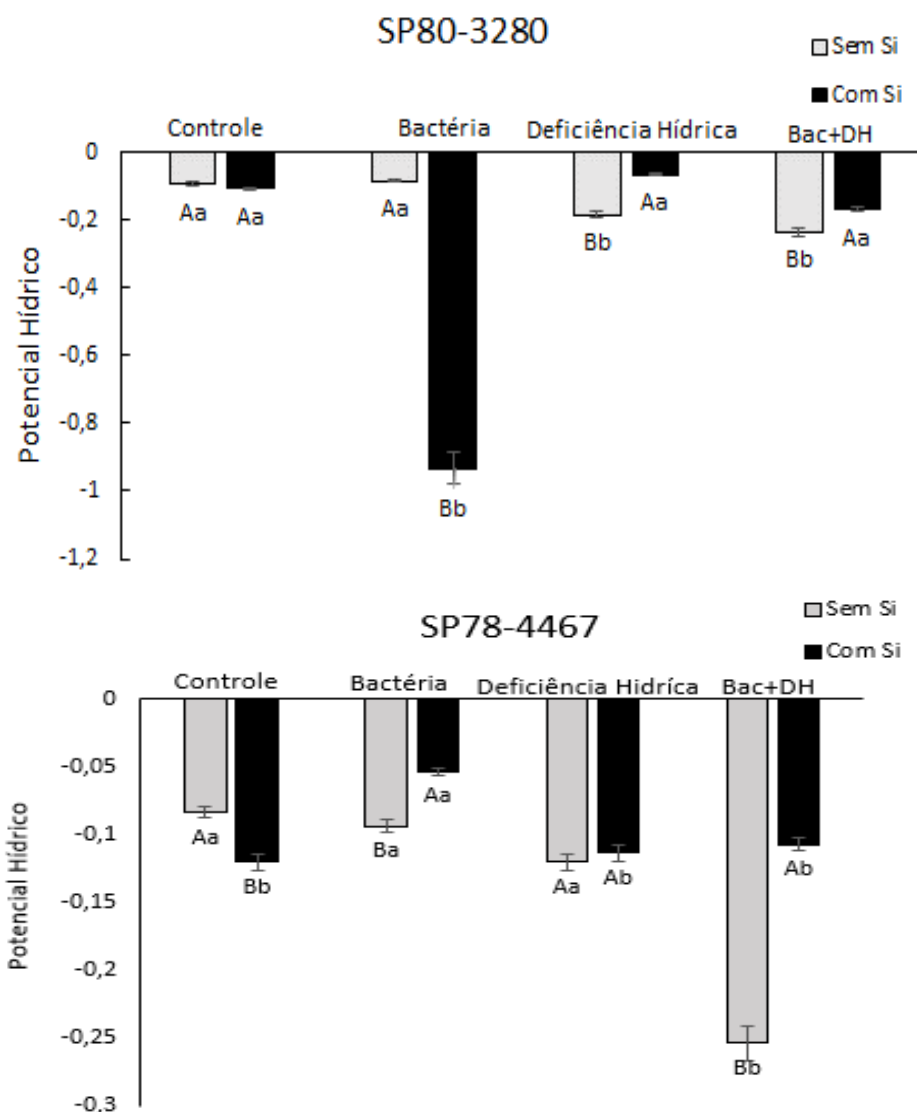


Fig. 3: Potencial Hídrico de folhas da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

A cultivar SP80-3280 apresentou maior conteúdo de Si, quando comparada ausência e presença de Si, nos tratamentos controle e bactéria+deficiência hídrica. Já a cultivar SP78-4467 apresentou maior conteúdo de Si, quando comparada ausência e presença de Si, em todos os tratamentos exceto para bactéria+deficiência hídrica, em que não houve diferença estatística (Fig. 4).

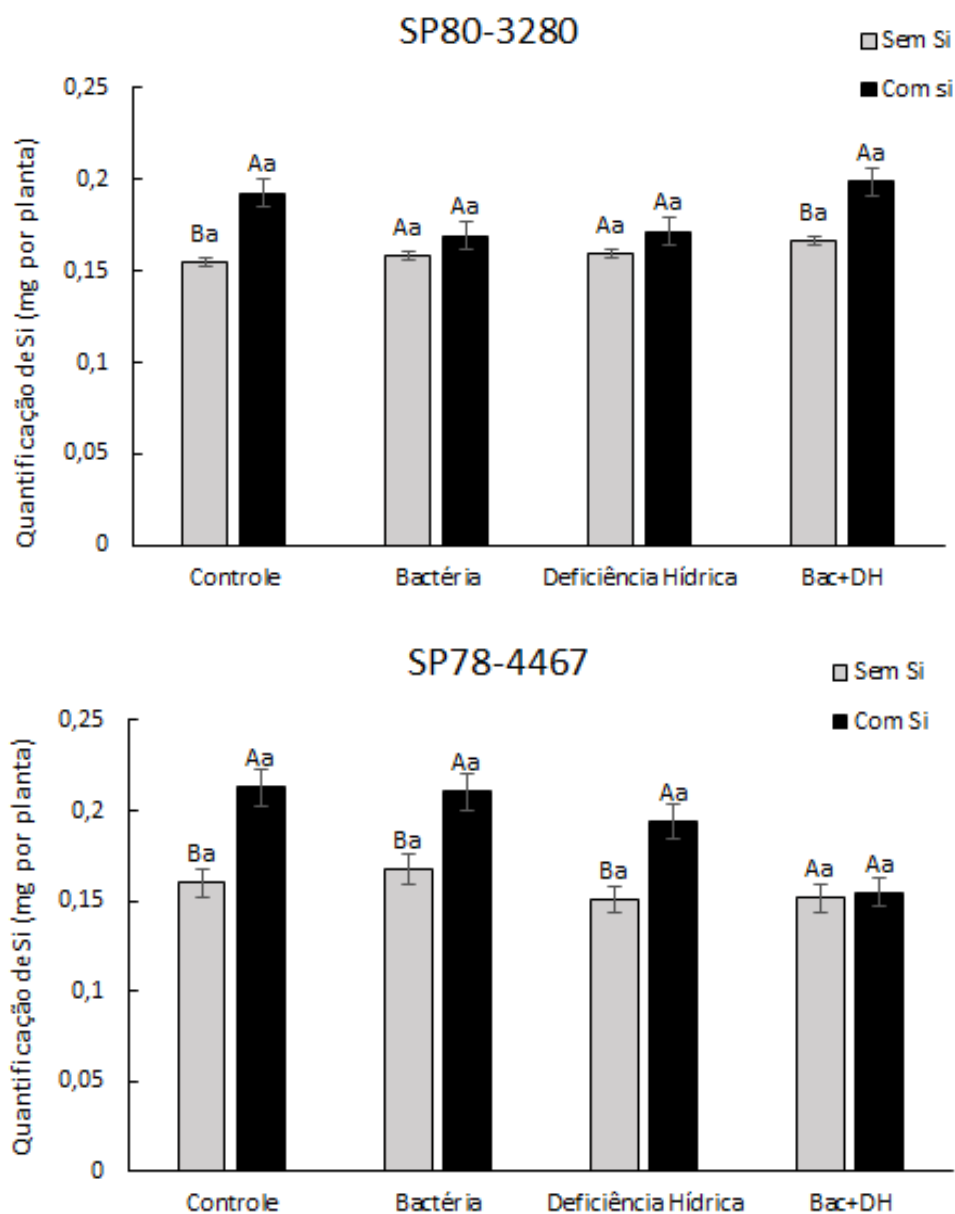


Fig. 4: Quantificação de Si da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Plantas da cultivar SP80-3280 pré-tratadas com Si na condição de estresse biótico, abiótica e na combinação dos estresses apresentaram maior teor de clorofila total. Quando comparada as plantas que receberam Si, na condição de estresse abiótico o teor de clorofila total diminuiu em comparação as plantas do grupo controle. Já a cultivar SP78-4467, na condição de estresse biótico e também na condição dos

estresses combinados, não apresentaram diferença entre a presença e ausência de Si. No estresse abiótico e controle em plantas pré-tratadas com Si, o teor de clorofila diminuiu em comparação com as plantas sem aplicação de Si. Quando comparada as plantas que receberam Si, na condição de estresse biótico e na combinação dos estresses e o teor de clorofila total foi maior em comparação ao grupo controle (Fig. 5).

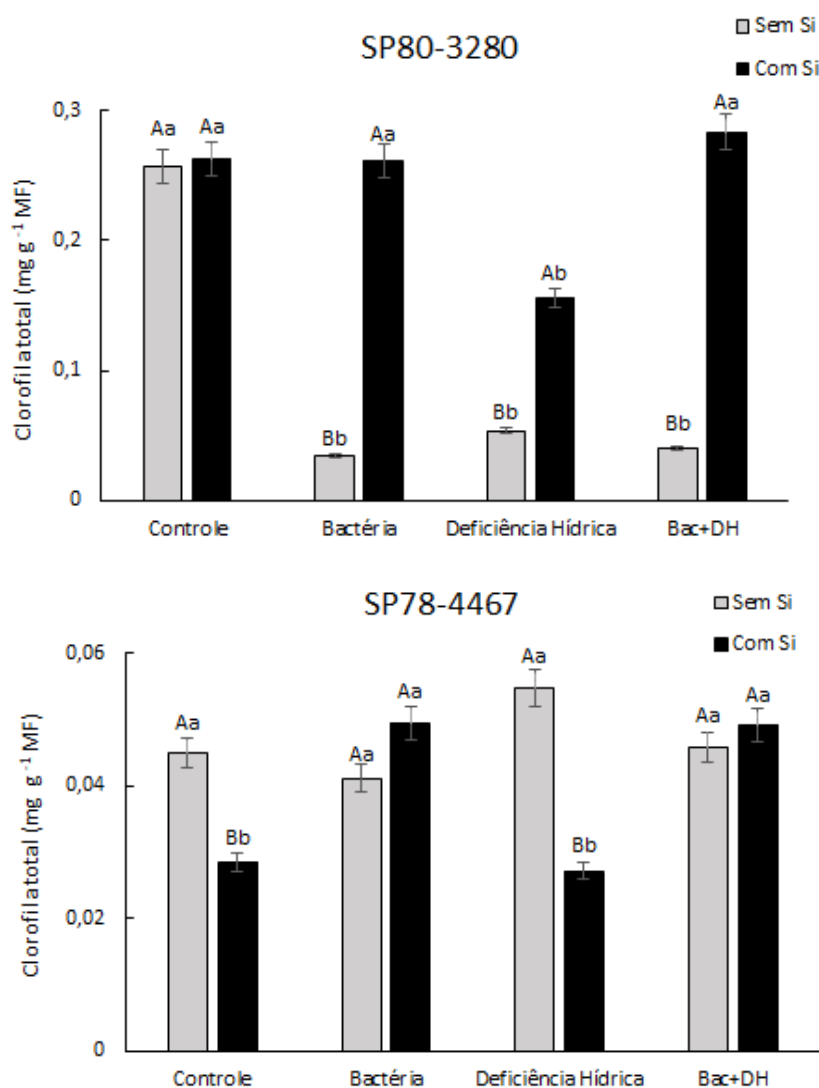


Fig. 5: Clorofila total da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

O teor de carotenoides foi maior nas plantas pré-tratadas com Si da cultivar SP80-3280, sob todos os estresses. Quando comparada as plantas que receberam Si, na condição de deficiência hídrica o teor de carotenoides diminuiu em comparação aos demais tratamentos. Já a cultivar SP78-4467, no tratamento com bactéria há um maior teor de carotenoides na presença de silício, o oposto ocorre para o controle e deficiência hídrica. Quando comparada as plantas que receberam Si, os tratamentos de bactéria e bactéria+deficiência hídrica, o teor de carotenoides foi maior em comparação aos demais tratamentos (Fig. 6).

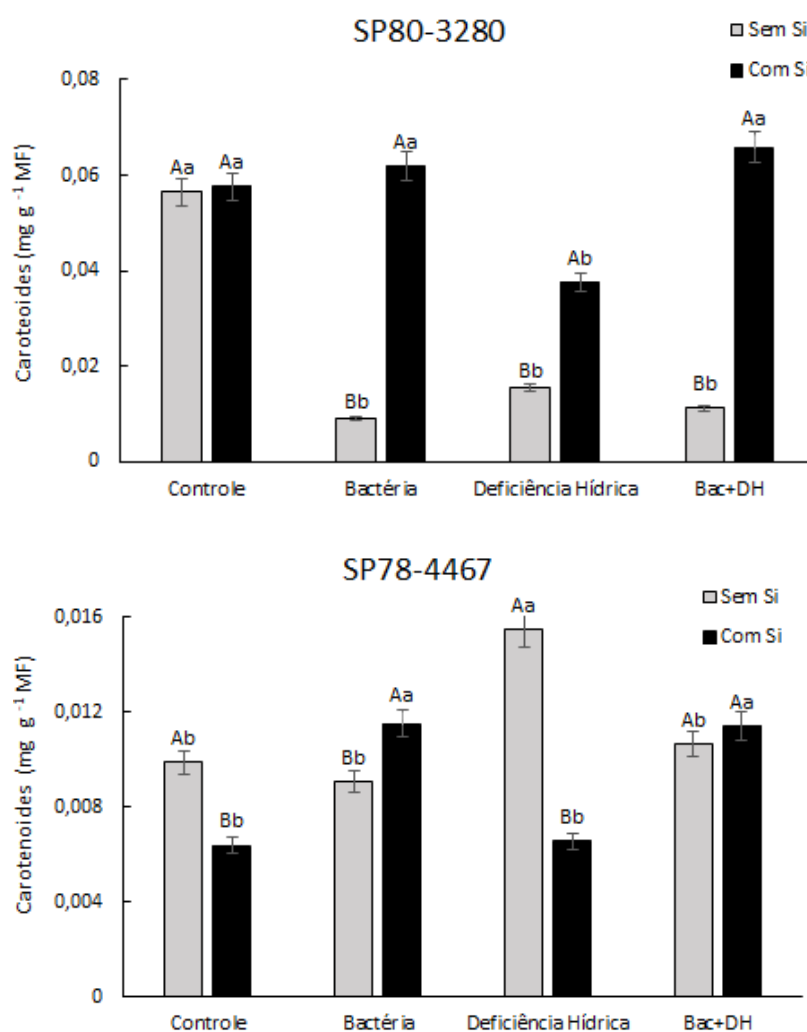


Fig. 6: Carotenoides da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Na cultivar SP80-3280 não houve diferença estatística na comparação dos tratamentos que receberam silício e os que não receberam o silício. Quando comparada a aplicação do silício em cada tratamento, obteve-se maior resposta nos tratamentos com deficiência hídrica e bactéria+deficiência hídrica. Já para a cultivar SP78-4467, houve diferença na deficiência hídrica, em que as plantas que receberam silício tiveram uma menor produção de compostos fenólicos em comparação aos que não receberam o silício. Na comparação do silício em cada tratamento, não houve diferença estatística (Fig. 7).

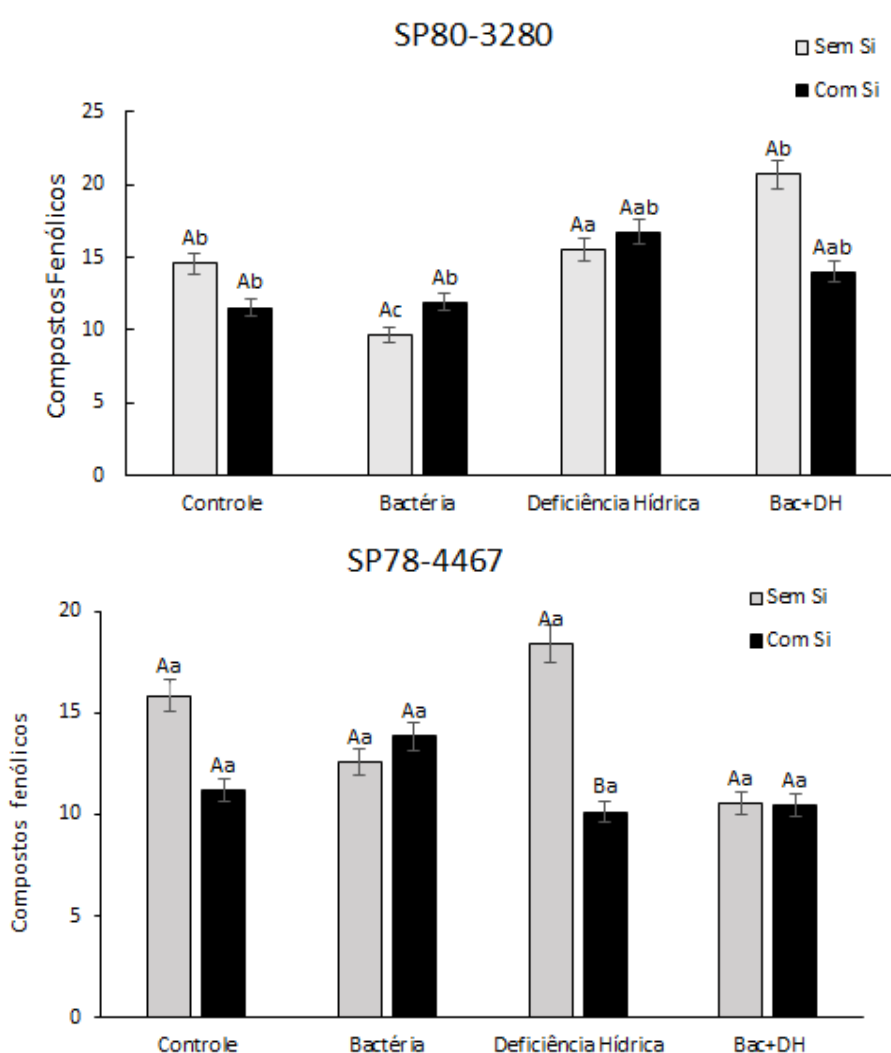


Fig. 7: Compostos fenólicos da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Na cultivar SP80-3280, em plantas pre-tratadas com Si, houve um maior teor de prolina em todos os tratamentos, exceto no tratamento de bactéria que não houve diferença estatística. Quando comparada a aplicação do silício em cada tratamento, o grupo bactéria+deficiência hídrica obteve o maior resultado em comparação aos outros tratamentos. Já para a cultivar 4467, a diferença ocorreu no tratamento bactéria+deficiência hídrica, sendo o tratamento com fornecimento de silício com um menor teor. Quando comparada a aplicação do silício em cada tratamento, se encontra um maior teor de prolina no grupo bactéria+deficiência hídrica (Fig. 8).

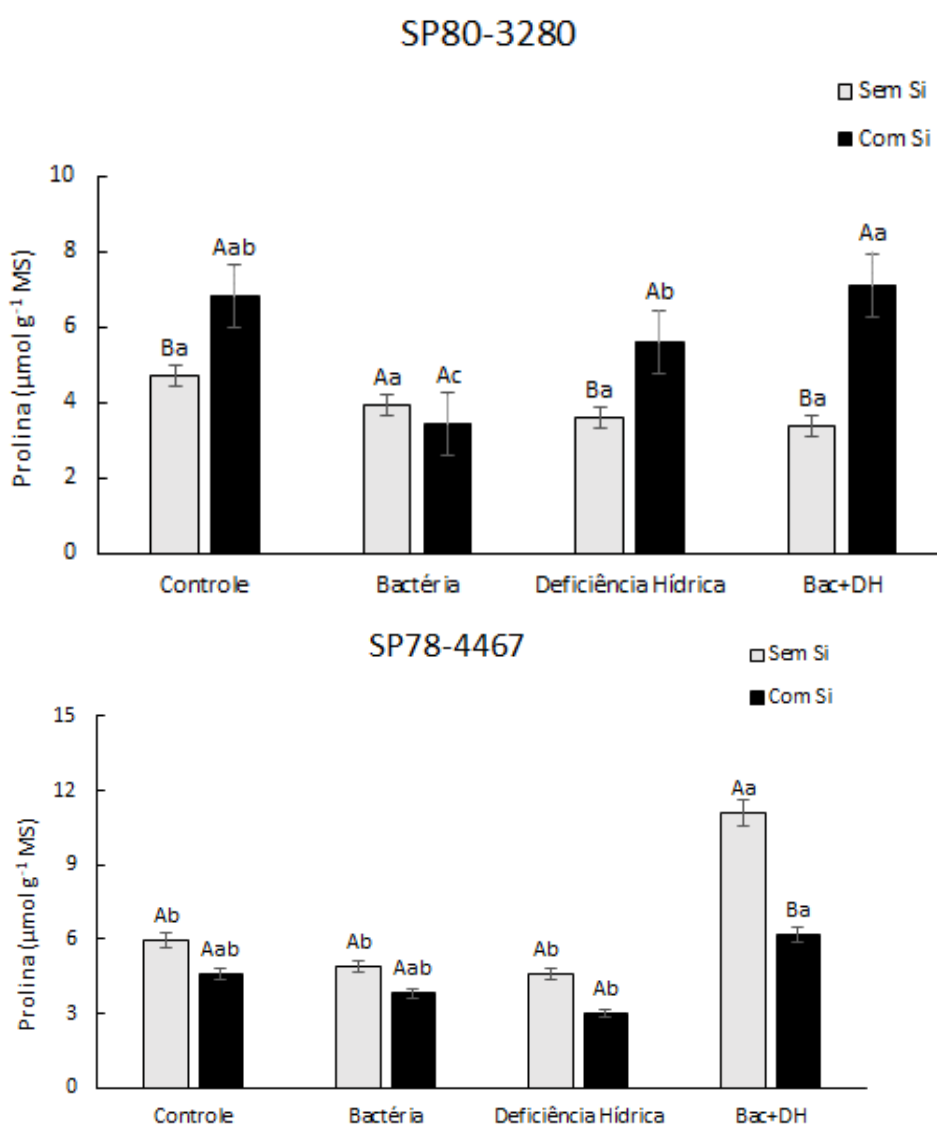


Fig. 8: Prolina da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença

de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Plantas da cultivar SP80-3280 pré-tratadas com Si na condição de estresse biótico apresentaram maior conteúdo de MDA. Já as plantas na condição de estresse abiótico e plantas com os estresses combinados não apresentaram diferença estatística entre a presença ou ausência de Si. Quando comparada as plantas que receberam Si, na condição de estresse abiótico e na combinação de estresses o conteúdo de MDA diminuiu em comparação as plantas do grupo controle. Já a cultivar SP78-4467, na condição de estresse biótico e também na condição de estresse abiótico, não apresentaram diferença entre a presença e ausência de Si. Na combinação de estresses, plantas pré-tratadas com Si o conteúdo de MDA diminuiu em comparação com as plantas sem aplicação de Si. Quando comparada as plantas que receberam Si, na condição de deficiência hídrica e na combinação de o conteúdo de MDA também diminuiu em comparação ao grupo controle (Fig. 9).

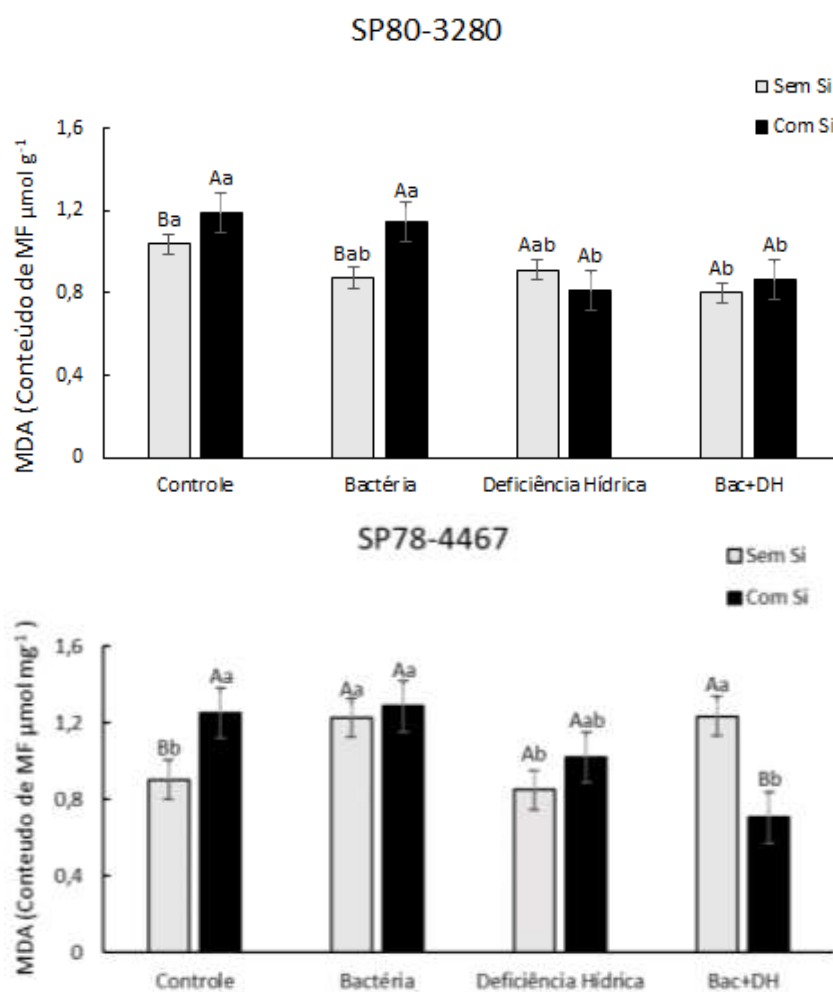


Fig. 9: MDA da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

As plantas de ambas as cultivares, para a atividade da SOD, não apresentaram diferença estatística em nenhuma condição de estresse (Fig. 10).

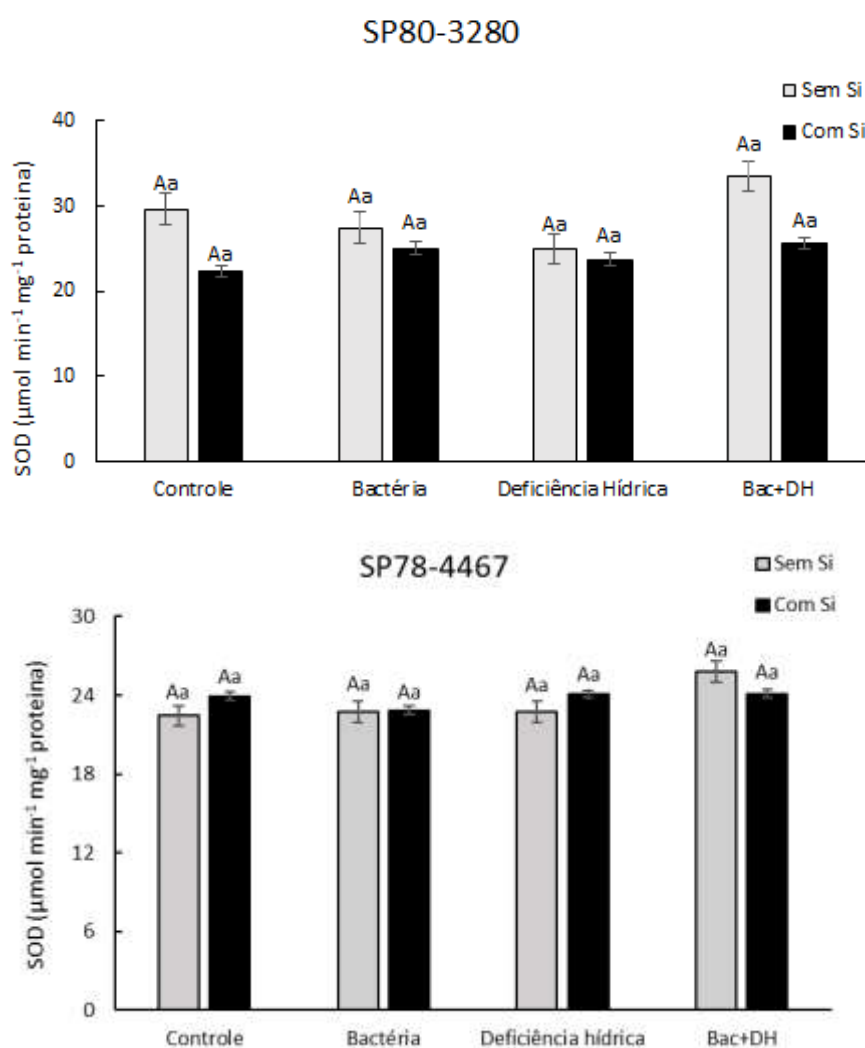


Fig. 10: SOD da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Na condição de estresse biótico, para as plantas da cultivar SP80-3280 a atividade de GSH-Px foi maior na presença de silício. As plantas pré-tratadas com Si sob estresse abiótico e na combinação de estresses, a atividade da enzima diminuiu. Quando comparada a aplicação do Si entre os estresses, a condição de deficiência hídrica e a condição com bactéria a atividade da enzimática foi maior. Para a cultivar SP78-4467, na condição de estresse biótico e também na combinação de estresses, há maior atividade de GSH-Px em plantas com aplicação de Si. Para a condição de deficiência hídrica, plantas pré-tratadas com Si demonstraram menor atividade de GSH-Px em comparação com plantas não tratadas com Si (Fig. 11).

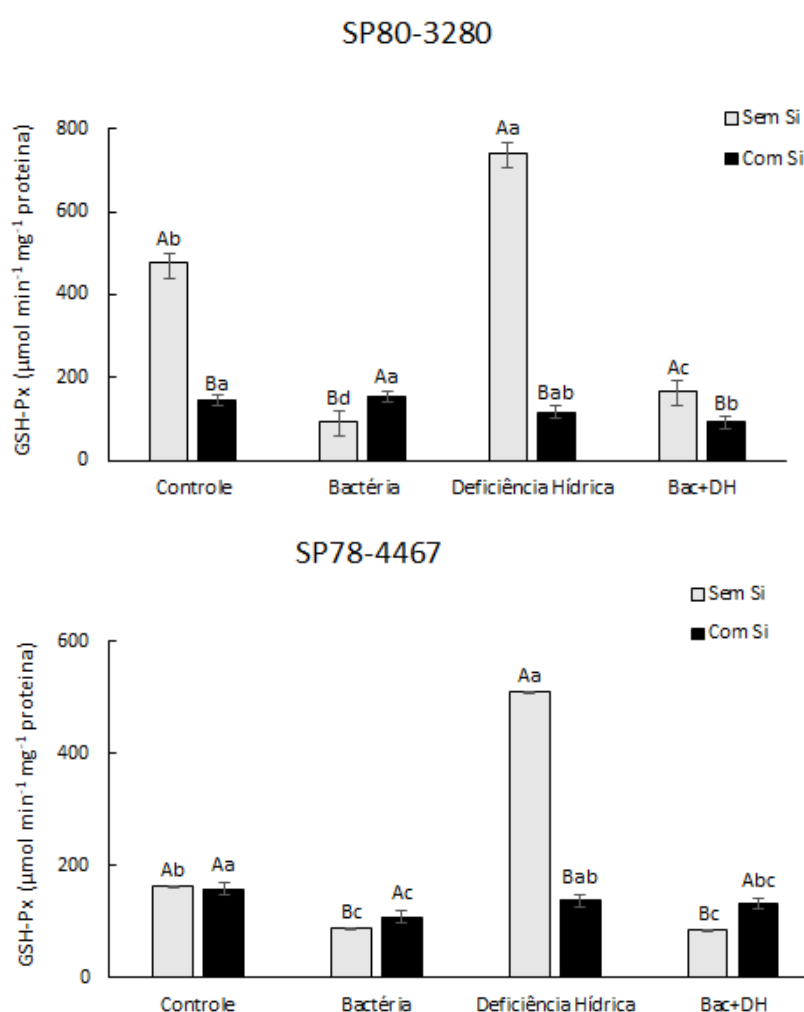


Fig. 11: GSH-Px da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

A atividade da enzima GR foi maior nas plantas pré-tratadas com Si da cultivar SP80-3280, sob estresse biótico. Entretanto, as plantas que receberam e as que não receberam Si em condição de estresse abiótico e na combinação de estresses, não apresentaram diferença estatística. A atividade de GR manteve-se igual entre as três condições de estresses para plantas que receberam Si e atividade mais elevada em comparação ao controle. Para a cultivar SP78-4467, na condição de estresse biótico e também na condição de estresse abiótico, houve maior atividade de GR em plantas com aplicação de Si. Para a combinação de estresses, não houve diferença estatística entre ausência e presença de Si. Na comparação da aplicação de Si entre os estresses, também não houve diferença estatística entre eles e também ao controle (Fig. 12).

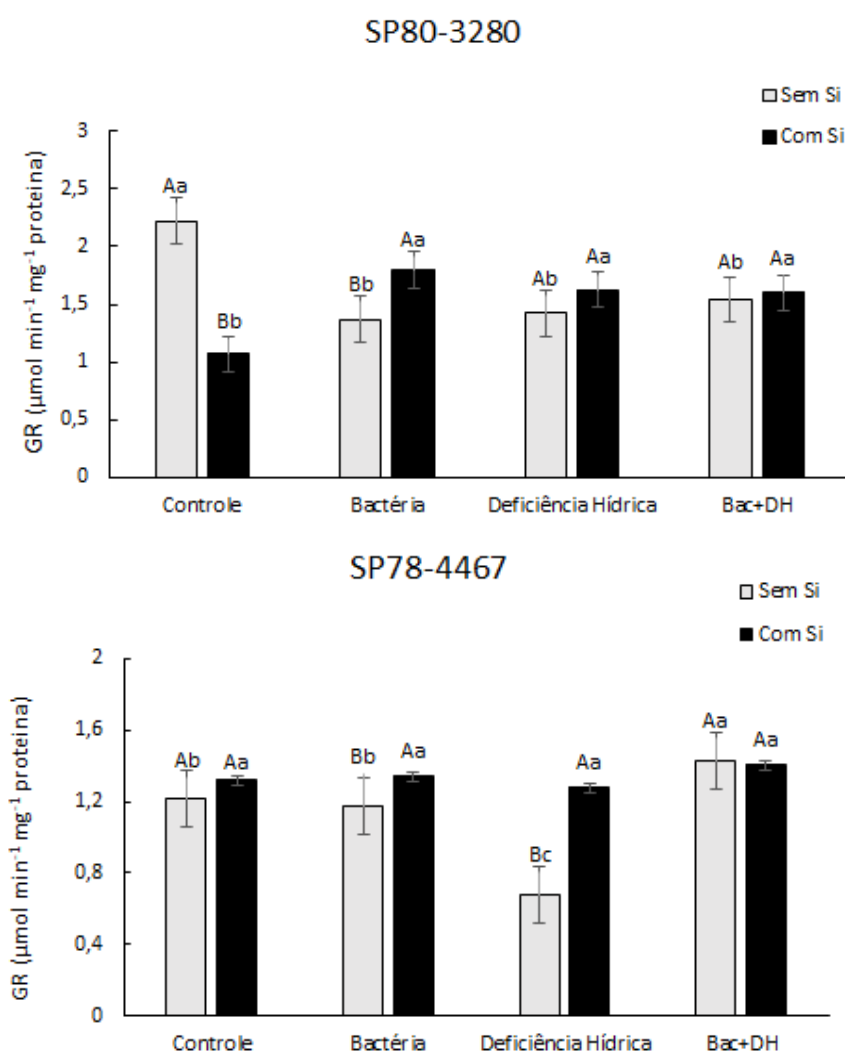


Fig. 12: GR da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Na condição de estresse biótico e na condição dos estresses combinados, a cultivar SP80-3280, apresentou maior atividade da APX na presença de Si. Entretanto, as plantas sob estresse abiótico, não apresentaram diferença estatística entre a presença e ausência de Si. Quando comparada a aplicação do Si entre os estresses, a atividade de APX é menor em todos os estresses em comparação ao controle. A atividade da APX aumentou apenas nas plantas pré-tratadas com Si da cultivar SP78-4467 na condição de estresse abiótico, assim como na comparação entre os estresses (Fig. 13).

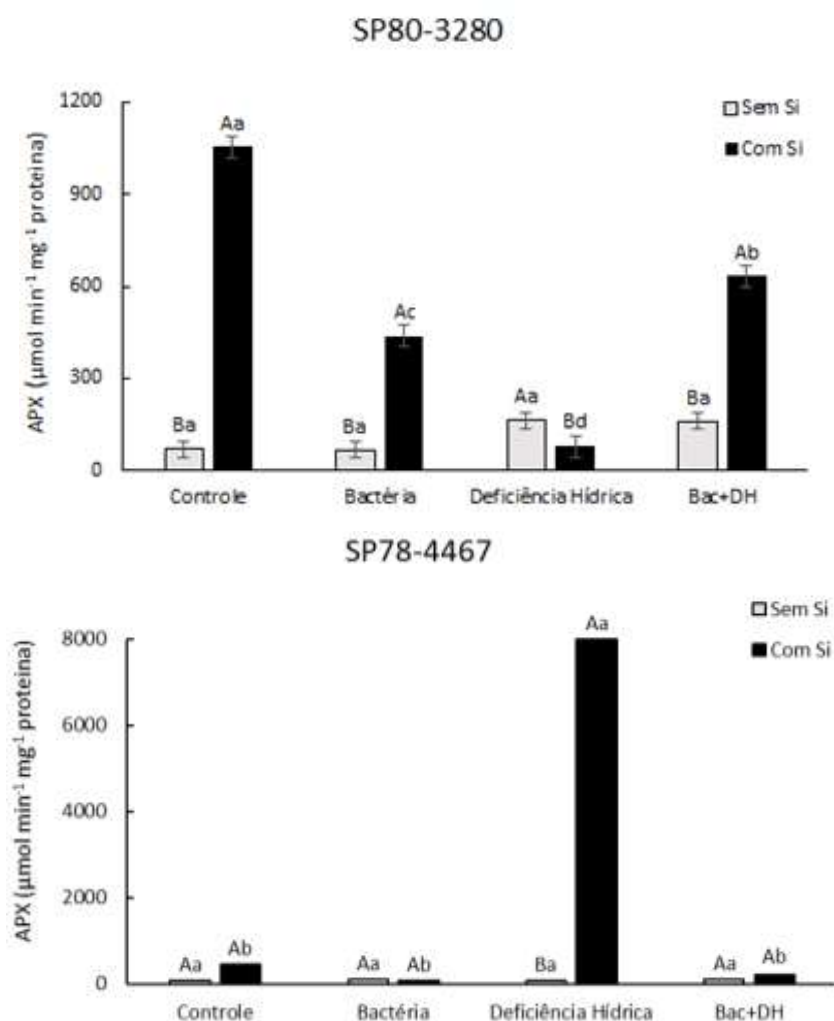


Fig. 13: APX da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Plantas da cultivar SP80-3280, apresentaram menor atividade de GPOX em todas as condições na presença de Si. Quando comparada a aplicação do Si entre os estresses, a atividade de APX foi maior na condição de deficiência hídrica. Já na cultivar SP78-4467, apenas na condição de deficiência hídrica, a atividade de APX foi menor presença de silício (Fig. 14).

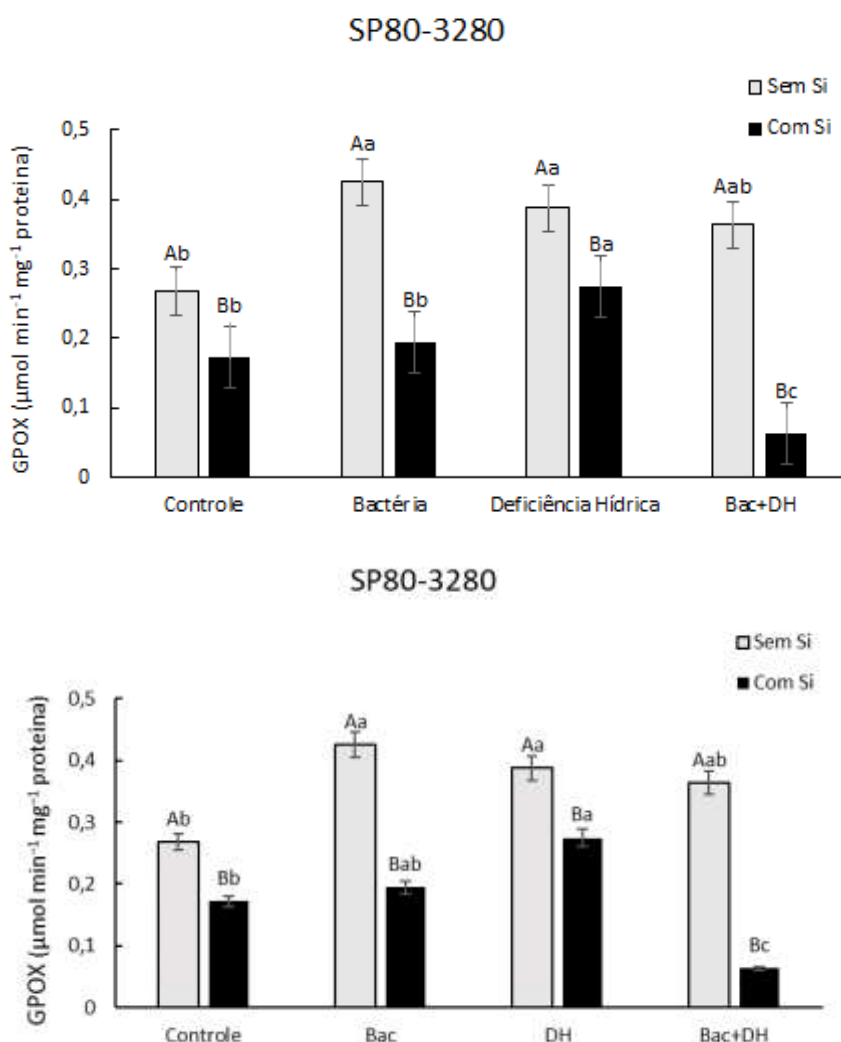


Fig. 14: GPOX da folha da cultivar SP80-3280 e SP78-4467 de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas de ausência e presença de silício entre os tratamentos. E letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na comparação de ausência e presença

de silício no mesmo tratamento. As colunas rotuladas com letras diferentes foram significativamente diferentes em $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

6. DISCUSSÃO

A aplicação exógena de Si vem sendo estudada em diversas culturas em relação a atenuação e tolerância das plantas frente a estresses bióticos e bióticos. Na cana-de-açúcar, o seu efeito benéfico já foi discutido por diversos autores quanto a sua importância para a cultura nos períodos de seca e deficiência hídrica prolongados (Bezerra et al., 2019; de Camargo et al., 2017; Teixeira et al., 2021b). Além disso, diversos estudos vêm demonstrando o papel do Si na redução dos efeitos deletérios de doenças, como a *Puccinia melanocephala* (Camargo et al., 2013, 2020), *Diatraea saccharalis* (Vilela et al., 2014) em cana-de-açúcar. A aplicação de Si em plantas de cana-de-açúcar infectada com *X. albilineans*, foi eficiente na redução do conteúdo de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio, cuja resposta foi associada aos hormônios vegetais e genes ligados a vias metabólicas (Hong et al., 2021). Apesar dos estudos que demonstram a ação do silício em situação de deficiência hídrica e estresse biótico, ainda não se tem estudos que demonstrem a ação do mesmo frente a escaldadura da folha associada com a deficiência hídrica.

6.1 Análises fisiológicas

Em relação a massa seca, apenas a cultivar SP80-3280 apresentou maior massa quando pré-tratada com Si e exposta a condição de estresses combinados. Entretanto em relação ao controle, as duas cultivares conseguiram manter a mesma massa seca na comparação estatística. Os estresses abiótico e biótico provocam uma série de desafios para o organismo vegetal, em que o mesmo tem que ativar recursos fisiológicos e bioquímicos, como fechamento estomático, acúmulo de osmólitos compatíveis e um aumento da atividade do sistema de defesa, sendo que todas essas ações gastam energia e geram impactos no sistema como um todo, refletindo na diminuição da biomassa da planta, como observado na cultivar SP78-4467, que apesar de respostas bioquímicas efetivas apresentou menor massa seca. Entretanto, o Si, como já bem conhecido, pode auxiliar na manutenção desses processos, mantendo ou aumentando a massa da planta apesar das situações de estresse, como

observado na cultivar SP80-3280 (Farooq et al., 2009; Pei et al., 2010; Ferreira et al., 2017; Kim et al., 2017; Teodoro et al., 2015).

A cultivar SP80-3280 pré-tratada com Si demonstrou maior potencial hídrico na condição de estresse abiótico e na combinação dos estresses, e a cultivar SP78-4467 na condição dos estresses combinados. Uma estratégia utilizada pelas plantas frente a deficiência hídrica para minimizar os danos no metabolismo é a manutenção de um maior status hídrico por meio de mudanças no potencial hídrico (Kim et al., 2017). O Si já demonstrou sua ação em condições de deficiência hídrica, aumentando ou mantendo o potencial hídrico, pois uma das ações do Si é formar uma camada na epiderme, gerando uma barreira física que auxilia na manutenção do volume de água na folha, principalmente em plantas acumuladoras de Si como a cana-de-açúcar (Mitani et al., 2009).

A eficiência quântica do fotossistema II (PSII) (F_v/F_m) é um parâmetro que nos dá indícios que a fotossíntese está efetiva (Stirbet e Govindjee, 2011; Verma et al., 2020). Neste trabalho, as duas cultivares pre-tratadas com Si tiveram melhores resultados frente aos dois estresses estudados, comprovando a efetividade do Si no complexo sistema fotossintético.

6.2 Antioxidantes não enzimáticos

O Si elevou o teor de clorofila e carotenóide na cultivar SP80-3280 na presença dos estresses bióticos e abióticos e na combinação dos mesmos. Para a cultivar SP78-4467, o Si foi efetivo apenas para o carotenoide no estresse biótico. Sabe-se que os carotenoides são responsáveis por filtrar a luz absorvida pelas plantas protegendo as clorofilas, além disso sequestram o oxigênio singleto produzido nos tilacoides, minimizando os danos ocasionados pelo acúmulo do 1O_2 . A deficiência hídrica gera um fechamento estomático pra minimizar a perda de água e consequentemente uma diminuição da fotossíntese, assim como degradação dos pigmentos fotossintetizantes ocasionado pelo estresse oxidativo, desta forma a manutenção do aparato fotossintético é de suma importância para o desenvolvimento da planta, sendo favorecido pelo Si principalmente na cultivar SP80-3280, como demonstrado nesse estudo e diversos outros na literatura (Gong et al., 2005; Zhang et al., 2013; Pilon et al., 2014). A *X. albilineans* tem como característica a presença da

toxicina albicidina que inibe a replicação do DNA do cloroplasto e inibe a diferenciação do cloroplasto, causando clorose nas folhas. Então a preservação e aumento da clorofila e dos carotenoides pelo Si, que foi encontrado neste estudo, é uma função extremamente importante frente a esse estresse biótico (Hashimi et al., 2007; Pieretti et al., 2015).

A prolina teve um aumento em sua concentração apenas em plantas da cultivar SP80-3280 pré-tratadas com Si, em situações em que a deficiência hídrica esteve presente (tratamento de deficiência hídrica e bactéria+deficiência hídrica). Sabe-se que durante a deficiência hídrica, as plantas acumulam osmolitos compatíveis, como a prolina, para auxiliar no ajuste osmótico e no estado hídrico vegetal (Farooq et al., 2009; Ibrahim et al., 2020) e também tem a função de auxiliar a atividade enzimática e eliminar ERO, melhorando o sistema de defesa da planta em cana de açúcar, como demonstrado em trabalhos (Szabados e Saviouré, 2010; Molinari et al., 2007; Wahid e Close, 2007).

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários e desempenham importante papel como antioxidante não enzimático, auxiliando no sistema de defesa da planta e na eliminação de ERO (Tsimogiannis e Oreopoulou, 2019; Das e Roychoudhury, 2014). Neste estudo, os compostos fenólicos foram mais elevados com a aplicação de Si apenas na cultivar SP78-4467 quando submetida a deficiência hídrica, dados estes corroborados por diversos trabalhos que demonstram a ação do Si no aumento dos fenóis em condição de deficiência hídrica (Ghasemi et al., 2022; Hidalgo-Santiago et al., 2021; Teixeira et al. 2022).

6.3 Antioxidantes enzimáticos

O envolvimento do Si no metabolismo oxidativo em plantas sob condições estressantes, com consequente redução da persistência da doença, já foi demonstrado em diferentes trabalhos (Debona et al., 2014; Domiciano et al., 2015; Han et al., 2016; Yang et al., 2017). Entretanto, o modo como o Si atua nas defesas antioxidantes da planta em condição de estresse por deficiência hídrica e escaldadura da cana, causada por *X. albilineans*, ainda permanece incipiente na literatura.

Plantas expostas a estresses biótico e abióticos podem ter um aumento na produção de ERO, podendo gerar o estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode ser altamente reativo no organismo, sendo capaz de provocar diversos malefícios, desde

ataques aos lipídeos, proteínas até o DNA (Barreiros, et al., 2006). Sabe-se que a peroxidação lipídica das membranas é um fator chave para indicar o estresse oxidativo no organismo, já que gera subprodutos, como o MDA, que é utilizado como indicador da peroxidação dos lipídeos (Dewir et al., 2006). Para que não ocorra o acúmulo de ERO, o organismo é constituído de um sistema de defesa que pode ser enzimático, como a SOD, APX e GR, que fazem a quebra das ERO, gerando moléculas menos danosas ao sistema. Portanto quantificar esse sistema enzimático é capaz de avaliar a condição da planta e sua capacidade de responder a condições adversas (Sakihama et al., 2002; (Long; Naidu, 2003).

Neste estudo, foi quantificado o MDA, para fins de avaliação do estresse das cultivares, sendo demonstrado que a cultivar resistente (SP80-3280), obteve menores variações de MDA, quando comparada a presença e ausência de silício. Já a cultivar susceptível (SP78-4467), foi mais influenciada pela presença de silício, apresentando um menor conteúdo de MDA frente ao estresse biótico e abiótico, podendo demonstrar o potencial de atenuar os danos ocasionados pela combinação entre a deficiência hídrica e a escaldadura da folha para essa cultivar, por auxiliar o sistema de defesa a eliminar as ERO produzidas no organismo e reduzir a superprodução das ERO e com isso o estresse oxidativo.

A SOD é a primeira linha de defesa frente as espécies reativas de oxigênio, através da dismutação do O_2^- , gerando H_2O_2 e O_2 , controlando a superprodução de H_2O_2 no cloroplasto, citosol, peroxissomos e mitocôndrias (Caverzan, 2008; Silveira et al., 2010). Por outro lado, a produção de H_2O_2 pode ser a primeira forma de sinalização de estresse nas plantas e está relacionado com a transdução de sinais para ativar diversas vias relacionadas a resistência ao estresse e, portanto, sua ativação ocorre logo nos primeiros momentos do estresse aplicado nas plantas (Choudhury et al., 2014; Peters et al., 2017; Huang et al., 2019). Mesmo em condição de estresse, não foi possível observar diferença entre os tratamentos no presente trabalho, uma hipótese para explicar esses resultados é a de que o O_2^- já não apresenta uma variação no sistema, devido a conversão para peróxido ter ocorrido nos momentos iniciais do estresse aplicado. Com a ação da SOD ocorre a produção de peróxido de hidrogênio, desta forma é necessária a ação das peroxidases para que não aja a

formação da hidroxila e uma superprodução de ERO (Sakihama et al., 2002; (Long; Naidu, 2003).

A enzima APX teve um aumento em sua atividade em plantas da cultivar SP80-3280 pré-tratadas com Si em todos os tratamentos, contrariamente ao observado para a cultivar SP78-4467. A APX é uma peroxidase que tem uma grande afinidade pelo H_2O_2 , fazendo com que ele possa ser eliminado mesmo quando está em pequenas quantidades e em condições normais, na ausência de estresse (Barbosa et al., 2014). Os resultados da APX em plantas de arroz com o uso do Si para conter *Pyricularia oryzae* foram semelhantes aos resultados encontrados para a cultivar SP78-4467, não apresentando respostas efetivas contra os efeitos do estresse biótico (Debona et al., 2014). Entretanto, a vasta literatura se equipara aos resultados de SP80-3280, em que o Si pode induzir aumento da atividade enzimática da APX sob condições estressantes (Domiciano et al., 2015; Resende et al., 2012; Zhu et al., 2004).

Por outro lado, a atividade da GSH-Px teve um aumento na presença de Si apenas no tratamento com bactéria na SP80-3280. Para a cultivar SP78-4467 houve um aumento não só nas plantas pré-tratadas com Si e inoculadas com a bactéria, como também nos dois estresses em conjunto. GSH-Px faz parte do ciclo AsA-GSH, sendo dependente de GSH para reduzir o H_2O_2 . Neste processo, ocorre a quebra do peróxido em álcool, principalmente quando o H_2O_2 se encontra em pequenas porções, já que esta enzima possui uma grande afinidade pelo peróxido de hidrogênio, sendo de suma importância para o sistema de defesa (Halliwell and Gutteridge, 2015).

Outra enzima é a glutathiona redutase, que utiliza o NADPH para reduzir a glutathiona oxidada (GSSG) à sua forma reduzida (GSH), removendo H_2O_2 em diferentes componentes celulares (Gratão et al., 2005). A GR e a GSH-Px são enzimas que se completam para manter em equilíbrio a relação entre GSH e GSSG no organismo (Halliwell and Gutteridge, 2015). Na cultivar SP80-3280 a enzima GR teve um aumento em relação ao controle nas plantas pré-tratadas com Si e inoculadas com a bactéria e na cultivar SP78-4467 aumentou nos tratamentos com os estresses biótico e abiótico e aplicação de Si. Resultados similares também foram encontrados em trigo submetidos a *Pyricularia oryzae* (Debona et al., 2014). Estes dados são contrários ao trabalho de Domiciano et al. (2015), em que a aplicação de silício em folhas de arroz infectadas por *Pyricularia oryzae* não apresentou respostas efetivas

para o controle do estresse. Estes fatos demonstram que a cultura estudada pode ser um fator importante para a ação do Si na atenuação de um estresse biótico.

GPOX teve uma maior atividade para a cultivar suscetível a bactéria (SP78-4467), principalmente para os tratamentos das plantas pré-tratadas com Si e inoculadas com a bactéria e no tratamento da associação dos dois estresses, quando há aplicação de Si. Este resultado não foi visto para a cultivar resistente (SP80-3280). A GPOX é uma peroxidase que utiliza como doador de elétrons o guaiacol, e faz a redução do peróxido de hidrogênio na planta (Asada, 1999).

O Si induziu o aumento da atividade da maioria das enzimas analisadas em resposta a doença para ambas as cultivares. Entretanto, quando há associação entre os estresses, biótico e abiótico, o Si demonstrou maior ação em relação ao sistema antioxidante enzimático para a cultivar sensível (SP78-4467). Uma hipótese para a diferença de resposta entre as cultivares é que cultivares suscetíveis possuem resposta menos eficientes quando infectadas por *X. albilineans* (Ntambo et al., 2019; Meng et al., 2020) e assim, a aplicação do Si foi importante para aumentar a atividade das enzimas e melhorar a resposta de defesa da planta. Já para cultivares resistentes, estudos mostram uma resposta de defesa mais eficiente com a ativação de diferentes vias de transdução de sinal de hormônios vegetais (auxina e etileno), do metabolismo de glutatona e da biossíntese de metabólitos secundários em plantas infectadas com *X. albilineans* (Ntambo et al., 2019; Meng et al., 2020). E possivelmente, em função destas respostas, as enzimas já apresentam uma atividade expressiva dentro do sistema, não alterando a eficácia de suas respostas mesmo com a aplicação do Si. Fato este que pode ser corroborado com os resultados de MDA encontrados nesse trabalho, em que mesmo as plantas que não receberam Si, frente ao estresse biótico, apresentaram menor conteúdo de MDA em comparação com as plantas controle, demonstrando que a cultivar por si só já é responsiva aos estresses.

7. CONCLUSÃO

A aplicação exógena de Si atua na indução do sistema de defesa das plantas de cana-de-açúcar contra os efeitos do estresse ocasionado pela bactéria *X. albilineans* e pela deficiência hídrica, sendo que para a cultivar resistente (SP80-3280) as respostas foram mais efetivas para os antioxidantes não enzimáticos e análises fisiológicas (carotenoides, prolina, potencial hídrico, f_v/f_m), refletindo no aumento da

massa seca. Já para a cultivar susceptível (SP78-4467), o Si atuou no sistema de defesa enzimático, ocasionando uma diminuição nos efeitos do estresse. Assim é possível concluir que o Si se mostra efetivo no controle da escaldadura, e do estresse ocasionado pela mesma, na cultivar susceptível de cana-de-açúcar.

8. REFERÊNCIAS

- Agarie, S., Agata, W., Kaufman, P.B., 1998. Involvement of silicon in the senescence of rice leaves. *Plant Production Science*, Tokyo, v. 1, n. 2, p.104-105. <https://doi.org/10.1626/pps.1.104>
- Agrios, G.N., 1997. *Plant Pathology*. 4a. ed. San Diego: Academic Press.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., and Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit. Rev. Biotechnol.* 30, 161–175. doi: 10.3109/07388550903524243
- Almeida, A.C.S., 2006. Desenvolvimento vegetativo e produção de cana-de-açúcar versus graus-dia e disponibilidade hídrica. TCC, Universidade Federal de Alagoas, 22p.
- Anderson, J.V., Davis, D.G., 2004. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. *Physiol. Plant.*, 120, pp. 421-433, 10.1111/j.0031-9317.2004.00249.x
- Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55 pp. 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Asada, K., 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Biol.* 50, 601–639. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>
- Avila, R.G., Magalhães, P.C., da Silva, E.M., de Souza, K.R.D., Campos, C.N., de Alvarenga, A.A., de Souza, T.C., 2021. Application of silicon to irrigated and water deficit sorghum plants increases yield via the regulation of primary, antioxidant, and osmoregulatory metabolism. *Agricultural Water Management* 255:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107004>
- Azevedo, R.A., Alas, R.M., Smith, R.J., Lea, P.J., 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiol. Plant.* 104, 280–292. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217>
- Barbieri, V. 1993. Condicionamento climático da produtividade potencial da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) um modelo matemático fisiológico de estimativa.

- Piracicaba, 142 p. Tese (Doutorado em Agronomia, Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz," Universidade de São Paulo".
- Barbosa, M.R., Silva, M.M. de A., Willadino, L., Ulisses, C., Camara, T.R., 2014. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Cienc. Rural* 44, 453–460. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>
- Barreiros, A.L.B.S., David, J.M., David, J.P., 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 113-123.
- Barreto, R.F., Schiavon Júnior, A.A., Maggio, M.A., Prado, R.M., 2017. Silicon alleviates ammonium toxicity in cauliflower and in broccoli. *Scientia Horticulturae*, v. 225, p.743–750.
- Basnayake, J., Jackson, P.A., Inman-Bamber, N.G., Lakshmanan, P., 2012. Sugarcane for water-limited environments. Genetic variation in cane yield and sugar content in response to water stress. *Journal of Experimental Botany* 63:6023–6033. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers251>
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39, 205–207.
- Baxter, A., Mittler, R., Suzuki, N., 2014. ROS as key players in plant stress signalling. *J. Exp. Bot.* 65, 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375
- benthamiana to infection with two strains of pepper mild mottle virus *J. Exp. Bot.* 10.1093/jxb/ers212
- Besharat, S., Barão, L., Cruz, C., 2020. New strategies to overcome water limitation in cultivated maize: Results from sub-surface irrigation and silicon fertilization. *Journal of Environmental Management* 263:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110398>
- Bezerra, B.K.L., Lima, G.P.P., dos Reis, A.R., Silva, M. de A., de Camargo, M.S., 2019. Physiological and biochemical impacts of silicon against water deficit in sugarcane. *Acta Physiol. Plant.* 41, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2980-0>
- Birch, R.G., 2001. *Xanthomonas albilineans* and the antipathogenesis approach to disease control. *Mol. Plant Pathol.* 2, 1–11. <https://doi.org/10.1046/j.1364->

3703.2001.00046.

- Birchall, J.D., 1995. The essentiality of silicon in biology. *Chemical Society Reviews* 24:351–357. <https://doi.org/10.1039/CS9952400351>
- Blum, A., 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Aust. J. Agric. Res.* 56, 1159–1168.
- Bradford, M.M., 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.
- Braga, N.C.C., Severiano, E.C., Santos, L.S., Neto, A.R., Rodrigues, T.M., Lima, J.D.P., 2019 Production of sugarcane seedlings pre-sprouted in comercial and alternative substrates with by-products of the sugarcane industry. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 40, n. 1, p. 33-48. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p33>.
- Brumbley, S.M., Petrasovits, L.A., Murphy, R.M., Nagel, R.J., Candy, J.M., Hermann, S.R., 2004. Establishment of a functional genomics platform for *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. *Molecular plant-microbe interactions*, v. 17, n. 2, p, 175-183.
- Brumbley, S.M., Snyman, S.J., Gnanasambandam, A., Joyce, P., Hermann, S.R., Silva, J.A.G., McQualter, R.B., Wang, M., Egan, B.T., Paterson, A.H., Albert, H.H., Moore, P.H., 2009. Sugarcane. In *Compendium of Transgenic Crop Plants* (eds C. Kole and T.C. Hall). <https://doi.org/10.1002/9781405181099.k0701>
- Cakmak, I., Horst, W.J., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.* 83, 463–468. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121>.
- Camargo, M.S., Bezerra, B.K.L., Holanda, L.A., Oliveira, A.L., Vitti, A.C., Silva, M.A., 2019. Silicon Fertilization Improves Physiological Responses in Sugarcane Cultivars Grown Under Water Deficit. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 19, 81–91. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-0012-1>.
- Camargo, M.S., Bezerra, B.K.L., Vitti, A.C., Silva, M.A., Oliveira, A.L., 2017. Silicon fertilization reduces the deleterious effects of water deficit in sugarcane. *J. soil Sci. plant Nutr.* 17, 99–111. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017005000008>
- Camargo, M.S., Coutinho, I.D., Lourenço, S.A., Soares, M.K.M., Colnago, L.A.,

- Appezzato-da-Glória, B., Cavaleiro, A.J., Amorim, L., 2020. Potential prophylactic role of silicon against brown rust (*Puccinia melanocephala*) in sugarcane. *Eur. J. Plant Pathol.* 157, 77–88. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01982-2>
- Camargo, Mô.S. de, Amorim, L., Gomes Júnior, A.R., 2013. Silicon fertilisation decreases brown rust incidence in sugarcane. *Crop Prot.* 53, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.06.006>.
- Camargo, Mô.S. de, Korndörfer, G.H., Wyler, P., 2014. Silicate fertilization of sugarcane cultivated in tropical soils. *F. Crop. Res.* 167, 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.07.009>
- Casagrande, A. A. Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 157 p.
- Casagrande, A.A., 1996. Crescimento da cana-de-açúcar. *STAB* 14:7-8.
- Casagrande, M.V., Sanguino, A., Ferezini, E., 1997. Evolução, prejuízos e métodos de controle de quatro importantes doenças da cana-de-açúcar. *Seminário de Tecnologia Agronômica*, v. 7, p. 183-190.
- Cavalcante, V.S., Prado, R.M., Vasconcelos, R.V., Campos, C.N.S., 2016. Iron concentrations in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivated in nutrient solution. *Agrociência*, v.50, p.867-875.
- Caverzan, A., 2008. Caracterização funcional dos genes de ascorbato peroxidase de arroz (*Oryza sativa* L.) nas interações entre estresse oxidativo e estresses abióticos. *Dissertação*.
- CONAB, 2019. Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar, v. 6 – Safra 2019/2020, n. 1 – Primeiro Levantamento.
- CONAB, 2020. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: safra <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-deacucar>.
- Cruz de Carvalho, M. H., 2008. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant Signal. Behav.* 3, 156–165. doi: 10.4161/psb.3.3.5536
- D'Hont, A., Grivet, L., Feldmann, P., Glaszmann, J.C., Rao, S., Berding, N., 1996. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars

- (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. Molecular and General Genetics MGG. 250:405-413. doi: 10.1007/BF02174028
- Das, K., Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Front. Environ. Sci. 2:53. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053
- Davis, M.J., Rott, P., Dean, J.L., 1994. Evaluation of selective media and immunoassays for detection of *Xanthomonas albilineans*, causal agent of sugarcane leaf scald disease. Plant Disease, v. 78, p. 78-82.
- De Dorlodot, S., Forster, B., Pages, L., Price, A., Tuberosa, R., and Draye, X., 2007. Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. Trends Plant Sci. 12, 474–481.
- De Marco, E., Anjos, S.D.S., Peres, M.M., Matoso, E.S., Tatto, F.R., Boelter, J.H., Campos, A.D.S., 2017. Uso de substratos alternativos na produção de mudas de cana-de-açúcar. Revista da Jornada da Pós-graduação e Pesquisa Congrega URCAMP, Bagé, v. 1, p. 2677-2690.
- Debona, D., Rodrigues, F.A., Rios, J.A., Nascimento, K.J.T., Silva, L.C., 2014. The effect of silicon on antioxidant metabolism of wheat leaves infected by *Pyricularia oryzae*. Plant Pathol. 63, 581–589. <https://doi.org/10.1111/PPA.12119>
- Dinardo-Miranda, L.L., Vasconcelos, A.C.M., Landell, G.A., 2008 (Eds). Cana-de-Açúcar. Campinas: Instituto Agronômico, 882 p.
- Domiciano, G.P., Cacique, I.S., Freitas, C.C., Filippi, M.C.C., DaMatta, F.M., Do Vale, F.X.R., Rodrigues, F.Á., 2015. Alterations in gas exchange and oxidative metabolism in rice leaves infected by *Pyricularia oryzae* are attenuated by silicon. Phytopathology 105, 738–747. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-14-0280->
- FAO (2021) The agricultural production indices. Food and Agricultural. Organisation of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/%0A>>.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity.
- Farooq, M.A., Dietz, Karl-Josef., 2015. Silicon as versatile player in plant and human biology: overlooked and poorly understood. Frontiers in Plant Science, v.6, art.994. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00994>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought

- stress: effects, mechanisms and management. *Agron Sustain Dev* 29:185–212
- Feng, R., Wei, C., Tu, S., 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, v. 87, p. 58-68.
- Ferreira, T.H.S., Tsunada, M.S., Bassi, D., Araújo, P., Mattiello, L., Guidelli, G.V., Righetto, G.L., Gonçalves, V.R., Lakshmanan, P., Menossi, M., 2017. Sugarcane Water Stress Tolerance Mechanisms and Its Implications on Developing Biotechnology Solutions. *Front. Plant Sci.* 8:1077. doi: 10.3389/fpls.2017.01077
- Garces, F.F., Gutierrez, A., Hoy, J.W., 2014. Detection and Quantification of *Xanthomonas albilineans* by qPCR and Potential Characterization of Sugarcane Resistance to Leaf Scald. *Plant Dis.*, v. 98, n. 1, p. 121-126.
- Garofalo, D., Packer, A., Ramos, N., Kondo, V., Matsuura, M.D.S., Cabral, O., 2020. Dinâmica na cultura da cana-de-açúcar no Brasil: 1990 a 2018. Jaguariúna: Embrapa: CNPMA, 41 p. (Embrapa: CNPMA. Documentos, 124).
- Gascho, G.J., Shih, S.F., 1983. Sugarcane. In: Teare ID, Peet MM (Eds.) *Crop Water Relations*. New York: John Wiley & Sons, p. 445-479.
- Ghasemi, A., Farzaneh, S., Moharramnejad, S., Sharifi, R.S., Youesf, A.F., Telesinski, A., Kalaji, H.M., Mojski, J., 2022. Impact of 24-epibrassinolide, spermine, and silicon on plant growth, antioxidant defense systems, and osmolyte accumulation of maize under water stress. *Sci Rep* 12, 14648 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18229-1>
- Gava, G.J.C., Trivelin, P.C., Oliveira, M.W., Penatti, C.P., 2001. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palhada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.36, n.11, p.1347-1354.
- Giannopolitis, C.N., Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59, 309–14. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Gomes, R.A., Gratão, P.L., Gaziola, S.A., Mazzafera, P., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2007. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. *Funct. Plant Biol.* 34, 449–456. <https://doi.org/10.1071/FP07010>
- Gomes-Junior, R.A., Gratão, P.L., Gaziola, S.A., Mazzafera, P., Lea, P.J., Azevedo,

- R.A., 2007. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. *Functional Plant Biology* 34:449–456. <https://doi.org/10.1071/FP07010>
- Gong, H., X. Zhu, K. Chen, S. Wang, and C. Zhang. 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Sci.* 169: 313– 321. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.023>
- Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Carvalho, R.F., Tezotto, T., Piotto, F.A., Peres, L.E.P., Azevedo, R.A., 2012. Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cdstressful conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 56:79–96. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.009>
- Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Tezotto, T., Carvalho, R.F., Alves, L.R., Peters, L.P., Azevedo, R.A., 2015. Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. *BioMetals (Oxford)*, v. 28, p. 803-816.
- Gratão, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., Gratão, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.* 32, 481–494. <https://doi.org/10.1071/FP05016>
- Gratão, P.L., Prasad, M.N.V., Cardoso, P.F., Lea, P. J., Azevedo, R.A., 2008. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 17, n. 1, p. 53-64.
- Gutierrez, A., Garces, F.F., Hoy, J.W., 2016. Evaluation of Resistance to Leaf Scald by Quantitative PCR of *Xanthomonas albilineans* in Sugarcane. *Plant Disease*, v. 100, n. 7.
- Hakmaoui, A., Pérez-Bueno, M.L., García-Fontana, B., Camejo, D., Jiménez, A., Sevilla, F., Barón, M., 2012. Analysis of the antioxidant response of *Nicotiana benthamiana* to infection with two strains of Pepper mild mottle virus. *J Exp Bot*, 63(15):5487-96. doi: 10.1093/jxb/ers212
- Halliwell, B., Gutteridge, J., 2015. Free radicals in biology and medicine.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J., 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Nova York: Oxford University Press, v. 1, n. 1, p. 1- 851.
- Han, Y., Li, P., Gong, S., Yang, L., Wen, L., Hou, M., 2016. Defense Responses in Rice Induced by Silicon Amendment against Infestation by the Leaf Folder *Cnaphalocrocis medinalis*. *PLoS One* 11, e0153918. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0153918>

- Hasan, M.K., Liu, C., Wang, F., Ahammed, G.J., Zhou, J., Xu, M.X., Xia, X.J., 2016. Glutathione-mediated regulation of nitric oxide, S-nitrosothiol and redox homeostasis confers cadmium tolerance by inducing transcription factors and stress response genes in tomato. *Chemosphere*, v. 161, p. 536-545.
- Hashimi, S.M., Wall, M.K., Smith, A.B., Maxwell, A., Birch, R.G., 2007. The phytotoxin albicidin is a novel inhibitor of DNA gyrase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 181–187. <https://doi.org/10.1128/AAC.00918-06>
- Hattori, T., Inanaga, S., Tanimoto, E., Lux, A., Luxova, M., Sugimoto, Y., 2003. Silicon induced changes in viscoelastic properties of sorghum root cell walls. *Plant and Cell Physiology*, v.44, p.743–749. doi: 10.1093/pcp/pcg090
- Hidalgo-Santiago, L., Navarro-León, E., López-Moreno, F.J. Arjó, G., González, L.M., Ruiz, R.M. Blasco, B., 2021. The application of the silicon-based biostimulant Codasil® offset water deficit of lettuce plants, *Scientia Horticulturae*, v. 285, 110177, ISSN 0304-4238, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110177>.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.L., 1950. The water culture methods for growing plants without soil. *Circular*, v.347, p.32.
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., and Prange, R. K., 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207, 604–611. doi: 10.1007/s004250050524
- Hong, D. kai, Talha, J., Yao, Y., Zou, Z. yuan, Fu, H. ying, Gao, S. ji, Xie, Y., Wang, J. da, 2021. Silicon enhancement for endorsement of *Xanthomonas albilineans* infection in sugarcane. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 220, 112380. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112380>
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.X., Yi, M., Zhao, Y., 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Front. Plant Sci.* 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
- Ibrahim, M.F.M., El-Samad, G.A., Ashour, H., El-Sawy, A.M., Hikal, M., Elkelish, A., El-Gawad, H.A., El-Yazied, A.A., Hozzein, W.N., Farag, R., 2020. Regulation of agronomic traits, nutrient uptake, osmolytes and antioxidants of maize as influenced by exogenous potassium silicate under deficit irrigation and semiarid conditions. *Agronomy*. <https://doi.org/10.3390/agronomy10081212>

- Inman-Bamber, N.G., 2004. Sugarcane water stress criteria for irrigation and dryin off. *Field Crops Research*, v.89, p.107-122.
- Inman-Bamber, N.G., Bonnett, G.D., Spillman, M.F., Hewitt, M.L., Jackson, J., 2008. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.59, p.13-26.
- Inman-Bamber, N.G., Lakshmanan, P., Park, S., 2012. Sugarcane for water-limited environments: Theoretical assessment of suitable traits. *Field Crops Research*, Amsterdam, v.134, p.95–104.
- Inman-Bamber, N.G., Smith, D.M., 2005. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crop. Res.*, v. 92, p. 185-202, 10.1016/j.fcr.2005.01.023
- Jain, R., Chandra, A., Venugopalan, V., Solomon, S., 2015. Physiological changes and expression of SOD and P5CS genes in response to water deficit in sugarcane. *Sugar Tech* 17:276–282. <https://doi.org/10.1007/s12355-014-0317-2>
- Jesus, H.I., Medeiros, M.L.S., Lopes, M.F.Q., Olibveira, B.S., Silvas, G.M., Mielezrski, F. 2019. Development and gas Exchange of pre-sprouted sugarcane seedlings in three diferente growing substrate media. *Journal of Experimental Agriculture International*, Hooghly, v. 32, n. 4, p. 1-7. <http://dx.doi.org/10.9734/jeai/2019/v32i430114>
- Kim, Y.H., Khan, A.L., Waqas, M., Lee, I.J., 2017. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: A review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00510>
- Korndörfer, G.H., Pereira, H.S., Nolla, A., 2004. Análise de silício no solo, planta e fertilizantes. Uberlândia: UFU, 50p.
- Kraska, J.E., Breitenbeck, G.A., 2010. Simple, robust method for quantifying silicon in plant tissue. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41:2075–2085. <https://doi.org/10.1080/00103624.2010.498537>
- Lacerda, A.R.S., Souza, A.R., Santos, T.M., Clemente, J.M., Duarte, A.R., Machado, M.G., 2019. Produtividade da cana-de-açúcar em resposta a adubação NPK em diferentes épocas. *Humanidades & Tecnologia em Revista*, v. 18.
- Landell, M.G.A., Campana, M.P., Figueiredo, P., Xavier, M.A., Anjos, I.A., Dinardo Miranda, L.L., Scarpari, M.S., Garcia, J.C., Bidóia, M.A.P., Silva D.N., Mendonça,

- J.R., Kanthack, R.A.D., Campos, M.F., Brancalião, S.R., Petri, R.H., Miguel, P.E.M., 2012. Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas. Campinas: IAC, 16p.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, v. 148, p. 350-382.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Knapp, M., 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R Fd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*, v.43, p.379-393.
- Liu, S.L., Yang, R.J., Ma, M.D., Dan, F., Zhao, Y., Jiang, P., Wang, M.H., 2015. Effects of exogenous NO on the growth, mineral nutrient content, antioxidant system, and ATPase activities of *Trifolium repens* L. plants under cadmium stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 37, p. 1-16.
- Manquían-Cerda, K., Escudey, M., Zúñiga, G., Arancibia-Miranda, N., Molina, M., Cruces, E., 2016. Effect of cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets grown in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 133, p. 316-326.
- Manhães, C.M.C., Garcia, R.F., Francelino, F.M.A., Francelino, H.O., Coelho, F.C., 2015. Factors that affect sprouting and tillering of sugar cane. *Revista Vértices* 17:163–181. <https://doi.org/10.5935/1809-2667.20150011>
- Marchiori, P.E.R., Machado, E.C., Sales, C.R.G., Espinoza-Núñez, E., Magalhães Filho, J.R., Souza, G.M., Pires, R.C.M., Ribeiro, R.V., 2017. Physiological plasticity is important for maintaining sugarcane growth under water deficit. *Frontiers in Plant Science* 8:1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02148>
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants.. 2.ed. San Diego: Academic Press, 889 p.
- Martins, A.P.C., Albrecht, L.P., Castaldo, J., Carneiro, R., Zucareli, V., 2015. Novas tecnologias no plantio de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp). *Journal of Agronomic Sciences* 4: 301–317.
- Meng, J.Y., Ntambo, M.S., Rott, P.C., Fu, H.Y., Huang, M.T., Zhang, H.L., Gao, S.J., 2020a. Identification of differentially expressed proteins in sugarcane in response to infection by *xanthomonas albilineans* using iTRAQ quantitative proteomics.

- Microorganisms 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010076>
- Mensi, I., Vernerey, M.S., Gargani, D., Nicole, M., Rott, P., 2014. Breaking dogmas: The plant vascular pathogen *Xanthomonas albilineans* is able to invade non-vascular tissues despite its reduced genome. *Open Biol.* 4. <https://doi.org/10.1098/rsob.130116>
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., and Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 33, 453–467. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x
- Ming, R., Moore, P.H., Wu, K.K., D'Hont, A., Glaszmann, J.C., Tew, T.L., Mirkov, T.E., da Silva, J., Jifon, J., Rai, M., Schnell, R.J., Brumbley, S.M., Lakshmanan, P., Comstock, J.C., Paterson, A.H., 2006. Sugarcane improvement through breeding and biotechnology. *Plant Breeding Reviews* 27, 15– 118. <https://doi.org/10.1002/9780470650349.ch2>
- Mitani, N., Yamaji, N., Ma, J.F., 2009. Identification of maize silicon influx transporters. *Plant Cell Physiol* 50:5–12. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn110>
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, v.7, n.9. doi: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., and Van Breusegem, F., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9, 490–498. doi: 10.1016/j.tplants.2004.08.009
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., et al., 2011. ROS signaling: the new wave? *Trends Plant Sci.* 16, 300–309. doi: 10.1016/j.tplants.2011.03.007
- Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Daros, E., Campos, M.K.F., Carvalho, J.F.R.P., Bessalho Filho, J.C., Pereira, L.F.P., Vieira, L.G.E., 2007. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): Osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and antioxidative stress. *Physiol. Plant.*, 130, 218–225.
- Montes, R.M., Montes, S.M.N.M., Raga, A., 2015. O uso do silício no manejo de pragas. *Documento Técnico*, v. 17, p. 1-13.
- Noctor, G.; Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, v. 49, p. 249-

279.

- Ntambo, M.S., Meng, J.Y., Rott, P.C., Henry, R.J., Zhang, H.L., Gao, S.J., 2019. Comparative transcriptome profiling of resistant and susceptible sugarcane cultivars in response to infection by *xanthomonas albilineans*. Int. J. Mol. Sci. 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20246138>
- Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., Keltsieva, O.A., Zhukov, V., Tikhonovich, I., Tarakhovskaya, E., et al., 2018. Methodology of Drought Stress Research: Experimental Setup and Physiological Characterization. Int. J. Mol. Sci., 19, 4089. <https://doi.org/10.3390/ijms19124089>
- Pei, Z.F., Ming, D.F., Liu, D., Wan, G.L., Geng, X.X., Gong, H.J., Zhou, W.J., 2010. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. J Plant Growth Regul 29:106–115. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9120-9>
- Peters, L.P., Carvalho, G., Vilhena, M.B., Creste, S., Azevedo, R.A., Monteiro-Vitorello, C.B., 2017. Functional analysis of oxidative burst in sugarcane smut-resistant and -susceptible genotypes. Planta 245, 749–764. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2642-z>
- Pieretti, I., Pesic, A., Petras, D., Royer, M., Süssmuth, R.D., Cociancich, S., 2015. What makes *Xanthomonas albilineans* unique amongst xanthomonads? Front. Plant Sci. 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00289>
- Pilon, C., Soratto, R.P., Broetto, F., Fernandes, A.M., 2014. Foliar or Soil Applications of Silicon Alleviate Water-Deficit Stress of Potato Plants. Crop Ecology & Physiology. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0176>
- Pinto, L.E.V., Spósito, T.H.N., Godinho, A.M.M., Martins, F.M., 2016. Produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar em função de diferentes substratos. Colloquium Agrariae, v. 12, p. 93-99. Número especial. <http://dx.doi.org/10.5747/ca.2016.v12.nesp.000177>
- Ramesh, P., 2000. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. Journal of Agronomy and Crop Science 185:83–89. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2000.00404.x>
- Resende, R.S., Rodrigues, F.Á., Cavatte, P.C., Martins, S.C.V., Moreira, W.R.,

- Chaves, A.R.M., DaMatta, F.M., 2012. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected by *colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 102, 892–898. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0014-R>
- Ricaud, C., Egan, B.T., Gillaspie, A.G, Hughes, C.G., 2012. Diseases of sugarcane: major diseases. In: Ricaud, C.; Egan, B. T.; Gillaspie, A. G.; Hughes, C. G.; Eds., Elsevier, p. 39-58.
- Robertson, M.J., Wood, A.W., Muchow, R.C., 1996. Growth of sugarcane high input conditions in tropical Australia.I. Radiation use, biomass accumulation and partitioning. *Field CropsResearch*, Amsterdam, v.48, p.11-25. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(96\)00041-X](https://doi.org/10.1016/0378-4290(96)00041-X)
- Rodrigues ,G.S.S.C., Ross, J.L.S., 2020. A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental. EDUFU. P. 268. [doi:10.14393/EDUFU/978-65-86084-00-9](https://doi.org/10.14393/EDUFU/978-65-86084-00-9).
- Rott, P., Davis, M.J., 2000. Leaf scald. In: Rott P, Bailey RA, Comstock JC, Croft BJ, Saumtally AS (eds) *A guide to sugarcane diseases*. La Librairie du Cirad, Montpellier, p. 38–44.
- Rott, P., Mohamed, I.S., Klett, P., Soupa, D., DE Saint-Albin, A., Feldmann, P., Letourmy, P., 1997. Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization of sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. *Phytopathology*, v. 87, p. 1202-1213.
- Santos, F., Borém, A., 2013. *Cana-de-açúcar: do plantio a colheita*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 257 p.
- Saumtally, A.S., Dookun-Saumtally, A., 2004. Leaf scald of sugarcane: a disease of worldwide importance. Rao, GP; Saumtally, AS; Rott, P. *Sugarcane pathology: bacterial and nematode diseases*. New Hampshire: Science Publishers, v. 3, p. 65-76.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.A., Bradstreet, E.D., 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sciencem*, v. 148, p. 339-346.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., and Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012, 26. [doi: 10.1155/2012/217037](https://doi.org/10.1155/2012/217037)
- Shrivastava, A.K., Solomon, S., Rai, R.K., Singh, P., Chandra, A., Jain, R., Shukla,

- S.P., 2015. Physiological Interventions for Enhancing Sugarcane and Sugar Productivity. *Sugar Tech* 17:215-226. doi:10.1007/s12355-014-0321-6
- Szabados, L., Saviouré, A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci* 15:89–97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Shulaev, V., Oliver, D.J., 2006. Metabolic and proteomic markers for oxidative stress. New tools for reactive oxygen species research. *Plant Physiol.* 141, 367–372. doi: 10.1104/pp.106.077925
- Stirbet, A., Govindjee, 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 104, pp. 236-257.
- Silveira, J.A.G., Silva, S.L.F., Silva, E.N., Viégas, R.A., 2010. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. *Ciência Rural* 45, 884–891.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.Jr., 1965. Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vinic.* 16, 144–158. doi:10.5344/ajev.1965.16.3.144
- Snyder, G.H., Matichenkov, V., Datnoff, L.E., 2007. Silicon. In: Barker, A. V.; Pilbem, D.J. *Handbook of plant nutrition*. Boca Raton: Taylor & Francis, p. 551-568.
- Snyder, G.H., Matichenkov, V. Datnoff, L.E. 2007. Silicon. In: Barker, A.V., Pilbem, D.J. *Handbook of plant nutrition*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2007. p. 551-568.
- Teodoro, P.E., Ribeiro, L.P., Oliveira, E.P., Corrêa, C.C.G., Torre, F.E., 2015. Acúmulo de massa seca na soja em resposta a aplicação foliar com silício sob condições de déficit hídrico. *Biosci. J.*, v. 31, n. 1, p. 161-170.
- Tsimogiannis, D., Oreopoulou, V., 2019. Classification of phenolic compounds in plants. In *Polyphenols in Plants* (pp. 263–284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00026-8>
- Taiz L., Zeiger, E., 2013 (Eds.) *Plant Physiology*. Massachusetts: Sinauer Associates, 782p.
- Tardiani, A., Perecin, D., Junior, R., Sanguino, A., Landell, M., Beriam, L., Nunes, D., Camargo, L., Creste, S., 2014. Molecular and Pathogenic Diversity Among Brazilian Isolates of *Xanthomonas albilineans* Assessed with SSR Marker Loci.

- Plant Disease. 98. 540-546. 10.1094/PDIS-07-13-0762-RE.
- Tardieu, F., 2012. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *J. Exp. Bot.* 63, 25–31.
- Tardieu, F., 2013. Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. *Front. Physio.* 4:17. doi: 10.3389/fphys.2013.00017
- Tardieu, F., Bruckler, L., and Lafolie, F., 1992. Root clumping may affect the root water potential and the resistance to soil-root water transport. *Plant Soil* 140, 291–301.
- Teixeira, G.C.M., de Mello Prado, R., Rocha, A.M.S., 2021a. Low absorption of silicon via foliar in comparison to root application has an immediate antioxidant effect in mitigating water deficit damage in sugarcane. *J. Agron. Crop Sci.* <https://doi.org/10.1111/JAC.12511>
- Teixeira, G.C.M., Mello Prado, R. de, Rocha, A.M.S., Silveira Sousa Junior, G. da, Gratão, P.L., 2021b. Beneficial Effect of Silicon Applied Through Fertigation Attenuates Damage Caused by Water Deficit in Sugarcane. *J. Plant Growth Regul.* 1–16. <https://doi.org/10.1007/S00344-021-10510-3/FIGURES/10>
- Teixeira, G.C.M., Prado, R. de M., Rocha, A.M.S., dos Santos, L.C.N., dos Santos Sarah, M.M., Gratão, P.L., Fernandes, C., 2020. Silicon in pre-sprouted sugarcane seedlings mitigates the effects of water deficit after transplanting. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 849–859. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00170-4>
- Teixeira, G.C.M., Prado, R.M., Rocha, A.M.S., 2021. Low absorption of silicon via foliar in comparison to root application has an immediate antioxidant effect in mitigating water deficit damage in sugarcane. *Journal of Agronomy and Crop Science* 00, 1–10. <https://doi.org/10.1111/jac.12511>
- Teixeira, G.C.M., de Prado, R.M., Rocha, A.M.S. et al., 2022. Action of silicon on the activity of antioxidant enzymes and on physiological mechanisms mitigates water deficit in sugarcane and energy cane plants. *Sci Rep* 12, 17487. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21680-9>
- VanLoon, L.C., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36, 453– 483. <http://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>
- Verbruggen, N., Hermans, C., 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35, 753–759. doi: 10.1007/s00726-008-0061-6

- Verma, K.K., Liu, X., Wu, K., Singh, R.K., Song, Q.Q., Malviya, M.K., Song, X.P., Singh, P., Verma, C.L., Li, Y.-R., 2019. The Impact of Silicon on Photosynthetic and Biochemical Responses of Sugarcane under Different Soil Moisture Levels. *Silicon*.
- Verma, K.K., Song, X.P., Li, D.M., Singh, M., Rajput, V.D., Malviya, M.K., Minkina, T., Singh, R.K., Singh, P., Li, Y.R., 2020. Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: a new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants*, 9, p. 1055, 10.3390/plants9091055
- Vilela, M., Moraes, J.C., Alves, E., Santos-Cividanes, T.M., Santos, F.A., 2014. Resistencia inducida a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) vía aplicación de silicio. *Rev. Colomb. Entomol.* 40 (1): 44-48.
- Yang, L., Han, Y., Li, P., Li, F., Ali, S., Hou, M., 2017. Silicon amendment is involved in the induction of plant defense responses to a phloem feeder. *Sci. Reports*. 7, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04571-2>
- Yoshida, S., 1965. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences Series B* 15:1-58.
- Wahid, A., Close, T.J., 2007. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. *Biol. Plant.*, 51, 104–109.
- Zhang, C.J.M., Moutinho-Pereira, C., Correia, J., Coutinho, A., Gonçalves, A. Guedes, J. Gomes-Laranjo., 2013. Foliar application of Sili-K® increases chestnut (*Castanea* spp.) growth and photosynthesis, simultaneously increasing susceptibility to water deficit. *Plant Soil*. 365: 211– 225. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1385-2>
- Zhang, H.L., Ntambo, M.S., Rott, P.C., Chen, G., Chen, L.L., Huang, M.T., Gao, S.J., 2020. Complete genome sequence reveals evolutionary and comparative genomic features of *xanthomonas albilineans* causing sugarcane leaf scald. *Microorganisms* 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020182>
- Zhao, D., Irey, M., Laborde, C., Hu, C.J., 2017. Identifying physiological and yield-related traits in sugarcane and energy cane. *Agronomy Journal* 109:927–937. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.10.0585>
- Zhao, D., Irey, M., Laborde, C., Hu, C.J., 2019. Physiological and yield characteristics of 18 sugarcane genotypes grown on a sand soil. *Crop Science* 59:2741–2751.

<https://doi.org/10.2135/cropsci2019.02.0107>

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 Sci. 167, 527–533.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.020>