

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ÁCIDO SALICÍLICO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A
ESCALDADURA EM CANA-DE-AÇÚCAR EM
CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Lucas da Silva Souza

Engenheiro Agrônomo

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ÁCIDO SALICÍLICO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A
ESCALDADURA EM CANA-DE-AÇÚCAR EM
CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Discente: Lucas da Silva Souza

Orientadora: Dra. Priscila Lupino Gratão

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrária e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal**

S729a

Souza, Lucas da Silva

Ácido salicílico na indução de resistência a escaldadura em
cana-de-açúcar em condições de deficiência hídrica / Lucas da Silva
Souza. -- Jaboticabal, 2022
46 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Priscila Lu

1. *Xanthomonas albilineans*. 2. Deficiência hídrica. 3. *Saccharum*
spp. 4. Ácido salicílico. 5. Indução de resistência. 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.

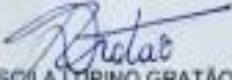
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ÁCIDO SALICÍLICO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A ESCALDADURA EM CANA-DE-AÇÚCAR EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA

AUTOR: LUCAS DA SILVA SOUZA

ORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


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


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


Prof.ª Dr.ª ANA CAROLINA FIRMINO (Participação Virtual)
Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Unesp - Dracena

Jaboticabal, 31 de maio de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUCAS DA SILVA SOUZA, filho de Edvaldo Oscar de Souza e Delfina Maria da Silva, paulista, natural da cidade de Tupi Paulista – SP, nasceu em 19 de janeiro de 1996. Foi alfabetizado e cursou o ensino fundamental e médio na escola E.E. Prof. Salvador Ramos de Moura em São João do Pau D’Alho – SP. Formou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Estadual Paulista – Unesp, Campus de Jaboticabal em 2018. Esteve vinculado durante a graduação ao Grupo de Estudo em Máquinas e Mecanização Agrícola de Precisão (GEMMAP), onde obteve duas bolsas de extensão. Também desenvolveu pesquisa com cogumelos comestíveis, com foco em desenvolvimento de métodos de adubação de substratos, cuja pesquisa foi desenvolvida com uma bolsa FAPESP. O TCC foi realizado com uma pesquisa em métodos alternativos de controle de doença na cultura do eucalipto, onde obteve um prêmio de excelência acadêmica. Em março de 2020 ingressou no mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Jaboticabal, onde desenvolveu pesquisa com foco em o desenvolvimento de um método alternativo de controle da doença escaldadura da folha na cultura da cana-de-açúcar, com foco no aspecto fisiológico, sob orientação da Professora Doutora Priscila Lupino Gratão.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, que sempre me apoiou e fez de tudo para que meus objetivos sejam realizados.

Aos meus amigos (as), que sei que posso contar para qualquer necessidade e sempre estão presentes quando precisei tirar minha mente dos problemas.

A minha orientadora, Priscila Lupino Gratão, que sempre foi paciente e prestativa em frente a todos os problemas que apareceram.

Aos meus companheiros (as) de sala de aula da Produção Vegetal, com que, neste tempo convivi e que me fizeram me sentir bem vindo ao programa.

A Unesp e os professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, por me fornecerem a oportunidade de realizar um mestrado, além de também de crescer intelectualmente.

Aos membros do laboratório de fisiologia vegetal, Regis, Clebson, Rafaella, Mayara e Sonia, que fizeram todo o possível para me ajudar a concluir este projeto.

Aos membros da bancada examinadora, pela disponibilidade em participarem da banca de defesa e pela contribuição intelectual.

Por fim, a todos, que de forma direta ou indireta, participaram desta etapa tão importante da minha vida e que não foram citados aqui.

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

Sumário

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Cana-de-açúcar	3
2.2 Xanthomonas albilineans	4
2.3 Escaldadura da folha na cana-de-açúcar	4
2.4 Deficiência hídrica	5
2.5 Estresse oxidativo	6
2.6 Papel do ácido salicílico na indução de resistência	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Delineamento experimental	10
3.2 Condução do experimento	11
3.3 Inoculação da bactéria	12
3.4 Deficiência hídrica	13
3.5 Teores de clorofilas e carotenoides	13
3.6 Eficiência quântica do FSII	14
3.7 Potencial hídrico foliar	14
3.8 Peroxidação lipídica	14
3.9 Prolina	14
3.10 Superóxido dismutase – SOD (EC 1.15.1.1)	15
3.11 Guaiacol Peroxidase- GPOX (EC 1.11.1.)	15
3.12 Glutathione peroxidase-GSH-Px (EC 1.11.1.9)	15
3.13 Forma de análise dos resultados	16
4 RESULTADOS	16
4.1 Clorofila e Carotenoides	16
4.2 Eficiência quântica do FSII	18
4.3 Potencial hídrico foliar	19
4.4 Peroxidação lipídica	19
4.5 Prolina	20
4.6 Superóxido dismutase	21
4.7 Guaiacol Peroxidase	22
4.8 Glutathione peroxidase	23
5 DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	28
7 REFERÊNCIAS	28

ÁCIDO SALICÍLICO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A ESCALDADURA EM CANA-DE-AÇÚCAR EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA

RESUMO – A produção brasileira de cana-de-açúcar encontra-se estagnada desde 2010 em função de problemas fitossanitários. Uma das doenças que afeta substancialmente a cana-de-açúcar é conhecida como escaldadura da folha, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*. Atualmente, o único método de controle efetivo é o uso de cultivares resistentes. Entretanto, este método é passível de erros. Por conta disso, a busca por meios alternativos de controle torna-se de suma importância, como a indução da resistência, e entre estes indutores encontra-se o ácido salicílico (AS). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da aplicação do AS no controle da escaldadura em duas cultivares de cana-de-açúcar, sendo uma suscetível a *Xanthomonas albilineans*, cultivar SP78-4467, e a outra, considerada resistente à doença, cultivar SP80-3280. Diferentes concentrações de AS ($0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $72 \mu\text{mol L}^{-1}$) foram aplicadas por um período de 90 dias, e em seguida as plantas foram transplantadas para vasos maiores contendo solo. Após um período de 30 dias, as plantas foram inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*, e após 10 dias depois da inoculação foi realizada a deficiência hídrica até o CRA atingir 40%, em seguida as plantas foram coletadas para análises laboratoriais. Ambos os estresses causaram uma queda na concentração de clorofila e carotenoides. Os tratamentos que passaram por déficit hídrico apresentaram menor potencial hídrico foliar, mas o AS promoveu um aumento nesse potencial na cultivar SP80-3280, isto pois o AS está relacionado com genes exclusivos de cultivares resistentes a seca. O AS também causou um aumento na concentração da prolina, e atividade da SOD, GPOX e GSH-Px em diferentes cultivares quando as plantas foram inoculadas e sob deficiência hídrica. De modo geral, a aplicação de AS promoveu atenuação nos danos causados pela bactéria, sendo a cultivar susceptível a mais responsiva a aplicação do AS.

Palavras-chaves: Ácido salicílico, Indução de resistência, Resposta antioxidante, *Saccharum spp.*, *Xanthomonas albilineans*, Deficiência hídrica.

SALICYLIC ACID IN THE INDUCTION OF LEAF SCALD RESISTANCE IN SUGAR CANE IN WATER DEFICIENCY CONDITIONS

ABSTRACT -The Brazilian production of sugarcane has been stagnant since 2010 due to phytosanitary problems. One of the diseases that substantially affects sugarcane is known as leaf scald caused by the bacterium *Xanthomonas albilineans*. Currently, the only effective control method is the use of resistant cultivars. However, this method is prone to error. Because of this, the search for alternative means of control becomes important, such as the use of elicitors like salicylic acid (SA). Thus, the present work aimed to evaluate the efficiency of the application of SA in the control of leaf scald in two sugar cane cultivars, SP78-4467 (susceptible to *Xanthomonas albilineans*) and, SP80 -3280 (resistant to *Xanthomonas albilineans*). Different concentrations of SA ($0 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $72 \mu\text{mol L}^{-1}$) were used for a period of 90 days, and then the plants were transplanted to larger pots containing soil. After a period of 30 days, the plants were inoculated with the bacterium *Xanthomonas albilineans*, and 10 days after inoculation, water deficit was performed until the CRA reached 40%, then the plants were collected for laboratory analysis. Both stresses caused a drop in the concentration of chlorophyll and carotenoids. The treatments that underwent water deficit had lower leaf water potential, but SA promoted an increase in this potential in cultivar SP80-3280, this because SA is related to genes exclusive to drought-resistant cultivars. AS also caused an increase in proline concentration, and SOD, GPOX and GSH-Px activity in different cultivars when plants were inoculated and under water deficit. In overall results, SA promoted attenuation of the damages caused by the bacteria, with the susceptible cultivar being the most responsive to the application of SA.

Keywords: Antioxidant response, Resistance induction, *Saccharum* spp., Salicylic acid, *Xanthomonas albilineans*, Water deficiency.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Teor de clorofilas totais de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....17
- Figura 2.** Teor de carotenoides de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....18
- Figura 3.** Eficiência quântica do FSII de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....18
- Figura 4.** Potencial hídrico foliar de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....19
- Figura 5.** Peroxidação lipídica de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....20
- Figura 6.** Concentração de prolina de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....21
- Figura 7.** Atividade de SOD de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....22
- Figura 8.** Atividade de GPOX de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....23
- Figura 9.** Atividade de GSH-Px de dois cultivares de cana-de-açúcar submetidos a diferentes concentrações de ácido salicílico, deficiência hídrica e inoculadas com a bactéria *Xanthomonas albilineans*.....24

1 INTRODUÇÃO

O *Saccharum* spp., conhecido no Brasil popularmente como cana-de-açúcar é cultivado em diversas partes do mundo, tendo como principais produtores o Brasil, Índia, China e Paquistão, com produção total, respectivamente, de 757,1; 370,5; 108,1; 81 milhões de toneladas no ano de 2020 (FAO, 2020).

Como apresentado pela FAO (2020), embora a produção brasileira de cana-de-açúcar seja alta, em torno de 750 milhões de toneladas, ela encontra-se estagnada, não ocorrendo aumento significativo na sua produção desde 2010. Em função disso, há um grande esforço nas áreas aplicadas para promover soluções para os limitadores de produtividade, ou seja, fatores que estão impedindo este aumento na produção, entre eles, os problemas fitossanitários.

Segundo Saumtally e Dookun-Saumtally (2004) uma das doenças que afeta substancialmente a cana-de-açúcar é conhecida como escaldadura da folha, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, ao qual inibe o xilema.

O único método de controle efetivo, além de medidas quarentenárias, é o uso de cultivares resistentes ao patógeno (Ricaud et al., 2012; Saumtally e Dookun-Saumtally, 2004).

A *Xanthomonas albilineans* é uma bactéria que apresenta grande diversidade genética, e é atualmente classificada em três serovars (Zhang et al., 2020). Essa variação genética permite que o patógeno consiga quebrar a resistência das cultivares efetivas contra a doença mais facilmente (Rott e Davis, 2000). Isso demonstra que a utilização de cultivares resistente é uma medida que pode não ser efetiva, possibilitando, um surto repentino da doença nos canaviais brasileiros. Assim, a utilização de cultivares resistentes para controle da doença acaba limitando o produtor, que é forçado a escolher cultivares que apresentam resistência a escaldadura da folha em detrimento a outras cultivares, limitando o potencial de produtividade daquela área.

O ambiente é muito importante na interação entre doença e planta, onde suas mudanças podem afetar a ocorrência da doença nas plantas (Monteiro et al., 2006).

Por conta disso, 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. Entre esses meios alternativos, a indução de resistência tem se destacado tanto na cultura da cana-de-açúcar (Amnaa et al., 2020, Ashwin et al., 2017) quanto para o arroz (Lu et al., 2020), citrus (Wang et al., 2020), entre outras culturas.

A indução de resistência é um estado fisiológico onde a capacidade de defesa natural da planta torna-se estimulada por uma variedade de estresses, sejam estes bióticos ou abióticos (Choudhary et al., 2007, Romanazzi et al., 2016).

O ácido salicílico (AS) pertence ao um grupo diversificado de compostos fenólicos nas plantas, normalmente definidos como substâncias que possuem anel aromático contendo um grupo hidroxila ou seu derivado funcional, que pode ser ativamente conjugado ou metabolizado, e também transportado rapidamente do seu ponto inicial de aplicação para outros tecidos da planta (Popova et al., 1997).

O AS é um importante mediador na resposta da planta a ataque de patógenos e pode ser considerado um indutor de resistência, com a primeira evidência desta função reportada por White (1979), onde plantas de tabaco apresentaram maior resistência ao vírus do mosaico do tabaco, reduzindo o número e tamanho das lesões necróticas. Recentes publicações têm demonstrado que o uso do AS, de forma isolada ou em conjunto com outras substâncias, promove resistência as plantas atacadas por patógenos, tanto para aplicação como pré-tratamento de sementes ou diretamente em plantas doentes (Narasimhamurthy et al., 2019, Maity et al., 2018, Leiwakabessy et al., 2017, Yuan et al., 2019, Shi et al., 2019, Chen et al., 2020, Zhou et al., 2018).

Diante dessas informações, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso de ácido salicílico (AS) no controle da doença escaldadura da folha através dos parâmetros fisiológicos e bioquímicos analisados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea e membro da família Poaceae. Gênero que consiste de 6 a 37 espécies, a depender da interpretação taxonômica, quais todos os membros são gramíneas altas, nativas de locais com temperaturas quentes e regiões tropicais. A cana-de-açúcar possui hastes fibrosas e grossas que chegam de 2 a 6 metros de altura que armazenam açúcar (Viswanathan, 2021).

A cana-de-açúcar é cultivada em diversas partes do mundo, tendo como principais produtores o Brasil, Índia, China e Paquistão, com produção total de 757,1; 370,5; 108,1; 81 milhões de toneladas, respectivamente (FAO, 2020). No Brasil, a área produzida de cana-de-açúcar na safra 2020/21 foi de mais de 8,6 milhões de hectares (Conab, 2022). A cana-de-açúcar é a fonte primária de manufatura de cristais de açúcar, uma commodity predominante na indústria alimentícia no globo todo. Além do açúcar, a cana-de-açúcar ainda é fonte de produção de etanol e cogeração de energia, além de outros produtos secundários (Sundar et al., 2015).

Para manter altos níveis de produtividade, as cultivares desenvolvidas para o Brasil precisam além de ter alta produção e ter altos teores de açúcar, atender vários outros critérios, como adaptação a variações ambientais, como solo, clima e época de colheita, e principalmente, possuir resistência a pragas, doenças e a seca (Ullah et al., 2020).

Esta grande exigência para as cultivares ocorre em função do método de controle efetivo estar associado apenas à geração de cultivares resistentes. Esta limitação, por sua vez acaba resultando na eliminação de cultivares com alto potencial produtivo em programas de seleção de cultivar devido a suscetibilidade a doenças. Na Austrália, por exemplo, foi reportado que cerca de 20% das cultivares com alto potencial são descartadas devido à doença escaldadura da folha, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* (Umer et al., 2021).

2.2 *Xanthomonas albilineans*

Xanthomonas albilineans é uma bactéria representante do gênero *Xanthomonas*, gênero esse que é exclusivamente composto por bactérias gram-negativas que causam danos à várias culturas de interesse agrônômico, tanto monocotiledôneas, como arroz, cana-de-açúcar ou banana, quanto dicotiledôneas, como citrus, feijão e tomate (Pieretti et al., 2015).

Embora seja pertencente ao gênero *Xanthomonas*, a *Xanthomonas albilineans* é considerada uma *Xanthomonas* atípica devido a algumas características diferentes, como a falta de produção de goma xantana *in vitro*, crescimento relativamente lento em meio de cultura e a produção da fitotoxina albicidina. Devido a essas diferenças já foi sugerido que a bactéria fosse atribuída a um gênero diferente, mas na atualidade esta bactéria ainda é pertencente ao gênero *Xanthomonas* (Cervantes-Romero et al., 2021; Pieretti et al., 2015).

A *Xanthomonas albilineans* é uma bactéria inibidora de xilema e causadora de uma das principais doenças da cana-de-açúcar, conhecida como escaldadura da folha (Saumtally e Dookun-Saumtally, 2004).

2.3 Escaldadura da folha na cana-de-açúcar

Os sintomas da escaldadura da folha em cana-de-açúcar são divididos em três categorias: sintomas crônicos, agudos e latência, e sua severidade está associada com a agressividade do patógeno, condições ambientais e nível de resistência da cultivar da cultura (Silva et al., 2007). Os sintomas da forma crônica são o de estrias brancas longitudinais, que variam de largura, se estendendo por todo limbo foliar e descendo pela bainha, às vezes também pode ser notado em colmos maduros o início de brotação de gemas basais (Ricaud et al., 2012).

Já a fase aguda, só ocorre em situações ambientais desfavoráveis a planta, como por exemplo em períodos de seca e em cultivares suscetíveis, apresentando os sintomas de queima das folhas, brotação lateral iniciando na

base da planta e grande número de morte de plantas no campo. Essa fase é súbita e pode ocorrer sem o aparecimento dos sintomas da fase crônica (CTC, 2018; Rott e Davis, 2000).

Na fase de latência, por sua vez, as plantas toleram a presença da bactéria por várias semanas sem apresentar nenhum sintoma (Rott e Davis, 2000). Essa fase apresenta grande importância, pois, possibilita a dispersão da bactéria para plantas e áreas anteriormente não contaminadas, principalmente através de instrumentos de cortes, como facões e colhedoras contaminadas. (Ricaud et al., 2012).

O sintoma característico e o que dá o nome a doença (estrias longitudinais) é causado pela fitotoxina albicidina produzida pela bactéria no xilema da planta. A albicidina é uma girase potente que bloqueia a diferenciação de cloroplastos, causando a morte das células do xilema, o que por sua vez interrompe o fluxo de seiva que é ali transportado (Pieretti et al., 2015).

O controle da doença em cana-de-açúcar é feito principalmente pelo emprego de cultivares resistentes. Entretanto, esta não é uma medida definitiva de controle, pois devido a variabilidade do patógeno, a quebra de resistência já foi relatada em diversos países, como Florida e Louisiana nos Estados Unidos da América, em Guadalupe, na República Dominicana e em Mauritius no México, causando grandes danos econômicos aos produtores (Silva et al., 2007).

Além dos sintomas causados por doenças, um dos principais efeitos maléficos que doenças podem causar em plantas é a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO), que pode levar ao estresse oxidativo.

2.4 Deficiência hídrica

Para o crescimento, desenvolvimento e reprodução das plantas é necessário grandes quantidades de água. As plantas passam periodicamente por períodos de seca inesperados, além de um terço da área da terra possuir clima árido ou semiárido (Fang e Xiong, 2015).

Os principais sintomas de déficit hídrico durante o período vegetativo em plantas são uma menor altura de planta, diminuição na área, número e seca das folhas. A diminuição da altura da planta acontece principalmente pela queda na

expansão celular, mitose prejudicada e maior taxa de queda de folhas. As folhas geralmente adotam uma menor área foliar, o que resulta em uma menor taxa de fotossíntese e produtividade da planta. Mas diferentes plantas podem apresentar diferentes respostas ao déficit hídrico, como a cana-de-açúcar, que demonstra uma maior alongação de suas folhas (Yang et al., 2021).

Com a queda da disponibilidade de água, geralmente a planta é submetido ao fechamento dos estômatos para prevenir maior perda de água, limitando o dióxido de carbono disponível para a fixação pela fotossíntese. Causando uma diminuição na eficiência quântica e o excesso de energia excitada nos centros de reações fotossintéticas. Nesta situação é realizada a produção do radical O_2^- . O aumento de O_2^- pode levar a peroxidação lipídica, saturação dos ácidos graxos e danos na membrana (Kalefetoğlu e Ekmekci, 2005).

2.5 Estresse oxidativo

São conhecidas como espécies reativas de oxigênio (ERO) as moléculas produzidas no caminho metabólico de transformação do oxigênio molecular (O_2) a água (H_2O), com características de serem transitórias e altamente reativas, ocorrendo principalmente nas mitocôndrias, peroxissomos e cloroplastos. A cadeia de transporte de elétrons transfere elétrons com energia suficiente para reduzir o oxigênio molecular em água, e durante este processo, cerca de 0,2 a 2% do oxigênio molecular é parcialmente reduzido, gerando as espécies reativas de oxigênio. ERO podem se apresentar tanto como um radical livre quanto na forma molecular de um não radical. Elas são geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singleto (1O_2), adições de elétrons ao O_2 , causando sua redução ao superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroperoxila ($HO_2^{\cdot}$) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) (Baldo et al., 2011; Barbosa et al., 2014; Yaqoob et al., 2022).

As plantas desenvolveram estratégias de combate às ERO, por meios de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, evitando suas formações, sequestrando-as ou promovendo suas degradações. Entretanto, este equilíbrio pode ser alterado quando a planta passa por estresses bióticos ou abióticos, gerando um aumento significativo na geração de ERO, ocasionando o estresse

oxidativo (Barbosa et al., 2014). Em estado de estresse oxidativo, as ERO causam oxidação de proteínas, peroxidação de lipídios, dano a ácidos nucleicos e ativação da morte celular programada (Sharma et al., 2012).

A oxidação de proteínas é causada em um processo metabólico que degrada proteínas danificadas para promover a síntese de novas proteínas. A peroxidação de lipídios, por sua vez, acontece por que o ataque de agentes oxidantes torna as ligações de ácido graxo poliinsaturado mais fracas, como consequência, o hidrogênio torna-se mais propenso a ser sequestrado. A membrana das células é formada por altas quantidades de ácido graxo poliinsaturado, tornando-a suscetível ao ataque oxidativo. Quanto aos danos aos ácidos nucleicos, as ERO causam modificações de base, oxidação de desoxirribose, alterações mutagênicas, entre outras (Bandyopadhyay et al., 1999). Estes danos quando em grandes quantidades acabam gerando a ativação da morte celular programada, como uma forma de defesa do indivíduo para evitar que os danos se espalhem para outras células adjacentes.

A ERO superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é moderadamente reativo e impermeável a membrana, ou seja, não é capaz de atravessar membranas biológicas. O superóxido é rapidamente catalizado pela enzima superóxido dismutase (SOD) ou ascorbato peroxidase (APX) no relativamente mais estável peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Blokhina e Fagerstedt, 2010).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), diferentemente do superóxido, é uma ERO com capacidade de atravessar membranas celulares devido ao seu pequeno tamanho, além disso, o H_2O_2 é moderadamente reativo e possui uma meia vida longa. Com estas características o peróxido de hidrogênio possui a capacidade de difundir os danos para células vizinhas. Embora seja moderadamente reativo, sua grande problemática é a sua participação na formação do radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) na reação de Fenton catalisada por íons de metais de transição (Barbosa et al., 2014; Blokhina e Fagerstedt, 2010).

O radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) possui um único elétron desemparelhado é considerado o mais reativo pois possui capacidade de reagir com todas as biomoléculas, como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. As células não possuem um método de defesa enzimática para a eliminação de $OH^{\cdot}$, o que em grandes concentrações resulta em um grande estresse para a célula, levando a

sua morte. Devido a sua baixa meia vida, o ponto de ação do radical hidroxila é próximo ao seu ponto de formação. A oxidação orgânica causada pelo radical hidroxila pode acontecer de duas formas, pela adição de $\text{OH}^\bullet$ a molécula orgânica ou pela subtração de um átomo de hidrogênio (Sharma et al., 2012; Yaqoob et al., 2022).

O sistema de defesa da planta para controle das ERO pode ser dividido em duas categorias, o sistema de defesa não enzimático, que contem como agentes o ascorbato, glutathione, carotenoides, tocoferol e compostos fenólicos, e o sistema de defesa enzimático, contendo a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), entre outros (Sharma et al., 2012).

A superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima a agir no sistema antioxidante, uma metaloproteína que é encontrada tanto em organismos procarióticos e eucarióticos. A biossíntese de SOD é principalmente controlada pelo seu substrato, o radical livre superóxido ($\text{O}_2^\bullet$), onde há trabalhos que reportaram o aumento da quantidade de SOD de acordo com o aumento do superóxido na planta. A ação da SOD acontece de forma espontânea e nela a enzima usa duas moléculas de $\text{O}_2^\bullet$ e duas moléculas de H^+ , gerando uma molécula de H_2O_2 e outra de O_2 (Bandyopadhyay et al., 1999).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) intracelular é controlado pela célula por uma gama de enzimas, mas as mais importantes são a catalase e as peroxidases. A catalase age ao converter duas moléculas de H_2O_2 em duas moléculas de H_2O e oxigênio molecular. Como a CAT age sem agente redutor, ela proporciona para as plantas uma forma energeticamente eficiente de eliminar o peróxido de hidrogênio e é efetiva principalmente quando há a presença de altas quantidades de H_2O_2 .

Há uma grande gama de peroxidases que são ativas no sistema antioxidante das plantas, cada uma com sua peculiaridade e especialidade, como por exemplo a APX, que é uma heme-proteína que necessita do ácido ascórbico como redutor, age nos cloroplastos e mitocôndrias no ciclo ascorbato-glutathione, onde o H_2O_2 formado pela ação da SOD é reduzido pela APX. A GPX, por sua vez age oxidando doadores de elétrons aromáticos, como guaiacol, ao custo de peróxido de hidrogênio e é encontrada principalmente em vacúolos,

paredes celulares e citosol (Barbosa et al., 2014; Blokhina e Fagerstedt, 2010; Sharma et al., 2012). A guaiacol peroxidase (GPOX) é também conhecida como uma das enzimas do “estresse”, ela decompõe ácido indolacético e tem a função de biossíntese de etileno, lignina e age como defesa contra estresses bióticos ao consumir H_2O_2 , mas sua atividade pode variar de acordo com as condições de estresse e a espécie da planta (Ardelean et al., 2014).

2.6 Papel do ácido salicílico na indução de resistência

As plantas desenvolveram uma forma efetiva de se defender de patógenos através de defesas constitutivas e induzidas. Defesas constitutivas são barreiras previamente formadas, também conhecidas como defesa passiva, caracterizadas por alta expressão de proteínas relacionadas com a patogenicidade (Proteínas PR) e fitoalexinas durante a interação patógeno-hospedeiro. As defesas induzidas constituem de duas formas, resistência sistêmica induzida (ISR – Induced systemic resistance) e resistência sistêmica adquirida (SAR – Systemic Acquired Resistance). SAR é uma característica única das plantas, onde o potencial natural defensivo da planta é aumentado através de estímulos externos. A ativação de SAR é mediada com o sinal da molécula ácido salicílico e associada com acumulação de proteínas PR tanto local quanto sistematicamente (Sundar et al., 2015).

O ácido salicílico (AS) pertence ao um grupo diversificado de compostos fenólicos nas plantas, normalmente definidos como substâncias que possuem anel aromático contendo um grupo hidroxila ou seu derivado funcional, que pode ser ativamente conjugado ou metabolizado, e também transportado rapidamente do seu ponto inicial de aplicação para outros tecidos da planta (Popova et al., 1997). AS é sintetizado no cloroplasto via duas rotas separadas e independentes, phenylalanine ammonia-lyase e isochorismate synthase (Dempsey e Klessig, 2017).

O AS é um elicitor com papel de sinalizador em plantas, agindo principalmente na defesa contra estresse biótico, onde é transportado pelo floema para as partes não infectadas da planta, na forma de metilsalicilato (Borsatti et al., 2015). O AS ativa a síntese de proteínas que degradam polissacarídeos estruturais da parede celular de fungos, essas proteínas são

relacionadas a patogênese, com expressão das quitinases e β -1,3-glucanases. O AS também ativa a fenilalanina amônia-liase, sendo essa uma enzima importante entre o metabolismo primário e secundário de microrganismos (Bertoncelli et al., 2015).

A primeira evidência desta função pelo AS foi reportada por White (1979), onde plantas de tabaco apresentaram maior resistência ao vírus do mosaico do tabaco, reduzindo o número e tamanho das lesões necróticas. Recentes publicações têm demonstrado que o uso do AS, de forma isolada ou em conjunto com outras substâncias, promove resistência as plantas atacadas por patógenos, tanto para aplicação como pré-tratamento de sementes ou diretamente em plantas doentes (Narasimhamurthy et al., 2019, Maity et al., 2018, Leiwakabessy et al., 2017, Yuan et al., 2019, Shi et al., 2019, Chen et al., 2020, Zhou et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Jaboticabal – SP, em uma casa de vegetação com as coordenadas geográficas 21°14'46,68"S, 48°18'6,39"O e 600 m de altitude. A região possui o clima 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.

3.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4, com sete repetições por tratamento, onde o primeiro fator foi o de aplicação de ácido salicílico, onde um tratamento foi realizado a aplicação de 72 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e outro 0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O segundo fator do experimento foi o de estresse biótico e abiótico. Onde o primeiro tratamento foi o de estresse biótico (inoculação por *X. albilineans*), o segundo tratamento foi o de estresse abiótico, onde as plantas foram submetidas a deficiência hídrica, o terceiro tratamento foi o de inoculação por *X. albilineans* em conjunto com a aplicação da deficiência hídrica, por fim, o quarto tratamento foi o tratamento controle, onde as plantas

não passaram por nenhuma condição de estresse biótico ou abiótico. Estes tratamentos foram realizados de formas separadas para dois genótipos contrastantes de cana-de-açúcar, sendo um resistente a *X.albilineans*, a cultivar SP80-3280, e outro considerado suscetível à doença, denominado cultivar SP78-4467 (a seleção dos genótipos foi baseada em sintomas e quantificação da bactéria nos tecidos vegetais).

3.2 Condução do experimento

O experimento foi dividido em duas etapas: o cultivo de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar (MPB) em vasos de 5,0 dm³ preenchidos com areia lavada que recebeu solução nutritiva e o indutor de resistência (ácido salicílico). A segunda etapa foi o de transplante das mudas para vasos de 7,0 dm³ de solo, onde receberam os tratamentos de estresse (deficiência hídrica e a bactéria *X.albilineans*).

As estratégias utilizadas para aplicação de indução de resistência são muitas, e neste trabalho, a aplicação foi realizada no momento da produção das mudas pré brotadas (MPBs), levando-se em consideração a praticidade e baixo custo que esta técnica promove para o produtor, o que permite que as mudas sigam para o campo já com a resistência induzida e evitando a necessidade da aplicação dos indutores no campo, o que acabaria gerando grandes gastos operacionais.

O uso de um substrato inerte (areia) para a produção das mudas MPB é importante, pois evita qualquer problema com interferência de outros indutores de resistência naturais do solo, como por exemplo o silício (Si), que desempenha função de defesa na planta, combinando atributos físicos e químicos, como indução de várias proteínas de defesa e lignificação da parede celular (Schultz, 2012). Além disso, a areia foi previamente lavada com água destilada até a matéria orgânica ser removida.

O tempo da primeira etapa do experimento (criação das MPBs) foi de 120 dias, onde as mudas passaram por um período de 30 dias de crescimento e 90 dias de aplicação do indutor de resistência.

As aplicações do indutor foram realizadas a cada seis dias, em conjunto com a aplicação da solução nutritiva. Mas diferentemente da solução, o indutor

foi aplicado nas folhas das canas, com o auxílio de um spray, onde na aplicação as plantas tinham toda a sua superfície foliar atingida pelo indutor. No tratamento controle, a aplicação foi realizada a aplicação também via spray com água destilada.

A solução nutritiva aplicada consistiu na de Hoagland e Arnon (1950), com mudança na fonte de ferro para Fe-EDDHMA, considerando o dobro da concentração recomendada para a cana-de-açúcar em solução nutritiva, de acordo com a indicação de Cavalcante et al. (2016). A concentração da solução nutritiva foi mantida em 25% na primeira semana e após, em 50% até o final do experimento, para evitar a salinização do solo.

Após 120 dias, a segunda etapa do experimento foi iniciada, com duração de aproximadamente 45 dias. E assim, as aplicações foram cessadas tanto de solução nutritiva quanto a de AS.

No início desta etapa, as mudas de cana-de-açúcar foram transplantadas para vasos de 7,0 dm³ com solo. Solo este que foi analisado quanto a sua fertilidade e granulometria, conforme descritas por Andrade et al. (2001), onde a partir dos resultados, as aplicações de fertilizantes e corretivos foram estipuladas neste solo, para elevar a saturação de base para 60%, e realizando a devida mistura no solo e incubação por um período de 30 dias.

3.3 Inoculação da bactéria

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.

Após 145 dias de emergência das mudas, elas foram inoculadas com 100 µL da suspensão de *Xanthomonas albilineans* (OD=0.3, 108 CFU/mL, tampão fosfato salino, PBS) pelo método de decaptação (Rott et al., 1997; Brumbley et al., 2004) e os tratamentos controles foram falso inoculadas com 100 µL de PBS.

3.4 Deficiência hídrica

O tratamento de deficiência hídrica só ocorreu 10 dias após a inoculação da bactéria (155 DAE), onde foi retirada a irrigação das plantas até que o nível de CRA chegasse aos 40%. Esse valor de CRA foi definido através de um experimento piloto realizado anteriormente

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 é 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.

Os valores de armazenamento de água disponível no solo, capacidade de campo e ponto de murcha permanente foram determinados anteriormente ao transplântio das mudas para o solo. Havendo a saturação do solo com água e após a drenagem cessada, o ciclo de secagem ocorreu até que a variação na armazenagem de água torne-se insignificante.

Após a finalização do tempo de submissão de deficiência hídrica, as folhas foram coletadas e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido para análises bioquímicas posteriores.

3.5 Teores de clorofilas e carotenoides

Discos das folhas foram retirados e mesurados sob condição de penumbra, em triplicata, onde foram colocados em acetona 80% e o extrato foi transferido para tubos envoltos em papel alumínio e guardados em refrigeração por 5 dias. A leitura da solução contendo os pigmentos foi realizada em espectrofotômetro de mesa da marca Biochrom, nos seguintes comprimentos de onda: Clorofila α em 663 nm; Clorofila β em 647 nm e Carotenoides (caroteno [c]+ xantofilas [x]) em 470 nm (Lichtenthaler, 1987).

3.6 Eficiência quântica do FSII

A eficiência do fotossistema foi estimada pela medição da fluorescência da clorofila utilizando um fluorímetro de clorofila, da marca Opti-Sciences, modelo OS-30p. As plantas foram deixadas no escuro durante 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. Os seguintes parâmetros foram obtidos: F_0 (fluorescência mínima para excitação da clorofila) e F_m (fluorescência máxima para excitação da clorofila). Estes dois parâmetros foram usados para calcular F_v (variação na fluorescência calculada a partir de F_0 e F_m), F_v/F_m (razão de fluorescência variável e fluorescência máxima).

3.7 Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico da folha foi avaliado imediatamente após as coletas das folhas em uma câmara de pressão (modelo 1505F-EXP; SoilMoisture, Santa Barbara, Califórnia) (Scholander et al. 1965).

3.8 Peroxidação lipídica

Esta análise foi estimada pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Para demonstrar a peroxidação lipídica através da detecção do composto aldeído, foi utilizada a análise de malondialdeído (MDA). A concentração dos equivalentes de MDA foi contabilizada usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ m}^{-1}\text{cm}^{-1}$, com leituras entre 535 e 600 nm em espectrofotômetro de mesa da marca Biochrom.

3.9 Prolina

Para o teor de prolina, amostras do tecido vegetal foram colocadas em ácido sulfossalicílico a 3% e filtradas. O filtrado da mistura foi adicionado a 1 mL de ninidrina e ácido acético glacial e, colocado em água fervente por 1 h. Posteriormente, 4 mL de tolueno (4 mL) foi adicionado a mistura e a leitura realizada em espectrofotômetro de mesa da marca Biochrom a 520 nm. O teor de prolina foi determinado como descrito por Bates (1972).

3.10 Superóxido dismutase – SOD (EC 1.15.1.1)

A sua atividade foi determinada com o auxílio de um espectrofotômetro, com a reação 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 extraída em um meio de reação de 5 ml com tampão fosfato de sódio, 1 mM de NBT, 10 mM de EDTA, 50 mM de metionina e 0,1 mM de 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 em espectrofotômetro de mesa da marca Biochrom (Giannopolitis & Ries, 1977).

3.11 Guaiacol Peroxidase- GPOX (EC 1.11.1.)

A atividade da GPOX foi determinada segundo a descrição de Gomes-Junior et al. (2007), onde 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. O fim da reação foi realizado por arrefecimento rápido num banho água com gelo, seguido pela adição de 25 µl a 2% da solução de metabisulfureto de sódio. Por fim, a mistura foi mantida durante 10 min, e a atividade determinada em espectrofotômetro com leituras em absorbância a 450 nm.

3.12 Glutathione peroxidase-GSH-Px (EC 1.11.1.9)

A atividade da GPX foi determinada como descrito por Flohé e Cunzler (1984), com algumas modificações. O extrato vegetal foi adicionado em uma mistura contendo 550 µl de tampão fosfato de potássio 100 mM, 100 µl de glutathione redutase (0,24 U), 100 µl de glutathione reduzida 10 mM e 25 µl de azida sódica 1 mM. A reação foi iniciada após a adição de 100 µl de NADPH 1,5 mM e 100 µl de H₂O₂ 1,5 mM a 340 nm. A reação ocorreu a 37°C e foi monitorada durante 5 minutos. A atividade enzimática foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 6,22 mM⁻¹ cm⁻¹.

3.13 Forma de análise dos resultados

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).

4 RESULTADOS

4.1 Clorofila e Carotenoides

A clorofila na cultivar SP80-3280, como pode ser visto na Figura 1, apresentou diferença estatística em plantas controle, onde a cana-de-açúcar que não foi submetida ao AS apresentou maior concentração de clorofila que plantas onde foi aplicado o AS. O mesmo tratamento também apresentou maior concentração quando comparado com as plantas inoculadas e sob deficiência hídrica. Na cultivar SP78-4467 plantas controle e plantas submetidas a deficiência hídrica apresentaram maiores concentrações de clorofila em plantas não submetidas a aplicação de AS que plantas submetidas. Plantas controle também apresentaram maior concentração que as plantas inoculadas e sob deficiência hídrica, e não submetidas ao AS. Em plantas em que foi realizada a aplicação de AS é possível notar maiores concentrações em plantas controle e que foram inoculadas com bactéria quando comparadas com plantas submetidas à deficiência hídrica.

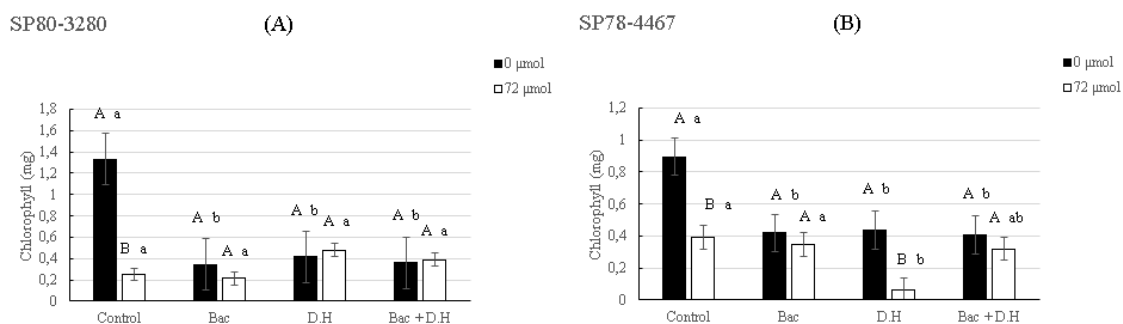


Figura 1 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 µmol L-1 e 72 µmol L-1) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na clorofila total em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

Quanto aos carotenoides (Figura 2), plantas controle apresentaram maior concentração que os demais tratamentos quando não submetidas ao tratamento de AS na cultivar SP80-3280. Em plantas submetidas ao AS foi constatado maior concentração em plantas controle quando comparadas com plantas inoculadas pela bactéria. Na cultivar SP78-4467 plantas controle não submetidas ao AS apresentaram maior concentração de carotenoides do que plantas inoculadas e sob deficiência hídrica. O mesmo tratamento também apresentou maior concentração que plantas controle sob o efeito de AS. Em plantas submetidas ao AS o tratamento deficiência hídrica apresentou menor concentração que plantas sob deficiência hídrica e inoculadas pela bactéria. Plantas inoculadas e sob deficiência hídrica e com AS apresentaram maior concentração de carotenoides que o mesmo tratamento, mas sem a presença do AS.

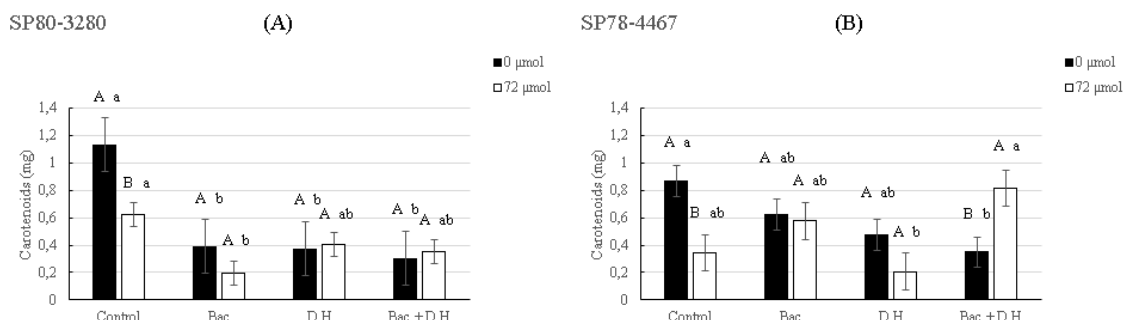


Figura 2 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 µmol L⁻¹ e 72 µmol L⁻¹) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica nos carotenoides em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.2 Eficiência quântica do FSII

Para a eficiência quântica do FSII (Fv/Fm), como pode ser visto na Figura 3, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa em ambos os cultivares para nenhum tratamento.

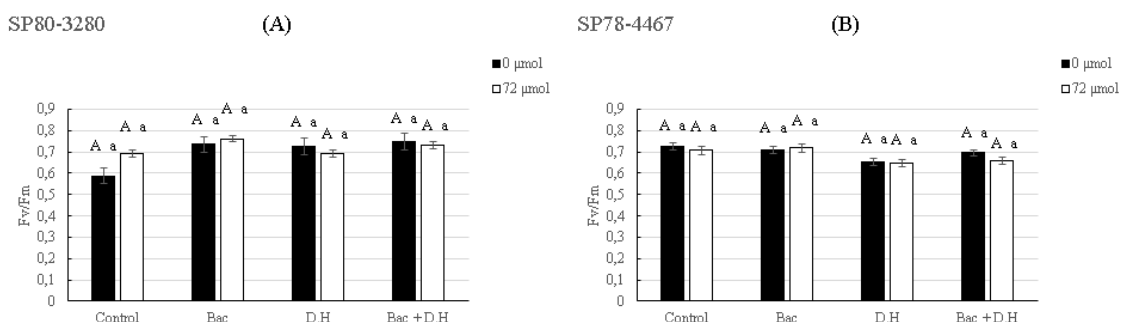


Figura 3 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 µmol L⁻¹ e 72 µmol L⁻¹) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.3 Potencial hídrico foliar

Quanto à análise de potencial hídrico foliar (Figura 4), na cultivar resistente a bactéria foi encontrada menor potencial hídrico em plantas inoculadas e submetidas a deficiência hídrica e sem aplicação do AS quando comparada aos demais tratamentos. Em plantas submetidas ao AS, plantas inoculadas e sob deficiência hídrica apresentaram menor potencial hídrico que plantas inoculadas. O tratamento deficiência hídrica também apresentou menor potencial hídrico quando não submetidas ao AS quando comparado com o mesmo tratamento, mas submetidas ao AS. Na cultivar SP78-4467, tanto plantas submetidas ao AS quanto plantas não inoculadas apresentaram menor potencial hídrico foliar que os demais tratamentos.

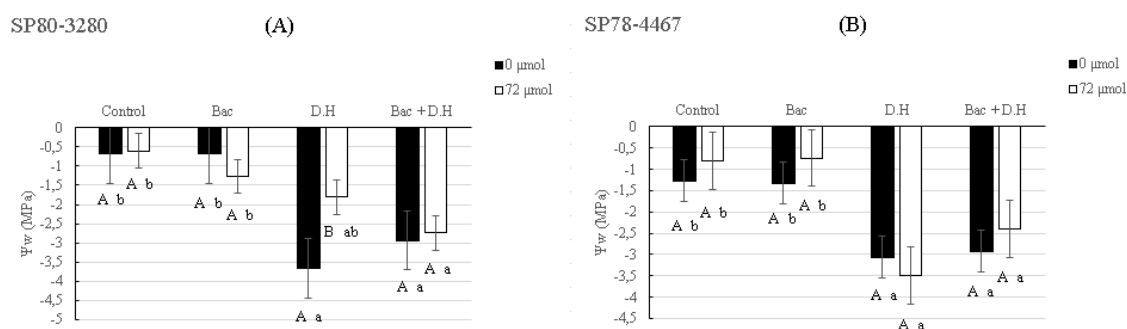


Figura 4 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 72 $\mu\text{mol L}^{-1}$) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica no potencial hídrico foliar de dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.4 Peroxidação lipídica

A cultivar SP80-3280 não apresentou diferença estatística para a análise de MDA (Figura 5). Na cultivar não resistente a bactéria também não apresentou diferença estatística entre os tratamentos.

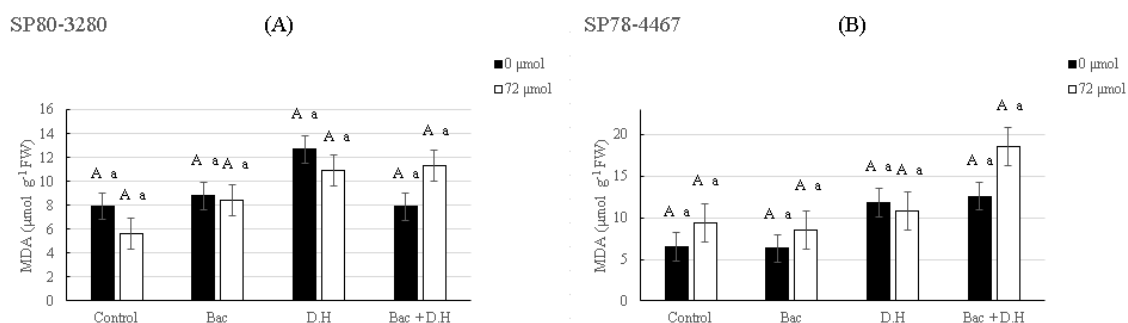


Figura 5 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 72 $\mu\text{mol L}^{-1}$) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na peroxidação lipídica em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.5 Prolina

Para a análise de prolina (Figura 6), não foi encontrada diferença significativa em nenhum tratamento na cultivar SP80-3280. Na cultivar não resistente a doença, plantas submetidas ao tratamento com AS apresentaram maior concentração de prolina quando inoculadas com a bactéria e sob deficiência hídrica quando comparadas com o controle e plantas inoculadas. Plantas inoculadas e sob deficiência hídrica também apresentaram maior concentração de prolina quando submetidas ao AS quando comparadas com o mesmo tratamento, mas sem a aplicação de AS.

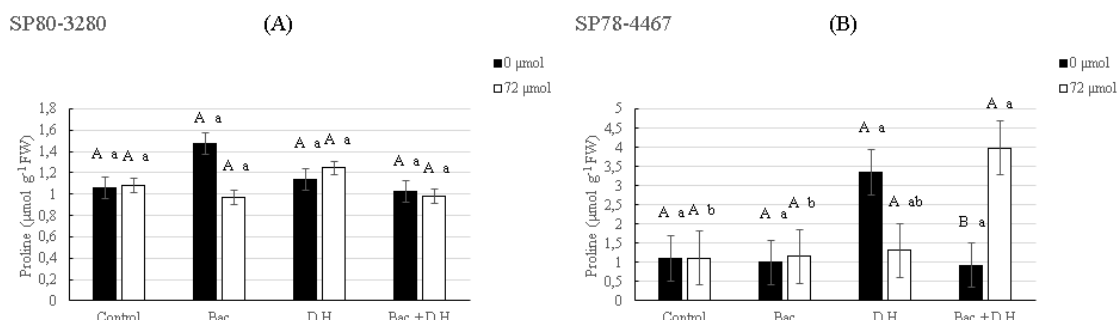


Figura 6 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 72 $\mu\text{mol L}^{-1}$) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na prolina em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.6 Superóxido dismutase

Quanto a análise de SOD (Figura 7) foi encontrado maiores atividades de SOD em plantas controle quando comparadas com o tratamento bactéria e deficiência hídrica em conjunto quando não submetidas ao AS na cultivar resistente a doença. Em plantas que foram submetidas ao AS foi encontrado maior atividade em plantas inoculadas e sob deficiência hídrica quando comparado com o tratamento deficiência hídrica. Plantas inoculadas e sob deficiência hídrica e submetidas ao AS apresentaram maior atividade da enzima que plantas submetidas aos mesmos estresses, mas não expostas ao AS. Na cultivar SP78-4467 foi encontrada diferença somente em plantas controle, onde plantas submetidas ao AS apresentaram maior atividade de SOD que plantas que não submetidas.

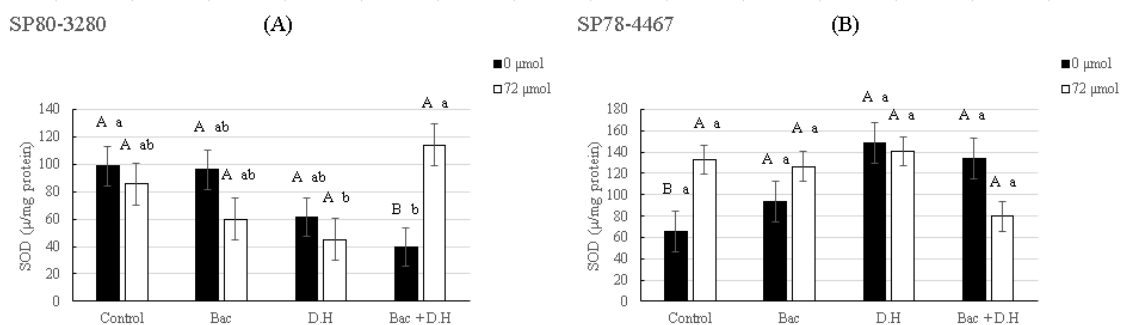


Figura 7 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 72 $\mu\text{mol L}^{-1}$) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na superóxido dismutase (SOD) em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.7 Guaiacol Peroxidase

Não foi encontrada diferença estatística entre tratamentos para cultivar SP80-3280 na análise de GPOX (Figura 8). Para a cultivar não resistente foi encontrado diferença somente entre o tratamento controle e o tratamento bactéria e deficiência hídrica, onde em ambos os tratamentos as plantas que foram submetidas ao AS apresentaram maior atividade de GPOX que plantas que não foram submetidas.

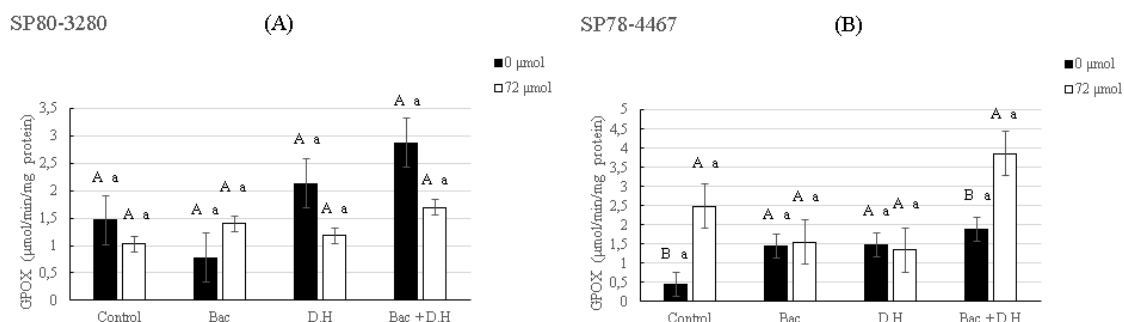


Figura 8 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 µmol L-1 e 72 µmol L-1) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica no guaiacol peroxidase (GPOX) em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

4.8 Glutathione peroxidase

Na análise de GSH-Px (Figura 9) na cultivar resistente a doença foi encontrada diferença estatisticamente significativa em plantas inoculadas, apresentando maior atividade da enzima que os demais tratamentos quando não submetidas ao AS. Plantas submetidas ao tratamento de AS, inoculadas e sob deficiência hídrica apresentaram maior atividade da enzima que os demais tratamentos. Plantas que não foram realizadas as aplicações de AS apresentaram maior atividade de GSH-Px que plantas que receberam AS e foram inoculadas. Por outro lado, plantas inoculadas e sob deficiência hídrica, que passaram pelo tratamento com AS apresentaram maior atividades que plantas que não foram submetidas ao AS. Na cultivar SP78-4467, por sua vez, não foi encontrada diferença estatística entre nenhum tratamento.

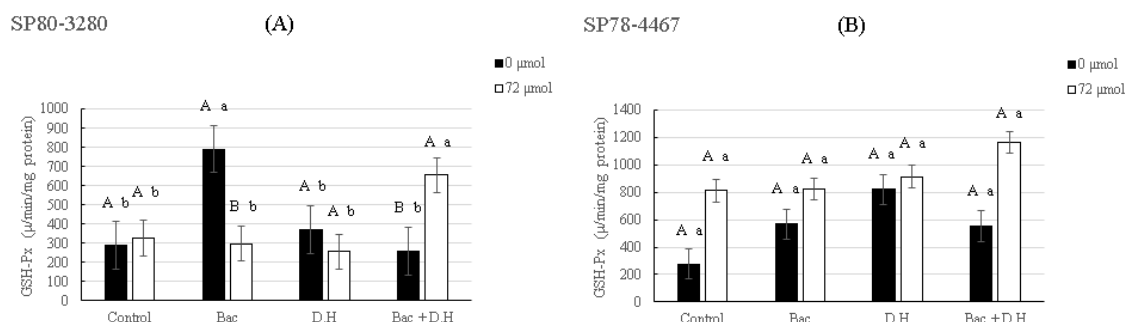


Figura 9 Efeito da aplicação de duas concentrações de ácido salicílico (0 μmol L-1 e 72 μmol L-1) nos tratamentos Controle, Bactéria, Deficiência Hídrica e Bactéria + Deficiência Hídrica na glutathiona peroxidase (GSH-Px) em dois cultivares de cana-de-açúcar: cultivar SP80-3280 (A), considerado um cultivar resistente a doença e cultivar SP78-4467 (B), caracterizado como um cultivar susceptível a doença. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo tratamento as e letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre diferentes tratamentos.

5 DISCUSSÃO

A deficiência hídrica é considerada o fator abiótico mais limitante no cultivo da cana-de-açúcar, impactando na produtividade até em épocas chuvosas, devido a períodos de seca no verão. A deficiência hídrica foi uma das responsáveis por perdas progressivas na produção de cana-de-açúcar na safra 20/21, resultando em uma perda estimada de 15% em 2021 (Contiliani et al., 2022). A escaldadura da folha, por sua vez, causa grande dano econômico devido as grandes perdas na produtividade e qualidade do caldo que ela causa, sendo considerada um problema em mais de 65 países tropicais. Em cultivares susceptíveis a produtividade pode ser reduzida em mais que 40% e a quantidade de açúcar em até 20% (Hechavarría et al., 2022). As condições meteorológicas são os fatores que mais afetam a ocorrência da doença nas plantas, além de ser o fator que apresenta maior variabilidade temporal. Portanto, o ambiente é um componente muito relevante na interação entre patógeno-hospedeiro (Monteiro et al., 2006).

Os pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenoides) são estruturas químicas facilmente degradáveis e instáveis. A determinação dos teores destes

pigmentos é extremamente importante para, em função de diferentes fatores, compreender a resposta fisiológica das plantas (Thiesen et al., 2017). Os resultados neste trabalho demonstraram que a doença e a deficiência hídrica causaram a diminuição dos pigmentos fotossintéticos nas plantas de cana-de-açúcar. A bactéria *Xanthomonas albilineans* é responsável pela produção da fitotoxina albicidina, uma girase que bloqueia a diferenciação de cloroplastos (Pieretti et al., 2015). A degradação destes pigmentos foi um indicador rápido da resposta de plantas a deficiência hídrica em folhas de cana-de-açúcar, onde está degradação ocorre principalmente pelo efeito de espécies reativas de oxigênio (Suriyan & Chalermopol, 2009; Leanasawat et al., 2022).

O AS também causou uma queda significativa na concentração destes pigmentos no tratamento controle, o que pode estar relacionado ao que foi reportado por Canakci e Munzuroğlu (2009), onde altas concentrações do indutor de resistência causaram efeitos deletérios nas células das plantas. Na cultivar SP78-4467 o AS obteve um resultado positivo na concentração de carotenoides em plantas inoculadas e sob deficiência hídrica, indicando que neste caso ele foi efetivo como um indutor de resistência. A fotossíntese é parte importante do crescimento vegetal e seu metabolismo, sendo extremamente sensível a estresses bióticos e abióticos. Ataques por patógenos geralmente causam diferenças drásticas no aparato fotossintético das culturas, o que pode ser averiguado através da fluorescência (Mantz et al., 2021). F_v/F_m é denominado como rendimento quântico do FSII, sendo a avaliação desse parâmetro útil para medir alterações na capacidade fotossintética de plantas sobre estresses, valores baixos de F_v/F_m indicam plantas que estão com sintomas de estresse (Cruz et al., 2009). Embora houvesse diminuição na concentração dos pigmentos fotossintéticos das plantas pelos tratamentos aplicados neste trabalho, não foi alta o suficiente para diminuir a capacidade fotossintética da cana-de-açúcar, fato este que pode ser observado pela falta de diferença estatística entre os tratamentos na análise de F_v/F_m neste trabalho.

Os tratamentos que foram submetidos ao déficit hídrico e a inoculação em conjunto com a deficiência hídrica apresentaram, de maneira geral, menor potencial hídrico foliar que os demais tratamentos em ambas as cultivares, o

mesmo resultado também foi reportado por Leanasawat et al. (2022), onde plantas de cana-de-açúcar apresentaram menor potencial hídrico em plantas submetidas a deficiência hídrica. A característica de indutor de resistência do AS é notado no tratamento deficiência hídrica na cultivar SP80-3280, causando um maior potencial hídrico foliar, isto pode ocorrer devido ao AS estar relacionado a expressão de genes encontrado exclusivamente em cultivares resistentes a seca (Robiati Telles et al., 2019; Feng et al., 2022; Sun et al., 2022).

Quando o patógeno danifica o aparato fotossintético é possível que a energia recebida pela absorção da luz pela planta fique em excesso, causando uma excitação nos pigmentos fotossintéticos, levando a produção de ERO. (Munné-Bosch et al., 2003). O MDA é um reconhecido indicador de dano celular nas plantas causado pela peroxidação lipídica (Heath e Packer, 1968). A falta de diferença estatisticamente significativa entre plantas controle e plantas submetidas ao estresse pode ser atribuída ao pouco tempo em que as plantas ficaram expostas aos fatores estressantes, onde em plantas de grande porte como a cana-de-açúcar, talvez fosse necessário mais tempo para que os fatores causassem dano celular significativo na planta.

Durante estresses bióticos e abióticos a planta pode sintetizar o aminoácido prolina, que pode agir como um osmólito que acumula em tecidos expostos ao estresse. É uma fonte de carbono e nitrogênio e da proteção contra a desnaturação proteica (Koç, 2022). Demonstrando como diferentes cultivares podem responder de forma diferente aos mesmos estímulos, o efeito positivo do AS ocorreu somente na cultivar não resistente a doença e quando esta foi inoculada e estava sob deficiência hídrica. Diversos estudos recentes já reportaram o aumento da atividade da prolina devido à aplicação de AS em plantas submetidas a estresses bióticos ou abióticos (Damalas e Koutroubas, 2022; Lastochkina et al., 2022; Noori et al., 2022). Quanto a cultivar resistente a bactéria, é possível afirmar que nenhum dos fatores estressantes aplicados neste trabalho foi capaz de ativar essa via de resposta da planta ao se observar a falta de diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

Os resultados mostraram que a aplicação de AS na cana-de-açúcar pode aumentar a atividade do sistema de defesa antioxidante das plantas (SOD,

GPOX, GSH-Px) em diferentes condições. Novamente as plantas inoculadas e sob a deficiência hídrica apresentaram um melhor efeito de indução de resistência pelo AS, como pode ser visto na cultivar SP80-3280 na atividade da superóxido dismutase (SOD) e na cultivar SP78-4467 no guaiacol peroxidase (GPOX). Estudos recentes também reportaram o aumento da atividade de SOD (Osei et al., 2022; Noori et al., 2022; González-Villagra et al., 2022) e GPOX (Alamer e Fayez, 2020) como resultado da aplicação de AS em diferentes situações de estresses. A maior atividade das enzimas antioxidantes indica uma intensificação na defesa antioxidante das plantas, sendo a SOD efetiva no mecanismo de defesa primário da planta contra estresse oxidativo, convertendo o superóxido ($O_2^{\bullet-}$) para formas mais estáveis, como o H_2O_2 (Roy et al., 2016, Afzal et al., 2014). Neste trabalho, quando não submetido ao AS, é possível notar uma queda da atividade da SOD quando comparamos o controle com plantas inoculadas e sob deficiência hídrica, resultado corroborado por Noori et al. (2022), onde plantas de *Cuminum cyminum* também apresentaram menor atividade da enzima quando submetidas ao déficit hídrico.

Com o aumento da concentração de H_2O_2 nas plantas, são as peroxidases, como a GPOX e a GSH-Px enzimas chave na defesa antioxidante, atuando na degradação do H_2O_2 . A GPOX, além de consumir o H_2O_2 na presença de um doador de hidrogênio e aceitador de elétron, ela também decompõe ácido indoláctico e possui uma função na biossíntese de lignina e etileno (Ardelean et al., 2014). A aplicação do AS demonstrou efetivo em sua função como indutor de resistência na cultivar SP78-4467, o que pode ser comprovado ao se observar o aumento da atividade das enzimas SOD e GPOX no tratamento controle, quando comparado com o mesmo tratamento, mas sem a aplicação do AS.

A GSH-Px está envolvida em vários papéis importantes, como homeostase redox, sinalização de ABA, catalização da redução de H_2O_2 , além da remoção de peróxidos lipídicos (Passaia et al., 2014, Racchi, 2013, Zhai et al., 2013). Na cultivar SP80-3280 é possível notar um aumento na atividade da GSH-Px quando a planta é inoculada com a bactéria, mas sem estar submetida ao AS. Segundo Janda et al. (2013), esta é uma resposta esperada pela planta

como combate ao estresse oxidativo causado pela doença. Quando submetido ao AS, o mesmo tratamento apresentou uma grande queda na atividade desta enzima, resultado este que também foi encontrado em plantas de cereja doce pelos autores com aplicação de AS na concentração de 2mM (Xu e Tian, 2008). Também é possível notar como o sistema de defesa antioxidante de diferentes cultivares respondem de forma diferente a inoculação pela bactéria, deficiência hídrica e a aplicação do AS, onde na cultivar resistente a doença estes fatores não ativaram a via de defesa antioxidante GPOX, e o mesmo também aconteceu na enzima GSH-Px para a cultivar SP78-4467.

De maneira geral, é possível afirmar que o AS demonstrou efeitos positivos como um indutor de resistência na cana-de-açúcar, mas que cultivares diferentes podem responder também de forma diferente ao indutor.

6 CONCLUSÃO

De maneira geral, os resultados demonstram que a bactéria e a deficiência hídrica provocam alterações e danos no metabolismo das plantas. O AS causou a diminuição da concentração de pigmentos fotossintéticos quando aplicado de forma isolada, mas em situação de estresse causou o aumento da concentração de carotenoides, atividades da prolina e GPOX na cultivar susceptível a doença, e aumento do potencial hídrico foliar, atividade da SOD e GSH-Px na cultivar resistente a doença, resultando num aumento das respostas antioxidantes enzimáticas da cana-de-açúcar. Assim, é possível concluir que o AS tem potencial para ser utilizado como indutor de resistência na cana-de-açúcar inoculada e sob deficiência hídrica, sendo mais eficiente na cultivar susceptível a doença.

7 REFERÊNCIAS

- AFZAL F., KHURSHID R., ASHRAF M., KAZI A.G. (2014) Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Response to Pathogens and Wounding. **Oxidative Stress and Antioxidant Defense** 13:397-424.
- ALAMER, K. H., & FAYEZ, K. A. (2020). Impact of salicylic acid on the growth and physiological activities of parsley plants under lead toxicity. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 26(7), 1361-1373.

AMNAA; XIA, Y.B; FAROOQ, M.A.C; JAVED, M.T.D; KAMRAN, M.A.E; MUKHTAR, T.A; ALI, J.A; TABASSUM, T.F; REHMAN, S.U.G; HUSSAIN MUNIS, M.F.A; SULTAN, T.F; CHAUDHARY, H.J (2020). Multi-stress tolerant PGPR *Bacillus xiamenensis* PM14 activating sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) red rot disease resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**.

ARDELEAN, M., CACHITA-COSMA, D., ARDELEAN, A., LADASIU, C., MIHALI, V. C. (2014) The effect of heat stress on hyperhydricity and guaiacol peroxidase activity (gpox) at the foliar lamina of *Sedum telephium* l. ssp. *maximum* (l.) krock. vitroplantlets. **Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" din Iasi**, v. 60, n. 2, p. 21.

ASHWIN, N. M. R.; BARNABAS, L.; SUNDAR, A. R.; MALATHI, P.; VISWANATHAN, R.; MASI, A.; AGRAWAL, G.K.C.D; RAKWAL, R. (2017) Comparative secretome analysis of *Colletotrichum falcatum* identifies a ceratoplatanin protein (EPL1) as a potential pathogen-associated molecular pattern (PAMP) inducing systemic resistance in sugarcane. **Journal of proteomics**, v. 169, p. 2-20.

BALDO, M., STANGARLIN, J. R., FRANZENER, G., ASSI, L., KUHN, O. J., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. (2011) Detecção in situ de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 174-179.

BANDYOPADHYAY, U., DAS, D., BANERJEE, R. K. (1999) Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. **Current science**, p. 658-666.

BARBOSA, M. R., SILVA, M. M. D. A., WILLADINO, L., ULISSES, C. CAMARA, T. R. (2014) Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207.

BERTONCELLI, D. J., MAZARO, S. M., ROCHA, R. D. C. D. S., POSSENTI, J. C., DOS SANTOS REY, M., ZORZZI, I. C. (2015) Ácido salicílico na indução de resistência a doença sem pepino e controle de *Pythium* sp. in vitro. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 2, p. 124-131.

BLOKHINA, O., FAGERSTEDT, K. V. (2010) Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems. **Physiologia Plantarum**, v. 138, n. 4, p. 447-462.

BORSATTI, F. C., MAZARO, S. M., DANNER, M. A., NAVA, G. A., DALACOSTA, N. L. (2015) Indução de resistência e qualidade pós-colheita de amora-preta tratada com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 318-326.

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, p. 175-183.

CANAKCI, S., MUNZUROĞLU, Ö. (2009) Effects of salicylic acid on growth and chlorophyll destruction of some plant tissues. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 5, p. 577-581.

CAVALCANTE, V.S., PRADO, R. M., VASCONCELOS, R. L., CAMPOS, C.N.S. (2016) Iron concentrations in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivated in nutriente solution. **Agrociência**, v.50, p. 867-875.

CERVANTES-ROMERO, B., PÉREZ-RODRÍGUEZ, P., ROTT, P., VALDEZ-BALERO, A., OSNAYA-GONZÁLEZ, M., ROBLEDO-PAZ, A., HERNÁNDEZ-JUÁREZ, C., CROSSA, J., ROSAS-SAITO, G., SILVA-ROJAS, H. V. (2021) Distribution, phylogeny, and pathogenicity of *Xanthomonas albilineans* causing sugarcane leaf scald in Mexico. **Crop Protection**, v. 150, p. 105799.

CHEN, Y., SUN, J., LIN, H., LIN, M., LIN, Y., WANG, H., HUNG, Y. C. (2020) Salicylic acid reduces the incidence of *Phomopsis longanae* Chi infection in harvested longan fruit by affecting the energy status and respiratory metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 160, p. 111035.

CHOUDHARY, D. K., PRAKASH, A., JOHRI, B. N. (2007) Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento (2022). Acompanhamento de safra brasileira de cana-de-açúcar. Safra 2019/2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. **Último acesso**: 01/05/2022.

CONTILIANI, D. F., DE OLIVEIRA NEBÓ, J. F. C., RIBEIRO, R. V., ANDRADE, L. M., PEIXOTO JÚNIOR, R. F., LEMBKE, C. G., MACHADO, R.S., SILVA, D.N., BELLOTI, M., SOUZA, G.M., PERECIN, D., PEREIRA, T.C., PIRES, R.C.M., FONTOURA, P.R., LANDELL, M.G.A., FIGUEIRA, A., CRESTE, S. (2022). Leaf transcriptome profiling of contrasting sugarcane genotypes for drought tolerance under field conditions. **Scientific Reports**, 12(1), 1-12.

CRUZ, M. D. C. M. D., SIQUEIRA, D. L. D., SALOMÃO, L. C. C., CECON, P. R. (2009) Fluorescência da clorofila a em folhas de tangerineira 'Ponkan' e limeira ácida 'Tahiti' submetidas ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 896-901.

CTC – Centro de Tecnologia Canavieira (2018). Pragas e doenças da cana-de-açúcar. Disponível em: <https://ctc.com.br/produtos/wp-content/uploads/2018/07/Caderneta-de-Pragas-e-Doenças-da-Cana-de-açucar-CTC.pdf>. **Último acesso**: 19/04/2022.

DAMALAS, C. A., & KOUTROUBAS, S. D. (2022). Exogenous application of salicylic acid for regulation of sunflower growth under abiotic stress: a systematic review. **Biologia**, 1-13.

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.

DEMPSEY, D. M. A., KLESSIG, D. F. (2017) How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans?. **BMC biology**, v. 15, n. 1, p. 1-11.

FANG, Y., & XIONG, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and molecular life sciences**, 72(4), 673-689.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020). Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity Último acesso: 01/05/2022.

FLOHÉ, L.; GUNZLER, W.A. (1984) Assays of glutathione peroxidase. In: **Methods in Enzymology**, vol. 105. Academic Press, p. 114–120.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. (1977) Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314.

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**, v. 34, p. 449–456.

GONZÁLEZ-VILLAGRA, J., REYES-DÍAZ, M. M., TIGHE-NEIRA, R., INOSTROZA-BLANCHETEAU, C., ESCOBAR, A. L., BRAVO, L. A. (2022). Salicylic Acid Improves Antioxidant Defense System and Photosynthetic Performance in *Aristotelia chilensis* Plants Subjected to Moderate Drought Stress. **Plants**, 11(5), 639.

HEATH, R. L., PACKER, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198.

HECHAVARRÍA, L. O., PUCHADES IZAGUIRRE, Y., PÉREZ PÉREZ, Y., MICHAVILA, G., CASAS GONZÁLEZ, M. A., PÉREZ PÉREZ, J., JAIME, O.C., DELGADO, J.M., MALAVERA, A.P., LOPEZ, J.M., CASTAGNARO, A.P., PERERA, M. F. (2022). Assessment of sugarcane cultivars with stable reaction to *Xanthomonas albilineans* under mechanical inoculation conditions. **Tropical Plant Pathology**, 47(2), 214-221.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. (1950) The water culture methods for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station**, Berkeley, CA.

JANDA, T., SZALAI, G., RIOA-GONZALEZ, K., VEISA, O., PÁLDI, E. (2003) Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. - **Plant Sci.** 164: 301-306.

KALEFETOĞLU, T., & EKMEKCI, Y. (2005). The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. **Gazi University Journal of Science**, 18(4), 723-740.

KOÇ, E. (2022) Physiological responses of resistant and susceptible pepper plants to exogenous proline application under *Phytophthora capsici* stress. **Acta Botanica Croatica**, v. 81, n. 1, 2022.

LASTOCHKINA, O., PUSENKOVA, L., GARSHINA, D., KASNAK, C., PALAMUTOGLU, R., SHPIRNAYA, I., MARDANSHIN, I., MAKSIMOV, I. (2022). Improving the Biocontrol Potential of Endophytic Bacteria *Bacillus subtilis* with Salicylic Acid against *Phytophthora infestans*-Caused Postharvest Potato Tuber Late Blight and Impact on Stored Tubers Quality. **Horticulturae**, 8(2), 117.

LEANASAWAT, N., W. LONTOM, P. SONGSRI AND M. KOSITTRAKUN, (2022). Physiological responses of interspecific and intergeneric hybrids of sugarcane under early drought stress conditions. **Asian J. Plant Sci.**, 21: 49-55.

LEIWAKABESSY, C., SINAGA, M. S., MUTAQIEN, K. H., TRIKOESOEMANINGTYAS, T., GIYANTO, G. (2017) The Endophytic Bacteria, Salicylic Acid, and their Combination as Inducers of Rice Resistance Against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. AGRIVITA, **Journal of Agricultural Science**, v. 40, n. 1, p. 25-35.

LICHTENTHALER, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in enzymology**, v. 148, p. 350-382.

LU, R., LIU, Z., SHAO, Y., SU, J., LI, X., SUN, F., ZHANG, Y.B., LI, S.A., ZHANG, Y.C, CUI, J.B., ZHOU, Y.A., SHEN, W., ZHOU, T. (2020) Nitric Oxide Enhances Rice Resistance to Rice Black-Streaked Dwarf Virus Infection. **Rice**, v. 13, n. 1, p. 1-13.

MAITY, A., SHARMA, J., SARKAR, A., MORE, A. K., PAL, R. K., NAGANE, V. P., MAITY, A. (2018) Salicylic acid mediated multi-pronged strategy to combat bacterial blight disease (*Xanthomonas axonopodispv. punicae*) in pomegranate. **European Journal of Plant Pathology**, v. 150, n. 4, p. 923-937.

MANTZ, G. M., ROSSI, F. R., VIRETTO, P. E., NOELTING, M. C., MAIALE, S. J. (2021) Stem canker caused by *Phomopsis* spp. Induces changes in polyamine levels and chlorophyll fluorescence parameters in pecan leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 761-769.

MONTEIRO, J. E. B. D. A., SENTELHAS, P. C., & CHIAVEGATO, E. J. (2006). Ambiente tem papel decisivo na ocorrência de doenças. **Visão Agrícola**, 3(6), 85-87.

MUNNÉ-BOSCH, S., JUBANY-MARÍ, T., ALEGRE, L. (2003) Enhanced photo- and antioxidative protection, and hydrogen peroxide accumulation in drought-stressed *Cistus clusii* and *Cistus albidus* plants. **Tree Physiology**, v. 23, n. 1, p. 1-12.

NARASIMHAMURTHY, K., SOUMYA, K., UDAYASHANKAR, A. C., SRINIVAS, C., NIRANJANA, S. R. (2019) Elicitation of innate immunity in tomato by salicylic acid and *Amomum nilgircum* against *Ralstonia solanacearum*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101414.

NOORI, H., MOOSAVI, S., SEGHATOLESLAMI, M.J., FAZELI ROSTAMPOUR, M. (2022). Morpho-physiological responses of cumin (*Cuminum cyminum* L.) to the application of growth regulators under drought stress. **Iranian Journal of Plant Physiology**, 12(1), 4013-4025.

OSEI, R., YANG, C., CAI, F., & BOAMAH, S. (2022). Mechanisms underlying salicylic acid on root parameters and antioxidant enzyme activity of potato plant under *Lelliottia amnigena* stress. **Chilean journal of agricultural research**, 82(2), 225-233.

PASSAIA G., CAVERZAN A., FONINI L.S., CARVALHO F.E.L., SILVEIRA J.A.G., MARGIS-PINHEIRO, M. (2014) Chloroplastic and mitochondrial GPX genes play a critical role in rice development. **Biologia Plantarum** 58:375-378.

PIERETTI, I., PESIC, A., PETRAS, D., ROYER, M., SÜSSMUTH, R. D., COCIANCICH, S. (2015) What makes *Xanthomonas albilineans* unique amongst xanthomonads? **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 289.

POPOVA, L., PANCHEVA, T., UZUNOVA, A. (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. **Bulg. J. Plant Physiol**, v. 23, n. 1-2, p. 85-93.

RACCHI M.L. (2013) Antioxidant Defenses in Plants with Attention to *Prunus* and *Citrus* spp. **A review Antioxidants** 2:340-369.

R CORE TEAM. "R: A language and environment for statistical computing; 2015.", 2018. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. **Último acesso:** 01/05/2022

RICAUD, C., EGAN, B. T., GILLASPIE, A. G., HUGHES, C. G. (2012) Diseases of sugarcane: major diseases. **Elsevier**, p. 39-58.

ROBIATI TELLES, B., DE SOUZA CARVALHO, F. M., DA SILVA VANTINI, J., ANDRUCIOLI BELESINI, A., MARQUES DE CASTRO, G., GIACHETTO, P. F., DOMINGUES CARLIN, S., RAMOS DA SILVA, T., GUARIZ PINHEIRO, D., CAZETTA, J.O., TIRABOSCHI FERRO, M. I. (2019). Prolonged water deficit reveals new profile of sugarcane gene expression and metabolic pathway related to tolerance. **Sugar Tech**, 21(3), 451-461.

ROMANAZZI, G., SANZANI, S. M., BI, Y., TIAN, S., MARTÍNEZ, P. G., ALKAN, N. (2016) Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 82-94.

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.

ROY P.R.; UL-ARIF M.T.; AKTER T.; RAY S.R.; SAYED M.A. (2016) Exogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide alleviates salt-induced oxidative stress in rice (*Oryza sativa* L.) by enhancing antioxidant enzyme activities and proline content. **Advances in Environmental Biology** 10:148-154.

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., BRADSTREET, E. D., HEMMINGSEN, E. A., & HAMMEL, H. T. (1965). Sap pressure in vascular plants: negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, 148(3668), 339-346.

SCHULTZ, B., BORA, K. C., NOGUEIRA, A. C., AUER, C. G. (2012). Uso do silicato de potássio no controle de oídio em mudas de *Eucalyptus benthamii*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 69, p. 93-93.

SHARMA, P., JHA, A. B., DUBEY, R. S., PESSARAKLI, M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**.

SHI, Z., YANG, H., JIAO, J., WANG, F., LU, Y., DENG, J. (2019) Effects of graft copolymer of chitosan and salicylic acid on reducing rot of postharvest fruit and retarding cell wall degradation in grapefruit during storage. **Food chemistry**, v. 283, p. 92-100.

SILVA, M. D. S., BEDENDO, I. P., CASAGRANDE, M. V. (2007) Caracterização molecular e patogênica de isolados de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, agente causal da escaldadura das folhas da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 341-347.

SUNDAR, A. R., ASHWIN, N. M. R., BARNABAS, E. L., MALATHI, P., VISWANATHAN, R. (2015) Disease resistance in sugarcane—An overview. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 4, p. 200-212.

SURIYAN, C. U., & CHALERMPOL, K. (2009). Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. **Agricultural Sciences in China**, 8(1), 51-58.

THIESEN, L. A., PINHEIRO, M. V. M., HOLZ, E., FONTANA, D. C., & DOS SANTOS, J. (2017). Correlação de Pearson entre pigmentos fotossintetizantes e fitomassa de plantas de *Aloysia triphylla*. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, 249-257.

ULLAH, H., ULLAH, A., KHAN, M. W., LATEEF, M. (2020) A comprehensive review of sugarcane. **Preprints**.

UMER, M., AZIZ, N. B., AL JABRI, S., BHUIYAN, S. A., SHIDDIKY, M. J. (2021) Naked eye evaluation and quantitative detection of the sugar cane leaf scald pathogen, *Xanthomonas albilineans*, in sugar cane xylem sap. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 361-371.

VISWANATHAN, R. (2021) Red rot of sugarcane (*Colletotrichum falcatum* Went). **CABI**.

WANG, S., ZHOU, Y., LUO, W., DENG, L., YAO, S., ZENG, K. (2020) Primary metabolites analysis of induced citrus fruit disease resistance upon treatment with oligochitosan, salicylic acid and *Pichia membranaefaciens*. **Biological Control**, p. 104289.

WHITE, R. F. (1979) Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. **Virology**, v. 99, n. 2, p. 410-412.

XU, X., TIAN, S. (2008) Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit. **Postharvest biology and technology**, v. 49, n. 3, p. 379-385.

YAQOOB, U., JAN, N., RAMAN, P. V., SIDDIQUE, K. H., JOHN, R. (2022) Crosstalk between brassinosteroid signaling, ROS signaling and phenylpropanoid pathway during abiotic stress in plants: Does it exist? **Plant Stress**, p. 100075.

YANG, X., LU, M., WANG, Y., WANG, Y., LIU, Z., CHEN, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. **Horticulturae**, 7(3), 50.

YUAN, S., DING, X., ZHANG, Y., CAO, J., JIANG, W. (2019) Characterization of defense responses in the 'green ring' and 'red ring' on jujube fruit upon postharvest infection by *Alternaria alternata* and the activation by the elicitor treatment. **Postharvest biology and technology**, v. 149, p. 166-176.

ZHAI C.Z., ZHAO L., YIN L.J., CHEN M., WANG Q.Y., LI L.C., XU Z.S., MA Y.Z. (2013) Two wheat glutathione peroxidase genes whose products are located in

chloroplasts improve salt and H₂O₂ tolerances in Arabidopsis. **PLoS ONE** 8: e73989.

ZHANG, Hui-Li et al. (2020) Complete genome sequence reveals evolutionary and comparative genomic features of *Xanthomonas albilineans* causing sugarcane leaf scald. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 182.

ZHOU, Y., MA, J., XIE, J., DENG, L., YAO, S., ZENG, K. (2018) Transcriptomic and biochemical analysis of highlighted induction of phenylpropanoid pathway metabolism of citrus fruit in response to salicylic acid, *Pichia membranaefaciens* and oligochitosan. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 81-92.