Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Efeitos de ethephon e giberelina no desenvolvimento inicial e em alguns parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar

Luciane de Siqueira Mendes

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2010

Luciane de Siqueira Mendes
Licenciada em Ciências Agrícolas

Efeitos de ethephon e giberelina no desenvolvimento inicial e em alguns parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar

Orientador:
Prof.Dr. **PAULO ROBERTO DE CAMARGO E CASTRO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Mendes, Luciane de Siqueira
Efeitos de ethephon e giberelina no desenvolvimento inicial e em alguns parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar / Luciane de Siqueira Mendes. - - Piracicaba, 2010.
78 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Cana-de-açúcar 2. Crescimento vegetal 3. Fisiologia vegetal 4. Hormônios vegetais 5. Perfilhamento 6. Reguladores vegetais 7. Tecnologia agrícola I. Título

CDD 633.61
M538e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Maria Aparecida de Siqueira Mendes e José Elioval Mendes por todo amor, carinho, confiança em mim depositados e principalmente por terem me ensinado a nunca desistir de meus sonhos;

Dedico

Aos meus irmãos, Selma Maria Siqueira Mendes, Wagner César Siqueira Mendes, Cristina Elisabete Siqueira Mendes, Munir Ricardo Siqueira Mendes e Adalgisa Siqueira Mendes, pelo amor, apoio, companheirismo, incentivo e paciência em todos os momentos,

Ofereço

Dedico,
aos meus sobrinhos Jean Lucas Mendes Castro, Arlindo Alvez de Castro Junior e a Vitória Elizabete Mendes Sávio e às minhas tias Sueli Siqueira e Gilda Siqueira (*in memorian*), pelo afeto incondicional que sempre tiveram por mim.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pelo amor e presença em cada momento me dando força, sabedoria e perseverança nas realizações dos meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Roberto de Camargo e Castro pelos ensinamentos, amizade e acolhida durante todo esse tempo. E por tudo que me ensinou com sua valiosa orientação.

Ao Eric Rufino pelo imenso companheirismo, força, paciência e incentivo em todos os momentos.

Aos meus cunhados Humberto, Arlindo e Alexandre pelo apoio e amizade.

Às meninas da república: Simone, Marina e Jaislany pelo companheirismo, amizade e carinho.

Às minhas grandes amigas Francinês e Andrea, pela amizade, conversas e por terem ajudado a suavizar o meu caminho durante o mestrado.

Aos meus grandes amigos do laboratório: Giovani, George, Willian e João que além de me ajudarem no trabalho, também alegraram minha vida através do companheirismo, força e amizade.

Ao Romeu técnico de Laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo constante auxilio em meu trabalho e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ricardo Bressan pelo apoio, carinho e confiança depositados em mim e pelos seus ensinamentos que tanto contribuíram na minha formação profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Celso Pommer por todo apoio e amizade que sempre teve para comigo.

À Solizete por toda ajuda junto ao programa de pós-graduação e pela grande amizade.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias e ao meu amigo Gilvano pela ajuda nas estatísticas do meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Gallo e ao Dr. Enio Tiago de Oliveira do CEBTEC pela orientação e auxílio técnico nas análises laboratoriais.

A todos os professores e funcionários da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP), por terem contribuído á minha formação pessoal e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

E a todos os meus amigos, familiares e conhecidos que me ajudaram diretamente ou indiretamente no meu trabalho e na minha vida pessoal, com suas palavras, afeto, amizade ou simplesmente com um pequeno sorriso.

Meu Muito Obrigada!!!!!!!

“O excelente mestre não é o que mais sabe, mas o que mais tem consciência do quanto não sabe. Não é o que é viciado em ensinar, mas o mais ávido em aprender. Não é o que declara os seus acertos, mas o que reconhece suas limitações.”

A. Cury

SUMÁRIO

RESUMO..... 11
ABSTRACT..... 13
1 INTRODUÇÃO..... 15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 17
2.1 Importância da cana-de-açúcar no Brasil..... 17
2.2 Ethephon 18
2.3 Giberelina 19
2.4 Perfilhamento da cana-de-açúcar..... 19
2.5 Efeitos de giberelina aplicada em toletes..... 20
2.6 Efeitos de giberelina aplicada em plantas jovens..... 21
2.7 Efeitos de ethephon aplicado em toletes..... 22
2.8 Efeitos de ethephon aplicado em plantas jovens..... 23
2.9 Enzimas invertase ácida e neutra..... 24
2.10 Aplicação de reguladores vegetais *in vitro*..... 25
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 27
3.1 Efeitos de giberelina nos toletes..... 27
3.2 Efeitos de giberelina aplicada na soqueira..... 28
3.3 Efeitos de ethephon nos toletes 29
3.4 Efeitos de ethephon aplicado na soqueira..... 30
3.5 Análises das enzimas invertases ácida e neutra..... 30
3.6 Aplicação de ethephon e giberelina em plantas *in vitro*..... 31
3.7 Preparo dos extratos e determinações das atividades das enzimas invertases ácida e neutra..... 32
3.8 Determinação da concentração de proteínas total solúvel (PTS)..... 33
3.9 Determinação dos teores de açúcares solúveis totais (AST)..... 34
3.10 Determinação dos açúcares redutores (AR)..... 35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 37
4.1 Experimento realizado com toletes no Horto Experimental da ESALQ/USP..... 37
4.2 Experimento realizado em soqueiras na Estação Experimental da Syngenta..... 46

4.3 Análises tecnológicas..... 50
4.4 Desenvolvimento das plantas *in vitro* sob aplicação de giberelina e ethephon..... 56
5 CONCLUSÕES..... 65
REFERÊNCIAS..... 67

RESUMO

Efeitos de ethephon e giberelina no desenvolvimento inicial e em alguns parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma das principais e dos mais antigos cultivos do Brasil, ocupando lugar de destaque na economia do país devido à produção de açúcar e etanol. Atualmente, São Paulo é o principal estado produtor, impulsionando a economia brasileira devido as suas grandes áreas plantadas. O uso de reguladores vegetais vem se tornando uma prática rotineira, objetivando maximizar o potencial produtivo das culturas, promovendo melhorias na qualidade, otimizando os resultados agroindustriais e econômicos. Giberelina é um hormônio conhecido como promotor de crescimento e alongamento das plantas. O ethephon é um maturador vegetal muito utilizado na cultura da cana, promovendo a liberação de etileno quando em contato com o tecido vegetal. O objetivo do trabalho foi estudar a eficácia dos reguladores vegetais giberelina (GA) e ethephon (CEPA) aplicados em diferentes fases do desenvolvimento inicial, na morfologia e aspectos tecnológicos da cana-de-açúcar. Para isso foram efetuados quatro experimentos. As concentrações aplicadas de GA (0; 10; 25; 50 e 75 mg L^{-1}) e CEPA (0; 225; 450; 900 e 1000 mg L^{-1}), foram iguais nos dois primeiros experimentos. O primeiro experimento foi realizado no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, com a pulverização dos toletes, com dez repetições e o segundo foi realizado na Estação Experimental da Syngenta em Holambra com a pulverização de plantas jovens (na soqueira), com quatro repetições, sendo que os parâmetros biométricos foram avaliados quinzenalmente até aos 90 dias após o plantio (DAP). O terceiro experimento foi efetuado em casa de vegetação no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, sendo que para a avaliação dos parâmetros tecnológicos no início do desenvolvimento, pulverizaram-se toletes com GA 50 mg L^{-1} e CEPA 900 mg L^{-1} além do controle, utilizando-se de cinco repetições. As amostras foram coletadas e congeladas, para posteriores análises tecnológicas. No quarto experimento, avaliou-se a aplicação dos reguladores vegetais *in vitro*, onde se aplicou GA (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg L^{-1}) e CEPA (0; 25; 50; 100; 200 mg L^{-1}), com 5 repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e comparados pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. No primeiro experimento, a aplicação de GA nos toletes reduziu de forma geral o desenvovimento inicial das plantas, enquanto os tratamentos com CEPA apresentaram resultados promissores ao desenvolvimento inicial, quando os parâmetros avaliados foram os perfilhos. No segundo experimento, a aplicação de GA em soqueira aumentou a altura da planta, sendo que CEPA retardou a altura das plantas e incrementou o número de perfilhos. No terceiro experimento, nas avaliações tecnológicas, GA e CEPA afetaram temporariamente os teores de açúcares totais produzidos nas folhas. No colmo, CEPA e GA afetaram de forma geral os parâmetros tecnológicos, reduzindo as atividades das invertases e os açúcares redutores e totais e No quarto experimento, a aplicação *in vitro* de GA, reduziu o número de perfilhos, enquanto aplicação de CEPA incrementou o número de perfilhos e reduziu a altura das plantas.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Biorreguladores; Emergência; Perfilhamento; Produtividade

ABSTRACT

Effects of gibberellin and ethephon on the initial development and on some technological parameters of sugarcane

Sugarcane is one of the major and oldest crops in Brazil, taking a prominent place in the economy because of the production of sugar and ethanol. Currently, Sao Paulo is the main producing state, boosting the Brazilian economy due to its large planted areas. The use of plant regulators has become a routine practice, aiming to maximize the yield potential of crops, improving quality, optimizing results for the agro-industry and economy. Gibberellin is a plant hormone known as a regulator of plant growth and elongation. Ethephon is a growth regulator widely used in maturing sugarcane cultivation, allowing the release of ethylene when in contact with the plant tissue. This work aimed to evaluate the effectiveness of plant regulators gibberellin (GA) and ethephon (CEPA), applied at different stages of early development, on the morphology and technological aspects of sugarcane. To that end, four experiments were performed. The concentrations of GA (0; 10; 25; 50 and 75 mg L^{-1}) and CEPA (0; 225; 450; 900 and 1000 mg L^{-1}), were equal in the first two experiments. The first experiment was conducted in the Experimental Garden of the Department of Biological Sciences, ESALQ / USP, by spraying of cuttings, with ten repetitions. The second was conducted at Syngenta's experimental station in Holambra, by spraying the young plants (at stumps) with four replicates, and biometric parameters were measured fortnightly until 90 days after planting (DAP). The third experiment was conducted in a greenhouse at the Experimental Garden of the Department of Biological Sciences, ESALQ / USP, and for the evaluation of technological parameters in early development, cuttings were sprayed with GA 50 mg L^{-1} and CEPA 900 mg L^{-1} besides the control, using five replicates. Samples were collected and frozen for later technological analysis. In the fourth experiment, the application of plant regulators *in vitro* was evaluated, where GA (0; 2.5; 5.0; 7.5 and 10 mg L^{-1}) and CEPA (0; 25; 50; 100; 200 mg L^{-1}) were applied with five replicates. The results were submitted to variance analysis by F test and compared by Tukey test at 5% probability. In the first experiment, the application of GA reduced, in general terms, the initial development of plants whereas treatments with CEPA had promising results in early development, regarding the tillering. In the second experiment, the application of GA increased plant height, while the CEPA retarded plant height and increased the number of tillers. In the third experiment in technological assessments, GA and CEPA temporarily affected the contents of total sugars in the leaves. In the stem, GA and CEPA affected, in general, technological parameters, reducing the activities of invertase as well as those of the reducing and total sugars. In the fourth experiment, the application of GA *in vitro* decreased the number of tillers, while the treatment with CEPA increased the number of tillers and delayed the plant height.

Keywords: *Saccharum* spp.; Bioregulators; Emergency; Tillering; Productivity

1 INTRODUÇÃO

Saccharum spp. é uma das principais plantas cultivadas, encontrando-se entre as de cultivo mais antigo em nosso país, sendo que há mais de quatro séculos o Brasil produz açúcar a partir de cana-de-açúcar. Originária da Nova Guiné, a cana-de-açúcar é uma gramínea perene gigante, que pode chegar a até 6 metros de altura, que apresenta metabolismo C4, altamente eficiente na produção de açúcar que é armazenado na forma de sacarose nos vacúolos centrais das células parenquimáticas dos entrenós.

Atualmente, o Brasil é considerado o maior produtor e exportador de açúcar e álcool do mundo, onde o estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar do país, com uma participação de quase 84%, ou seja, 3,8 milhões de hectares de área em produção, totalizando 340 milhões de toneladas, em 2008 (CONAB,2008).

A cultura da cana-de-açúcar possui função estratégica na economia do país devido à necessidade de substituição dos combustíveis fósseis por fontes de energia renováveis como o álcool, uma vez que a produção a partir do milho seria economicamente difícil de ser viabilizada em nossas condições.

Atualmente, vem sendo incentivada a utilização de técnicas mais avançadas, como a aplicação de reguladores vegetais que agem alterando a morfologia e a fisiologia da planta, podendo levar a modificações qualitativas e quantitativas na produção. A utilização de reguladores vegetais na agricultura não é recente, porém, crescente e chegando a ser, em determinadas situações, fator importante da produtividade.

A utilização dos reguladores vegetais é uma alternativa compensadora aos investimentos e objetivos propostos à cultura da cana, por possibilitarem perfilhamento, incrementos no crescimento, precocidade de maturação, aumento no teor de sacarose e aumentos na produtividade.

Giberelina (ácido giberélico) é um hormônio vegetal formado por diterpenos de 19 ou 20 carbonos, conhecido como promotor do alongamento e crescimento vegetal, encontrado em todo o ciclo de vida da planta, influenciando na germinação,

crescimento, indução do florescimento, produção de sementes e crescimento do pericarpo (HEDDEN; KAMIYA, 1997). A utilização de giberelina produz um estímulo no crescimento do caule (alongamento do entrenó), aumentando a produtividade, cujo maior efeito tem sido observado em gramíneas, hortaliças e ornamentais (WEAVER, 1972).

Diversos estudos na Austrália e no Havaí mostraram que giberelina pode aumentar o comprimento dos entrenós e prolongar a fotossíntese, aumentando o teor de sacarose e a pureza do caldo, melhorando a produção e a qualidade da cana-de-açúcar. A aplicação de giberelina em cana-de-açúcar pode incrementar a produção final de sacarose nos colmos, por estimular o alongamento dos entrenós durante o inverno (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O regulador vegetal ethephon (ácido 2-cloroetil fosfônico), age retardando o crescimento do entrenó das plantas em desenvolvimento na época da pulverização, por promover, através da ação do etileno, uma diminuição temporária no transporte de auxina na planta, quebrando assim a dominância apical. Também foi sugerido que o etileno atua ao nível do DNA nuclear, causando restrição no crescimento do entrenó em desenvolvimento no momento da aplicação. Pesquisas mostram que a aplicação de ethephon em cana-de-açúcar promove alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas na planta, incrementando o número de perfilhos, antecipando a maturação, podendo melhorar a qualidade do caldo, resultando em aumento da produtividade da cultura (LI; SOLOMON, 2003).

A pesquisa teve por objetivo estudar os efeitos e a eficácia de três alternativas de aplicação e a melhor dosagem de giberelina e do ethephon, no crescimento inicial, perfilhamento, caracteres fisiológicos, e tecnológicos, além da atividade de enzimas relacionadas aos processos de acúmulo de sacarose.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da cana-de-açúcar no Brasil

Saccharum officinarum L. é uma das principais plantas cultivadas, encontrando-se entre as de cultivo mais antigo em nosso país, sendo que há mais de quatro séculos o Brasil produz açúcar de cana-de-açúcar (MARTINS; CASTRO, 1999). Desde os tempos do Brasil colônia a cultura da cana-de-açúcar tem sido uma grande fonte de riqueza para a economia brasileira.

Originária da Nova Guiné, a cana-de-açúcar é uma gramínea perene de grande porte, de metabolismo C4, altamente eficiente na produção de açúcar que é armazenado na forma de sacarose nos vacúolos centrais das células parenquimáticas dos entrenós dos colmos.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com cerca de 33% da produção, seguido pela Índia (23%) e também maior exportador mundial de açúcar e de álcool etílico, sendo o estado de São Paulo o maior produtor nacional, com quase 84% de toda a área plantada em 2008 no país (CONAB,2008).

A cultura da cana-de-açúcar possui função estratégica na economia do país devido à necessidade de substituição dos combustíveis fósseis por fontes de energia renováveis como a produção de álcool, uma vez que a produção a partir do milho, não seria viável economicamente.

As pesquisas agrícolas têm sido voltadas para a obtenção de maiores incrementos na produção da cultura da cana, onde vem sendo incentivada a utilização de técnicas mais avançadas, como a aplicação de reguladores vegetais que agem alterando a morfologia e a fisiologia da planta, podendo levar a modificações qualitativas e quantitativas na produção (CASTRO, 1999). Os reguladores vegetais têm se destacado como uma tecnologia compensadora quando aplicada na cultura de cana-de-açúcar, promovendo melhorias na qualidade, otimizando os resultados agroindustriais e econômicos (NICKELL, 1988; LEITE, 2005).

2.2 Ethephon

O ethephon (Ethrel, Zas, Arvest), ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA), é um produto que possui característica de ação não envolvendo a morte da região apical do colmo, que caracteriza o efeito dos inibidores de crescimento, atuando como um retardador de crescimento.

É um produto químico estável quando mantido sob pH ácido, que libera etileno em contato com o tecido vegetal, o qual possui um pH mais elevado (> 3,5). O mecanismo de ação do etileno (um hormônio gasoso existente no próprio tecido vegetal maduro) envolve sua ligação com um ou mais receptores protéicos, localizados na membrana. O etileno pode alterar a atividade da ATPase transportadora da membrana e aumentar a hidroxilação da prolina, incrementando peroxidase rica em hidroxiprolina na parede.

Pode atuar diretamente no bloqueio do metabolismo do DNA, retardando a alongação do entrenó. Este processo pode ainda levar a síntese de um RNAm com suporte do RNAr, conduzindo à síntese de enzimas capazes de desencadear processos fisiológicos relacionados com o perfilhamento, florescência, maturação e senescência.

Esse regulador vegetal tem sido usado em vários países em todo o mundo, inclusive no Brasil, Cuba e África do Sul, como agente maturador da cana-de-açúcar. Segundo Nailwal et al. (2004), após a aplicação de ethephon aumenta-se o efeito do etileno, tanto em pré-tratamento dos colmos de cana-de-açúcar quanto em aplicação foliar, devido a inibição do transporte de auxina, quebrando-se assim a dominância apical e, portanto, estimulando-se a produção de novas ramificações (perfilhos), entretanto, esse efeito é temporário, e o equilíbrio entre a interação etileno e auxina retorna ao normal, quando então a competição interplantas por luz, água e nutrientes prevalece.

O ethephon apresenta resultados promissores em cana-de-açúcar, por sua eficiência em evitar o florescimento e isoporização (parênquima sem caldo), melhorar a qualidade do caldo, aumentar o teor de sacarose e estimular o perfilhamento (RODRIGUES, 1995). Segundo Li (2004), o ethephon é um regulador vegetal muito utilizado na cultura da cana-de-açúcar por promover inúmeros benefícios na qualidade e na produção da cana, proporcionando alterações fisiológicas, morfológicas,

bioquímicas, inibição da floração, antecipação da colheita, e por promover o aumento do número de perfilhos, aumentando a produção por hectare por incrementar o número de colmos industrializáveis.

2.3 Giberelina

Na década de 20 no Japão, produtores relataram a pesquisadores uma moléstia na plantação de arroz que causava o crescimento excepcional da planta, identificada como causada por um fungo (*Gibberella fujikuroi)*, sendo que na década de 50, nos Estados Unidos, foi elucidada a estrutura química, sendo denominada de ácido giberélico (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A giberelina é um hormônio formado por diterpenos de 19 ou 20 carbonos, e é também chamada de ácido diterpenóide. Já foram identificadas atualmente mais de 125 tipos de GAs, mas poucas são biologicamente ativas, pois a maioria delas são precursoras ou metabólitos, sendo que para agir tem que induzir a produção de enzimas, causando assim respostas fisiológicas nas plantas (RADEMACHER,2000). Esse hormônio é conhecido como promotor do alongamento e crescimento vegetal e atua ativando e inativando enzimas, agindo diretamente na ativação ou na repressão de genes ligados ao desenvolvimento vegetal.

De acordo com Sponsel (1987) e Yamaguchi (2008), as giberelinas são sintetizadas, principalmente, em frutos e sementes em desenvolvimento, nas regiões apicais dos meristemas e raízes.

A giberelina (GA_3) é um regulador vegetal muito utilizado na agricultura, por induzir estímulo no crescimento do caule (entrenó), podendo ser aplicada para aumento em produtividade; aumento no crescimento tem sido observado em gramíneas, hortaliças e ornamentais (WEAVER, 1972). Segundo Taiz e Zeiger (2009), após a pulverização de giberelina em cana-de-açúcar nos meses de inverno, estimulou-se o alongamento do entrenó, aumentando a produção final de sacarose por hectare.

2. 4 Perfilhamento da cana-de-açúcar

Perfilhamento consiste na formação de várias brotações a partir de uma mesma planta, as quais recebem o nome de perfilhos. Na produção de sacarose, um dos fatores mais importantes dentro da cultura da cana-de-açúcar é o número de colmos produzidos por unidade de área, na colheita.

Segundo Casagrande (1991) a boa capacidade de brotação é uma característica desejável nas variedades de cana-de-açúcar e um parâmetro de grande significância envolvido diretamente na produtividade da safra de cana, principalmente quando essa fase envolve épocas com condições ambientais desfavoráveis, podendo variar de variedade para variedade, dependendo das características genéticas de cada uma.

A brotação constitui uma fase importante no início da safra da cana, por resultar em plantas mais vigorosas e maior quantidade de colmos por área plantada, conduzindo a uma colheita compensadora (SILVA et al., 2003, 2004).

Soares et al. (2004), constataram que durante a fase de pleno crescimento, foi comum a redução do número de perfilhos devido à competição por fotoassimilados e água, contudo, sendo esse número retomado após as chuvas do outubro, onde o número de perfilhos se igualou ao da área irrigada e manteve-se até o final do ciclo. Segundo Camargo (1970), o perfilhamento pode ser prejudicado por temperaturas baixas e incrementado com temperaturas por volta 30˚C, e pelo aumento da luminosidade. De acordo com Irvine (1983), a fase de perfilhamento termina quando ocorre estabilização na emergência de novos perfilhos e os colmos começam a crescer.

Para se obter o número máximo de colmos suportáveis por área faz-se necessário induzir o perfilhamento na fase inicial do desenvolvimento ou na soqueira de cana-de-açúcar, sendo o ethephon uns dos reguladores vegetais mais utilizados para a indução do perfilhamento na cultura da cana-de-açúcar (SILVA et al., 2007).

2.5 Efeitos de giberelina aplicada em toletes

A cana-de-açúcar é normalmente propagada por toletes, sendo que, a emergência das gemas é a passagem dos órgãos primordiais, latentes na gema, para o estado ativo de crescimento e desenvolvimento, ocorrendo complexos fenômenos

bioquímicos, por ação das enzimas amilases, transformando reservas de amido em açúcares prontamente utilizados pelas plantas. Yang et al. (1980), constataram a possibilidade de reguladores vegetais promoverem a emergência e o enraizamento de monocotiledôneas, atuando na ativação celular, sendo que, foi observado que o sal potássico do ácido giberélico inibe a emergência das gemas de cana-de-açúcar.

Aplicação de giberelina por imersão de toletes, 15 horas antes do plantio, em Piracicaba (SP), nas concentrações de (1; 5; 10 e 15 mg L^{-1}), resultou em atraso da emergência 14 dias após o plantio (GONÇALVES 1983; GONÇALVES 1984). A imersão de toletes da variedade CB 49-260 durante uma hora nas soluções de regulares vegetais, após tratamento por via úmida, não afetou de forma significativa a percentagem de emergência, exceto tratamento com giberelina 500 e 2000 mg L^{-1}, que revelou-se desfavorável (CASTRO 1975 a; CASTRO et al., 1975 b).

Buenaventura e Rosario (1978), observaram que imersão de toletes por 12 horas em soluções de giberelina 100 e 400 mg L^{-1}, antes do plantio, inibiu na emergência dos toletes nas duas concentrações utilizadas. Lee et al. (1984), ao avaliarem a emergência de toletes de cana variedade NA 56-79 imersos por 10 minutos em soluções de variados reguladores vegetais, sob tratamento térmico, observaram que giberelina 50 mg L^{-1} reduziu significativamente a emergência dos toletes.

2.6 Efeito de giberelina aplicada em plantas jovens

A giberelina é um hormônio vegetal promotor de crescimento que tem sido usado experimentalmente em cana-de-açúcar desde 1956 para aumentar a produção de sacarose (SIEMER, 1969). Diversos estudos na Austrália e no Havaí mostraram que o regulador vegetal conhecido como ácido giberélico ou giberelina pode aumentar o comprimento dos entrenós e prolongar a fotossíntese, resultando em aumento na sacarose e na pureza do caldo, melhorando a produção e a qualidade da cana-de-açúcar (RUGAI e SOUZA,1974). Numerosos estudos com ácido giberélico na Austrália, Havaí, Porto Rico e Guiana Britânica, não acusaram resultados satisfatórios como maturador em cana-de-açúcar, mas sim como estimulador de crescimento, alongação e

para aumento de peso dos colmos. Na Austrália, aplicação de GA nas concentrações de 100 e 200 mg L^{-1} em plantas novas, sob condições de casa de vegetação, aumentou o teor de açúcares totais e a tonelagem do colmo (BULL, 1964). Yates (1972), observou uma estimulação no crescimento do colmo de cana-de-açúcar duas a seis semanas após a aplicação de giberelina na concentração de 25 a 200 mg L^{-1} e aumento na amplitude de duração das respostas ao crescimento.

Alexander (1968), considerou que 153 a 306 g de giberelina por hectare alongaram os tecidos dos entrenós, diminuíram o tecido nodal e melhoraram a qualidade da cana, em condições de campo. Abbott Laboratories (1975) verificou que duas aplicações de giberelina (Pro-Gibb) 138 g ha^{-1}, promoveu no primeiro ano, uma média de aumento no comprimento dos entrenós de 86% e de 74% no peso.

Castro et al. (1982), verificaram que aplicação de giberelina, 112 dias antes da colheita, promoveu maior crescimento da cana variedade CP 51-22, tendo incrementado o crescimento na região apical; sendo que a concentração de 150 g ha^{-1} ocasionou variações em altura das plantas de até 28 cm maior que o controle, após 100 dias da aplicação do regulador vegetal. Segundo Moore (1980), pulverização simples e múltiplas de giberelina em cana, promovem aumentos no comprimento dos entrenós, sendo que, as aplicações produziram respostas aditivas no crescimento quando foram dados intervalos de 15 e 30 dias, entre as aplicações múltiplas. Após aplicação de giberelina em concentrações crescentes, 2 meses após o plantio, observou-se estiolamento das plantas até 135 dias após a pulverização, quando comparados ao controle (GONÇALVES 1984).

Lee et al. (1984), ao avaliarem o crescimento e a maturação da cana variedade NA 56-79, após aplicação de giberelina no inverno, na concentração de 105 g ha^{-1}, por 3 meses consecutivos, observaram aumentos de até 10 t ha^{-1} de cana colhida.

2.7 Efeitos de ethephon aplicado em toletes

Considerando que a cultura da cana é cultivada por vários anos após o plantio, torna-se fundamental a garantia de uma boa emergência e crescimento inicial,

reduzindo assim falhas nos canaviais, tornando promissor o uso de reguladores vegetais para melhorar a eficácia da emergência dos toletes.

Gonçalves (1984), aplicou ethephon nas dosagens 30, 60, 120, e 240 mg L^{-1} em toletes, por imersão, antes do plantio, resultando na redução da altura total das plantas, em todas as concentrações, até os 45 dias após a aplicação, sendo que 240 mg L^{-1} também aumentou o número de perfilhos.

A aplicação de Ethrel em duas variedades de cana, RB 85 5156 (aplicação de 1,5 L ha^{-1} em março) e RB 76 5418 (aplicação de 2 L ha^{-1} em abril) nos toletes no sulco, resultou, respectivamente, em maior emergência dos toletes e incremento a quantidade de açúcar na colheita (BAGLIONE et al., 1996). Paggiaro et al. (1995), aplicaram Ethrel 1,5 L ha^{-1} em toletes de cana, no sulco, na variedade RB 72 454, no mês de março, obtendo resultados compensadores pelo incremento da produtividade final. Avaliações realizadas 62 e 122 dias após o plantio, após a aplicação de Ethrel na dosagem de 0,5 L ha^{-1} em toletes, além de outros agroquímicos, mostraram que Ethrel incrementou a massa fresca e seca de parte aérea, raiz e peso total (parte aérea mais raiz) e aumentou o número de perfilhos nas duas avaliações (NAUFEL et al., 2008).

Manjunatha et al. (2005), ao aplicarem ethephon na Tailândia, em três variedades de cana, por imersão dos toletes nas dosagens (100, 250 e 400 mg L^{-1}), verificaram depois de 2 meses que ethephon 100 mg L^{-1} incrementou a emergência e a biomassa inicial das variedades avaliadas.

2.8 Efeito de ethephon aplicado em plantas jovens

O perfilhamento é um fator muito importante e significativo na produção da cana-de-açúcar, que pode ser induzido pelo aumento do número de mudas no sulco de plantio, ou pela aplicação de ethephon em pré ou pós-emergência, aumentando o número de colmos industrializáveis na colheita (LEE et al., 1984).

Eastwood (1979), observou que aplicação de ethephon em cana-de-açúcar estimulou maior perfilhamento da soqueira. Lucchesi et al. (1979), realizaram aplicação de Ethrel 3 L ha^{-1} em cana-soca de quarto corte, obtendo aumento significativo no perfilhamento e no número de colmos industrializáveis. Aplicação de ethephon em soqueiras, na dosagem de 1000 mg L^{-1}, 22 e 32 dias após o plantio, em 7 variedades

de cana, resultou em um incremento no perfilhamento de todas as variedade, quando comparadas com o controle (GERALD; BACCHI, 1983).

Gerald e Bacchi (1983) observaram que aplicação de Ethrel em cana-de-açúcar RB 72 5147, retardou temporariamente o crescimento, resultando em menor altura quando comparada ao controle. Yang et al. (1980), estudando o efeito do ethephon aplicado em 3 variedades de cana jovem, observaram que a concentração de 100 mg L^{-1}, estimulou o perfilhamento em 20% em duas das variedades. Gonçalves (1993) e Silva (2007), observaram resultados significativos no incremento do número de perfilhos, com aplicação de ethephon em cana jovem de primeiro corte, aumentando o número de colmos industrializáveis.

Li e Solomon (2003), notaram que aplicação de ethephon em cana-de-açúcar incrementou o número de perfilhos nos primeiros meses de desenvolvimento, em diversos genótipos, podendo também incrementar a biomassa e o teor de açúcar na colheita.

2.9 Enzimas invertases ácida e neutra

Uma das principais características das plantas é sua capacidade de redução do dióxido de carbono na presença de luz e água, em açúcares que ocorrem nas folhas (fonte), os quais são translocados para os mais diversos tecidos (drenos).

O metabolismo de partição e acúmulo de sacarose é vital em todas as fases do ciclo de vida do vegetal, e sua utilização como fonte de energia e de carbono requer sua hidrólise, realizada pelas enzimas invertases, transformando sacarose em hexoses: glicose + frutose (STURM, 1999).

O mecanismo do acúmulo ativo de sacarose é dependente da maturidade dos tecidos, isto é, há diferença entre tecidos maduros e imaturos, devido, principalmente, à concentração de invertases e a necessidade de crescimento (ALEXANDER, 1973).

A invertase ácida solúvel (SAI) é composta pelo somatório das invertases do espaço externo, ou seja, da parede celular e do vacúolo, sendo encontrada em quantidade superior em tecidos imaturos. A atividade dessa isoenzima pode ser alta ou baixa, respectivamente, em condições favoráveis ao crescimento ou em condições desfavoráveis, como por exemplo, estresse hídrico, fotoperíodo curto, temperaturas

baixas e aplicação de maturadores (GAYLER; GLASZIOU, 1972; LEGENDRE, 1975). As flutuações, nos teores de açúcar, durante o crescimento vegetal é conseqüência do nível da enzima SAI, uma vez que a SAI apresenta relação estreita e inversa com o conteúdo de sacarose e açúcares totais (GAYLER; GLASZIOU, 1972; LINGLE, 1999).

Em tecidos maduros do colmo, tem-se o predomínio da invertase neutra (NI), que situa-se, aparentemente, no citoplasma. Essa enzima, com o baixo nível da SAI, governa o acúmulo ativo de sacarose no vacúolo e também nos tecidos com maior maturidade, que apresentam teores de sacarose em torno de 20% (LINGLE, 1999). Rose e Botha (2000) encontraram correlação significativa entre o teor de sacarose e o nível de NI, por ocorrer um acúmulo efetivo de sacarose nos tecidos maduros.

Os reguladores vegetais, agem alterando a morfologia e a fisiologia da planta, podendo levar a modificações qualitativas e quantitativas na produção. Podem atuar para promover a diminuição do crescimento da planta, possibilitar incrementos no teor de sacarose nos entrenós, precocidade de maturação, aumentar a produtividade de açúcar, e também atuar sobre as enzimas (invertases), que catalisam o acúmulo de sacarose nos colmos (CASTRO, 1999; MARTINS; CASTRO, 1999).

Leite et al., 2009 observaram que os reguladores vegetais promovem alterações de intensidades distintas e significativas na atividade enzimática das invertases ácida e neutra.

2.10 Aplicação de reguladores vegetais *in vitro*

O primeiro trabalho de totipotência em cana foi sobre a formação e produção de calos, seguido de regeneração destes em novos organismos (HEINZ; MEE, 1969). Posteriormente, numerosos estudos foram conduzidos, utilizando regeneração de plantas por cultura de tecidos, para analisar a fisiologia e resistência a doenças da cana-de-açúcar (NICKELL, 1977).

A propagação *in vitro* de meristemas apicais de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), e a repicagem de plântulas para o aumento do número de mudas e multiplicação de variedades, constituem uma alternativa vantajosa, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais (LEE, 1984). Aliado a isso, as mudas obtidas

são de excelente qualidade fitossanitária, geneticamente uniformes e idênticas ao material vegetal do qual foi retirado. Entretanto, para que o seu uso tenha viabilidade econômica, faz-se necessário otimizar as condições de cultivo para cada variedade, seja com relação às condições de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa ou à composição de nutrientes no meio de cultura (VIEIRA, 2009). Os meios nutritivos utilizados para a cultura de tecidos de plantas fornecem substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1998). No entanto, as exigências nutricionais para o crescimento ótimo de um tecido *in vitro* podem variar com a espécie e, mesmo na própria planta, explantes de diferentes partes podem requerer meios distintos para o crescimento satisfatório (PASQUAL, 2001).

Os reguladores vegetais são substâncias sintéticas que, aplicadas a plantas inteiras ou a segmentos de tecidos vegetais em meio de cultura, provocam atividades fisiológicas similares aos hormônios vegetais endógenos (PASQUAL, 1997). Diversas observações acatam a premissa de que biorreguladores adicionados ao meio de cultura exercem seu efeito, modificando as concentrações de hormônios endógenos (GASPAR et al., 2003).

Segundo Grattapaglia e Machado (1998), o efeito mais conhecido das giberelinas *in vitro* é no alongamento dos entrenós das partes aéreas, quando estas não estão em condições de serem individualizadas para o enraizamento, devido ao seu pequeno tamanho.

De acordo com Biddington (1992), o efeito do etileno *in vitro*, geralmente ocorre como um promotor ou inibidor dos efeitos fisiológicos, dependendo das espécies e das concentrações aplicadas para cada uma delas. Nas últimas três décadas, tem-se intensificado os estudos de promotores e inibidores de etileno aplicados em meio de cultura, *in vitro*, onde os efeitos deste regulador estão relacionados com a divisão celular, morfogênese, enraizamento, produção de gemas laterais e estresse (KUMAR et al., 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Efeitos de giberelina nos toletes

O experimento foi conduzido em ambiente natural, em vasos, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da E.S.A. “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba (SP), sendo utilizada a variedade SP 81-3250.

O plantio foi realizado em 16/01/09, com toletes provindos de três partes distintas do colmo, apical, mediana e basal, sendo que foram colocados quatro toletes de 4 cm, providos de uma gema, em vasos de 20 litros, com substrato da mistura de terra argilosa, areia e matéria orgânica na proporção 2:1:1. Os vasos foram dispostos em fileiras, com espaçamento de um metro de distância.

As soluções foram preparadas no dia 15/01/09, a aplicação de giberelina (GA_3) NPL 67 g L^{-1} da Stoller, nas concentrações de 10, 25, 50 e 75 mg L^{-1}, foi realizada no dia 16/01/09, para isso foram abertos dois sulcos em cada vaso, com profundidade de 5 cm, onde foram colocados quatro toletes que, após serem pulverizados, foram totalmente recobertos com terra. Foi utilizada a proporção de 1 litro de cada solução, que também continha o surfatante Extravon na concentração de 0,5 ml L^{-1}, para cada 10 vasos. Realizou-se irrigação dos vasos diariamente, para que se mantivessem próximos da capacidade de campo.

A primeira determinação foi realizada dia 30/01/09, e as demais a cada 15 dias, sendo a sexta determinação efetuada em 15/04/09. Estas determinações constaram na mensuração da maior altura total média (cm) do colmo principal (do colo da cana até a extremidade da folha mais alta). O número de emergências foi determinado quinzenalmente até aos 60 dias após o plantio (DAP). A partir de 45 DAP foi realizada também a avaliação do número de perfilhos, altura média dos perfilhos e perfilhos de maior altura, com a utilização de régua graduada. A massa fresca da folha, massa seca da folha, massa fresca do colmo e massa seca do colmo foram avaliados com o uso de balança digital de precisão. O diâmetro médio do colmo e diâmetro médio dos perfilhos, foram avaliados aos 90 DAP, com o uso de um paquímetro digital.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (controle, GA 10; 25; 50 e 75 m gL^{-1}) com 10 repetições. A análise da variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico do SAS.

3.2 Efeitos de giberelina aplicada na soqueira

O experimento foi conduzido no campo, na Estação Experimental da Syngenta, na cidade de Holambra (SP), sendo utilizada a variedade RB 86 7515.

As soluções de giberelina foram preparadas e aplicadas no dia 20/04/09, tendo-se pulverizado os perfilhos com aproximadamente 50 cm de altura com ácido giberélico (GA_3) NPL, 67 g L^{-1} da Stoller, nas concentrações de 10; 25; 50 e 75 mg L^{-1}, além do controle, em cana de primeiro corte. Foram preparados 4 litros de cada solução, que também continha 2 ml do surfatante Extravon.

A pulverização foi efetuada com pulverizador costal propelido com CO_2, com bico cônico 110.02, sendo que as plantas foram pulverizadas até a queda das primeiras gotas.

A primeira avaliação foi realizada antes da aplicação das soluções, no dia 20/04/09, sendo que as demais foram efetuadas a cada 15 dias, sendo que a sétima foi realizada em 13/07/09. Essas determinações constaram da mensuração da altura total média (cm) das 5 maiores folhas da base do colmo até a extremidade da folha e verificação do número de perfilhos emergidos.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, constando de 5 tratamentos (controle, GA 10; 25; 50 e 75 mg L^{-1}), com 10 repetições. A análise de variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico do SAS.

3.3 Efeitos do ethephon nos toletes

O experimento foi conduzido em ambiente natural, em vasos, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da E.S.A. “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba (SP), sendo utilizada a variedade SP 81-3250.

O plantio foi realizado em 16/01/09 através da colocação de quatro toletes de aproximadamente 4 cm, de uma gema, em vasos de 20 litros com substrato de terra argilosa, areia e matéria orgânica na proporção 2:1:1. Os vasos foram dispostos em fileiras com espaçamento de um metro de distância.

As soluções foram preparadas no dia 15/01/09, a aplicação de ethephon (Ethrel 720 g L^{-1}), da Bayer, nas concentrações de 225; 450; 900 e 1000 mg L^{-1}, foi realizada no dia 16/01/09, sendo que foram abertos dois sulcos em cada vaso com profundidade de 5 cm, onde foram colocados quatro toletes, que após serem pulverizados, foram totalmente recobertos com terra. Foi utilizada a proporção de 1 litro de cada solução, para cada 10 vasos. Realizou-se irrigação dos vasos diariamente, para a manutenção da umidade próxima a capacidade de campo.

A primeira determinação foi realizada dia 30/01/09, e as demais a cada 15 dias, sendo a sexta determinação efetuada em 15/04/09. Estas determinações constaram da mensuração da altura total média (cm) do colmo principal (do colo da cana até a extremidade da folha mais alta). O número de emergências foi determinado quinzenalmente até aos 60 dias após o plantio (DAP). A partir de 45 DAP foi realizada a avaliação quinzenal do número de perfilhos, altura média dos perfilhos e perfilhos de maior altura, com a utilização de régua graduada. A massa fresca da folha, massa seca da folha, massa fresca do colmo e massa seca do colmo foram avaliados com o uso de balança digital de precisão. O diâmetro médio do colmo e diâmetro médio dos perfilhos foram avaliados aos 90 DAP, com o uso de um paquímetro digital.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (controle, ethephon 225; 450; 900 e 1000 mg L^{-1}), e 10 repetições. A análise de variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico do SAS.

3.4 Efeitos do ethephon aplicado na soqueira

O experimento foi conduzido no campo, na Estação Experimental da Syngenta, na cidade de Holambra (SP), sendo utilizada a variedade RB 86 7515.

As soluções de ethephon foram preparadas e aplicadas no dia 20/04/09, tendo-se pulverizado os perfilhos com aproximadamente 50 cm de altura com ethephon (Ethrel 720 g L^{-1}), da Bayer, nas concentrações de 225, 450, 900 e 1000 mg L^{-1} além do controle, em cana de primeiro corte.

Foram preparados 4 litros de cada solução, as quais se aplicou, com pulverizador costal propelido a CO_2, com bico cônico 110.02, sendo que as plantas foram pulverizadas até a queda das primeiras gotas.

A primeira avaliação foi realizada antes da aplicação das soluções, dia 20/04/09, sendo que as demais foram efetuadas a cada 15 dias, e a sétima foi realizada dia 13/07/09. Essas determinações constaram da mensuração da maior altura total média (cm), das 5 maiores folhas (da base do colmo até a extremidade da folha), verificação do número de perfilhos emergidos e número médio de perfilhos por touceira.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, constando de 5 tratamentos (controle, ethephon 225; 450; 900 e 1000 mg L^{-1}), com 10 repetições. Análise da variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico do SAS.

3.5 Análises das enzimas invertases ácida e neutra

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da E.S.A. “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba (SP), sendo utilizada a variedade RB 86 7515.

O plantio foi realizado em 15/11/09, com toletes provenientes da parte basal do colmo, sendo que foram colocados quatro toletes de 4 cm, com uma gema, em vasos de 20 litros com substrato da mistura de terra argilosa, areia e matéria orgânica na proporção 2:1:1. Os vasos foram dispostos em fileiras com espaçamento de um metro de distância.

As soluções foram preparadas no dia 15/11/09, onde foi realizada a aplicação de giberelina (GA_3, NPL 67 g L^{-1}), da Stoller, na concentração de 50 mg L^{-1} e ethephon (Ethrel 720 g L^{-1}), da Bayer, na concentração de 900 mg L^{-1}, além do controle. Para isso foram abertos dois sulcos em cada vaso com profundidade de 5 cm, onde foram colocados quatro toletes que após serem pulverizados, foram totalmente recobertos com terra. Foi utilizada a proporção de 0,5 litro de cada solução, sendo que o tratamento com giberelina também continha o surfatante Extravon na concentração de 0,5 ml L^{-1}, para cada 5 vasos. Realizou-se irrigação dos vasos diariamente, para que se mantivessem próximos da capacidade de campo.

A primeira coleta foi realizada dia 15/12/2009, e as demais a cada 30 dias, sendo a terceira e última coleta foi efetuada em 15/02/2010. As 3 coletas das amostras foram realizadas às 7 horas da manhã, onde foi amostrada a quarta folha (limbo) sendo a contagem feita de baixo para cima, e na terceira coleta, além da folha, também se coletou o último colmo da base, para as análises tecnológicas. As amostras foram acondicionadas em tubos falcon etiquetados, de 50 ml cada, com a adição instantânea de nitrogênio líquido e em seguida armazenados em caixa de isopor com gelo. Posteriormente, foram levadas ao laboratório do CEBTEC da E.S.A. “Luiz de Queiroz” /USP, em Piracicaba (SP), onde foram armazenados em freezer a -80 ºC, onde no mesmo dia, foram sendo retirados e macerados em graal de porcelana, usando uma pequena quantidade de nitrogênio líquido durante a maceração, e seguidamente colocados em vidros etiquetados, e armazenados em freezer a -80 ºC, até a realização das análises tecnológicas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 3 tratamentos (controle, GA 50 mg L^{-1} e ethephon 900 mg L^{-1}), e 5 repetições. A análise da variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico do SAS.

3.6 Aplicação de giberelina e ethephon em plantas *in vitro*

Microplantas de cana-de-açúcar da variedade IAC 95-5000, obtidas *in vitro,* gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Helaine Carrer, do Laboratório de Biotecnologia

Agrícola (CEBTEC) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), foram selecionadas e padronizadas para cultivo em frascos de 350 ml com 50 ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g L^{-1} de sacarose. O período de cultivo para padronização das microplantas foi de 20 dias em sala de crescimento com intensidade luminosa de 30µM/cm^2, temperatura de 25 ± 2° C e fotoperíodo de 16/8 horas, claro/escuro. As microplantas foram padronizadas com altura média de 4 cm e retirados todos os perfilhos, restando um único colmo, e submetidas ao cultivo nas mesmas condições e mesmo meio de cultura (MS) acrescido de ácido giberélico (GA_3), NPL 67 g L^{-1},da Stoller, nas doses (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg L^{-1}) e ethephon (Ethrel 720 g L^{-1}), da Bayer, nas doses (25; 50; 100 e 200 mg L^{-1}).

Após 30 dias do plantio do material *in vitro*, as plântulas foram coletadas para as avaliações dos parâmetros biométricos: mensuração da altura total média (cm) efetuado com régua graduada (do colo da planta até a extremidade da folha mais alta), massa fresca média em gramas (colmo + folhas), massa seca média de colmo + folhas, massa fresca média da raiz, massa seca média da raiz e avaliação do número total de perfilhos por parcela.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 10 tratamentos (controle 1; GA 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg L^{-1}) e (controle 2; ethephon 25; 50; 100; 200 mg L^{-1}) com 5 repetições (sendo que cada parcela possuía 5 plantas). A análise da variância foi efetuada pelo teste F e a comparação das médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico SAS.

3.7 Preparo dos extratos e determinação das atividades específicas das enzimas invertase ácida e neutra

Foram preparados 3 tampões para a determinações enzimáticas:

- Tampão 1: Tampão fosfato de sódio 0,2M (pH 7,5), com 2-mercaptoenol 1mM, $MnSO_4$ 10 µM 750 mg de Na_2SO_4 (VIEIRA, 1983).

- Tampão 2: Tampão acetato de sódio 0,2 M para invertase ácida (pH 5,5), com ácido acético 0,2 M, 1,2 mL/100mL de água deionizada e acetato de sódio anidro 1,64g /100mL de água deionizada (VATTUONE et al., 1981).
- Tampão 3: Tampão acetato de sódio 0,2 M para invertase neutra (pH 7,0), com ácido acético 0,2 M, 1,2 mL/100mL de água deionizada e acetato de sódio anidro 1,64/100mL de água deionizada (VATTUONE et al., 1981).

As amostras foram retiradas do freezer a -80 ºC, tendo-se pesado 500 mg de cada amostra do material vegetal, transferida para um tubo de ensaio, adicionado 2 mL do Tampão1 e centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos a 4ºC; o sobrenadante 1, foi guardado em tubos etiquetados e ao precipitado foi adicionado 2 mL do tampão 1 e novamente centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos a 4ºC, gerando o sobrenadante 2. Os dois sobrenadantes foram misturados e agitados, gerando um único extrato, mantido em gelo.

Reação para invertase ácida: Em tubos de ensaio foram pipetados 200 µl do extrato, 700 µl do tampão 2: acetato de sódio (pH 5,5) e 100 µl de sacarose 0,2M, em seguida foram colocados em um banho-maria a uma temperatura de 37°C por 30 minutos. Após esse tempo, foram tirados do banho-maria e acrescentado 1 ml do reativo de Somogy; foi colocado novamente no banho por mais 10 minutos a 100°C; passado esse tempo, foram retirados do banho e acrescentado 1 ml do reativo de Nelson e 7 ml de água deionizada; em seguida foi feita a leitura no espectrofotômetro a 540 nm.

Reação para invertase neutra: Em tubos de ensaio foram pipetados 200 µl do extrato, 700 µl do tampão 3: acetato de sódio (pH 7,0) e 100 µl de sacarose 0,2M, em seguida foram colocados em um banho-maria a uma temperatura de 37°C por 30 minutos; após esse tempo, foram tirados do banho-maria e acrescentado 1 ml do reativo de Somogy; foi colocado novamente no banho por mais 10 minutos a 100°C; passado esse tempo, foram retirados do banho e acrescentado 1 ml do reativo de Nelson e 7 ml de água deionizada; em seguida foi feita a leitura no espectrofotômetro a 540 nm.

3.8 Determinação da concentração de proteína total solúvel (PTS)

Para a determinação das proteínas totais solúveis (PTS), as amostras foram retiradas do freezer a -80 ºC, tendo sido pesadas 500 mg de cada amostra do material vegetal. O material foi transferido para um eppendorf onde se adicionou 2,0 mL da solução de extração (contendo tampão TRIS – HCl, 50 mM, pH 7,5; mercaptoetanol, 2 mM; EDTA, 1 mM).

O material foi homogeneizado, e em seguida centrifugado a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4ºC. O sobrenadante foi transferido para outro eppendorf etiquetado e acondicionado em recipiente com gelo moído, em seguida, realizou-se a determinação da concentração de proteína empregando-se a metodologia descrita por Bradford (1976). A reação foi feita com 20 µL do extrato preparado, adicionando-se 1,0 mL de reagente de Bradford e a leitura colorimétrica da reação, realizada em espectrofotômetro a 595 nm.

A concentração de PTS das amostras foi calculada a partir da curva padrão preparada com albumina de soro bovino (BSA). Os resultados obtidos foram expressos em mg g^{-1} de matéria fresca (MF).

3.9 Determinação dos teores de açúcares solúveis totais (AST)

A determinação dos teores de AST foi efetuada pelo método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956). A extração dos açúcares foi efetuado em duas etapas. Inicialmente, com 100 mg de massa de matéria seca (MMS) mais 5 ml de água deionizada. Depois de agitação vigorosa, a mistura foi incubada em banho-maria a 60º C por 30 minutos, seguida por centrifugação a 3.000 rpm por 5 minutos e coleta do sobrenadante (extrato 1). Na segunda etapa, o sedimento foi submetido novamente a mesma extração e o sobrenadante foi coletado como extrato 2. Os extratos 1 e 2 foram misturados gerando o extrato final. A reação foi feita com 0,5 mL de extrato, diluído de zero a cinco conforme os teores de AST, acrescentado de 0,5 mL da solução de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

A leitura colorimétrica da reação, depois de resfriada a temperatura ambiente, foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm. Os teores de AST foram calculados pela

interpolação dos resultados na curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em mg de glicose g^{-1} de MMS.

3.10 Determinação dos teores de açúcares redutores (AR)

A determinação dos teores de AR, foi realizada pelo método de Somogyi e Nelson descrito por Nelson (1944), modificado. O reagente de Somogyi foi preparado dissolvendo-se 28g de Na_2HPO_4 mais 40g de tartarato duplo de sódio e potássio em 700 mL de água deionizada. Adicionou-se 100 mL de NaOH 1N. A seguir, sob agitação constante, gotejou-se 80 mL de $CuSO_4.5H_2O$ a 10% e acrescentou-se 180 g de $NaSO_4$ anidro. O volume foi aferido para 1L e acondicionado em frasco escuro que ficou em repouso por 48 horas. O reagente de Nelson foi preparado dissolvendo-se 50 g de $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ em 450 mL de água deionizada. Cuidadosamente, adicionou-se 56 mL de ácido sulfúrico concentrado e acrescentou-se 6g de $Na_2HAsO_4.7H_2O$ dissolvido em 50 mL de H_2O. O volume foi aferido para 1L e acondicionado em frasco escuro, tendo ficado armazenado por 48 horas.

A extração dos açúcares foi efetuada em duas etapas. Inicialmente, com 100 mg de MMS mais 5 ml de água deionizada. Depois de agitação vigorosa, a mistura foi incubada em banho-maria a 60º C por 30 minutos, seguida por centrifugação a 3.000 rpm por 5 minutos e a coleta do sobrenadante como extrato 1. Na segunda etapa, o sedimento foi submetido novamente a mesma extração e o sobrenadante foi coletado como extrato 2. Os extratos 1 e 2 foram misturados gerando o extrato final. A reação foi feita com 0,5 mL de extrato, diluído de zero a dez vezes conforme os teores de AR.

Para a determinação dos açúcares foram utilizados 1 mL de extrato, diluído de zero a cinco vezes conforme os teores de AR, acrescentando-se 1 mL do reagente de Somogyi, incubação em banho-maria a 100ºC por 10 minutos, resfriado à temperatura ambiente e acrescentado 1 mL do reagente de Nelson. A solução colorida, resultante da reação, foi analisada em espectrofotômetro a 540 nm. Os teores de AR foram calculados pela interpolação dos resultados na curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em mg de glicose g^{-1} de MMS.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento realizado com toletes no Horto Experimental da ESALQ/USP

Tabela 1 - Valores médios do número médio de emergências de cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, em relação aos tratamentos aplicados e aos tempos de avaliações

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)			
	15	30	45	60
Controle	2,7 A	3,0 A	3,0 A	3,0 A
GA 10	1,0 CD	2,2 A	2,2 A	2,2 A
GA 25	0,5 D	2,3 A	2,3 A	2,3 A
GA 50	1,0 BCD	2,4 A	2,4 A	2,4 A
GA 75	0,9 D	1,9 A	2,1 A	2,1 A
Ethephon 225	1,4 ABC	2,0 A	2,0 A	2,0 A
Ethephon 450	2,0 Ab	2,5 A	2,5 A	2,5 A
Ethephon 900	1,5 ABC	2,5 A	2,5 A	2,5 A
Ethephon 1000	1,5 ABC	2,1 A	2,1 A	2,1 A
$CV_{exp.}$(%)	22,12			

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Na fase inicial do desenvolvimento dos toletes, 15 dias após o plantio (DAP), os tratamentos com giberelina (GA), nos toletes no sulco de plantio, retardaram a emergência das gemas da cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, quando comparada ao controle. A partir dos 30 DAP, até o final do período considerado, não foram observadas diferenças significativas dos tratamentos com GA em relação ao controle (tabela 1). Esses resultados corroboraram com os encontrados por Lee et al. (1984), que ao avaliarem a emergência de toletes de cana da variedade NA 56-79, imersos em soluções de reguladores vegetais e tratamento térmico, observaram que giberelina 50 mg L^{-1} reduziu significativamente a emergência dos toletes. A imersão de toletes da variedade CB 49-260, durante uma hora, nas soluções de giberelina 500 e 2000 mg L^{-1}, após tratamento por via úmida, reduziu a emergência dos toletes (CASTRO, 1975 a; CASTRO et al., 1975 b). Após imersão de toletes por doze horas em soluções de GA

100 e 400 mg L^{-1}, antes do plantio, observou-se a inibição na emergência em todas as concentrações de giberelina utilizadas (BUENAVENTURA e ROSARIO, 1978).

Com relação ao número de emergências, sob aplicação dos tratamentos com ethephon (CEPA), nos toletes no sulco de plantio, não foram observadas diferenças significativas em relação ao controle, em todas as avaliações realizadas quinzenalmente (tabela 1). Possivelmente as concentrações de ethephon aplicadas nos toletes tenham sido altas, não promovendo incremento na emergência dos toletes em todas as avaliações realizadas. De acordo com Wen et al. (1989), aplicação de baixas concentrações de ethephon de 50 ou 100 mg L^{-1}, em toletes de cana-de-açúcar, podem incrementar a emergência, sendo que concentrações mais altas podem não causar efeito significativo ou mesmo inibitório. Segundo Manjunatha et al. (2005), ao aplicarem ethephon em toletes de cana-de-açúcar, por imersão, nas variedades K 84-69, K 84-200 e K 86-161 Marcos, na Tailândia, observaram incremento na emergência quando se utilizou ethephon 100 mg L^{-1}, avaliado 2 meses após o plantio. Baglione et al. (1996) e Li e Salomon (2003) observaram incremento na emergência das gemas de cana após a aplicação de ethephon diretamente nos toletes nos sulcos de plantio.

Tabela 2 - Valores da maior altura total média (cm) de cana-de-açúcar, variedade SP 81- 3250, em relação aos tratamentos aplicados e aos tempos de avaliações

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)					
	15	30	45	60	75	90
Controle	13,6 A	42,2 AB	74,9 A	114,8 A	127,1 A	138,6 A
GA 10	7,2 BC	34,2 ABC	69,5 A	111,8 A	129,0 A	150,3 A
GA 25	1,0 CD	30,3 BC	64,2 A	103,4 A	126,4 A	139,0 A
GA 50	5,7 BCD	48,7 A	70,0 A	106,1 A	120,7 A	146,1 A
GA 75	0,6 D	37,6 ABC	79,2 A	104,1 A	130,7 A	158,7 A
Ethephon 225	9,0 AB	31,5 ABC	73,3 A	102,9 A	125,3 A	149,8 A
Ethephon 450	9,5 AB	32,9 ABC	67,9 A	106,1 A	129,6 A	149,6 A
Ethephon 900	5,3 BCD	25,5 C	62,5 A	99,8 A	117,2 A	132,4 A
Ethephon 1000	8,3 AB	32,9 ABC	68,9 A	108,1 A	123,6 A	142,8 A
$CV_{exp.}$(%)	11,89					

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Observamos na tabela 2, na fase inicial de desenvolvimento, que aplicação GA em toletes reduziu a maior altura total média das plantas de cana-de-açúcar 15 DAP. Possivelmente essa redução no tamanho das plantas se deve ao atraso na emergência dos toletes nessa data. A partir dos 30 DAP não foi observada diferença significativa na altura total média das plantas, quando comparadas ao controle. Esses resultados diferem dos encontrados por Castro et al. (1984), onde observaram que a aplicação de GA (29; 48 e 72 mg L^{-1}) em toletes, diretamente no sulco, aumentou gradativamente a altura das plantas em todas as avaliações realizadas, sendo maior essa diferença quando aplicado 72 mg L^{-1} do regulador vegetal.

Notou-se que CEPA 900 mg L^{-1} retardou a maior altura total média das plantas, em relação ao controle, quando avaliada aos 15 e 30 DAP. Sendo que a partir dos 45 DAP, até o final do período considerado, não foram observadas diferenças significativas dos tratamentos com CEPA, quando comparados ao controle (tabela 2). De acordo com Rodrigues (1995), o ethephon, pela ação retardadora do etileno, reduz o crescimento dos entrenós do colmo desenvolvidos na época da pulverização, visto que os entrenós formados posteriormente retomam o crescimento normal. Wiedenfeld (2003) ao estudar três diferentes métodos de aplicação de ethephon em pré–emergência, em toletes de cana-de-açúcar, em diversos genótipos, no Texas, observou que para todos eles, ethephon reduziu consideravelmente o tamanho das plantas. Aplicações de doses crescentes de ethephon, em sementes de trigo, algumas horas antes do plantio, retardou o tamanho das plantas no primeiro mês de desenvolvimento, quando comparadas ao controle (BANOWETZ, 1993).

Na tabela 3, observamos que aplicação de diferentes concentrações de GA em toletes de cana-de-açúcar reduziu o número de perfilhos 45 DAP, quando comparados ao controle, e que esse efeito inibitório na emergência dos perfilhos também ocorreu aos 60 DAP com aplicação de GA 75 mg L^{-1}. Castro et al. (1975 a) constataram que GA 500 e 2000 mg L^{-1}, apesar não apresentarem diferença significativa quando comparados ao controle, mostraram um certo efeito inibidor no número de perfilhos, além de apresentarem anomalias no desenvolvimento das plantas aos 10 e 30 DAP.

Tabela 3 - Valores médios do número de perfilhos de cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, em relação aos tratamentos aplicados e aos tempos de avaliações

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)			
	45	60	75	90
Controle	3,0 C	6,0 C	6,0 DE	6,0 DE
GA 10	0,2 D	4,4 C	5,1 E	5,1 DE
GA 25	0,0 D	4,4 CD	5,5 E	5,5 E
GA 50	0,6 D	4,4 CD	5,1 E	5,1 E
GA 75	0,0 D	2,9 D	4,0 E	4,0 E
Ethephon 225	5,9 B	4,3 CD	7,8 CD	7,8 CD
Ethephon 450	5,9 B	9,2 B	9,2 BC	9,2 BC
Ethephon 900	8,4 A	12,3 A	12,5 A	12,5 A
Ethephon 1000	6,6 AB	10,4 AB	10,6 AB	10,6 A
$CV_{exp.}$(%)	10,87			

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Notaram-se que os diferentes tratamentos com CEPA aumentaram significativamente o número de perfilhos 45 DAP, quando comparados ao controle. Sendo que a partir dos 60 DAP, observou-se que CEPA (900; 1000 e 450 mg L^{-1}) aumentaram significativamente o número de perfilhos até o final do período considerado (tabela 3). Resultados semelhantes, quanto ao aumento inicial rápido do perfilhamento, foram encontrados por Millhollon e Legendre (1995); Wiedenfeld (2003), que ao aplicarem ethephon na pré-emergência de diversos genótipos de cana-de-açúcar, observaram incremento no perfilhamento, seguido por aumento no número de colmos. Naufel et al. (2008), após a aplicação de CEPA na dosagem de 0,5 L ha^{-1} em toletes, observaram incremento significativo do número de perfilhos nas avaliações efetuadas aos 62 e 122 DAP. Aplicação de ethephon em sementes de trigo antes do plantio também aumentou significativamente o número de perfilhos no inicio do desenvolvimento das plantas (BANOWETZ, 1993).

Determinações da altura média dos perfilhos, em plantas obtidas através de pulverização de GA nos toletes no sulco de plantio, apresentaram reduções na altura quando comparados ao controle aos 45 DAP, sendo que a partir dos 60 DAP até o final do período considerado, não foi observada nenhuma diferença significativa entre o controle e os tratamentos com GA (tabela 4). Possivelmente, o atraso observado na emergência dos toletes resultou na redução da altura das plantas e conseqüentemente, em atraso na altura média dos perfilhos. Lee et al. (1984), também observaram atraso na emergência de toletes tratados com giberelina, resultando na redução no tamanho das plantas, quando avaliadas no inicio do desenvolvimento.

Tabela 4 - Valores da altura média (cm) dos perfilhos de cana-de-açúcar, variedade SP 81- 3250, em relação aos tratamentos aplicados e aos tempos de avaliações

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)			
	45	60	75	90
Controle	14,0 A	32,7 BCD	39,5 AB	45,1 A
GA 10	0,4 BC	22,0 D	38,0 AB	54,8 A
GA 25	0,0 C	21,9 D	34,9 B	42,7 A
GA 50	7,1 B	27,7 CD	44,0 AB	53,3 A
GA 75	0,0 C	19,8 D	37,4 B	55,3 A
Ethephon 225	21,3 A	57,7 A	57,7 A	57,9 A
Ethephon 450	19,0 A	39,9 ABC	48,1 AB	49,2 A
Ethephon 900	20,2 A	40,0 ABC	46,9 AB	51,2 A
Ethephon 1000	24,7 A	45,2 AB	51,4 AB	57,7 A
$CV_{exp.}$(%)	13,71			

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Na tabela 4, observamos que a aplicação de CEPA em pré-emergência da cana-de-açúcar, não afetou de forma significativa a altura média dos perfilhos aos 45 DAP. Notou-se aos 60 DAP que CEPA 225 mg L^{-1} aumentou a altura média dos perfilhos, sendo os outros tratamentos não foram significativos quando comparados ao controle. A partir dos 75 DAP, aplicação de CEPA nos toletes não afetou significativamente a altura média dos perfilhos da variedade SP 81-3250 (tabela 4).

Esses resultados possivelmente se devem ao fato de CEPA ter antecipado a emergência dos perfilhos, promovendo assim incremento na altura média destes perfilhos quando comparados ao controle, fato semelhante ao que ocorreu com a média de maior altura dos perfilhos (tabela 5), Gonçalves et al. (1989), também notaram aumento na altura dos perfilhos quando avaliadas aos 90 DAP, nos toletes tratados com ethephon.

Tabela 5 - Valores médios dos perfilhos de maior altura (cm) de cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, em relação aos tratamentos aplicados e aos tempos de avaliações

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)			
	45	60	75	90
Controle	28,2 B	60,2 A	69,5 BC	76,5 B
GA 10	0,2 CD	37,7 B	62,9 BC	76,5 B
GA 25	0,0 D	35,0 B	57,2 C	66,5 B
GA 50	8,1 C	39,8 B	59,9 C	71,4 B
GA 75	0,0 D	28,0 B	58,1 C	74,1 B
Ethephon 225	37,9 AB	71,7 A	82,7 AB	89,6 A
Ethephon 450	33,0 AB	69,9 A	80,4 ABC	84,4 A
Ethephon 900	37,1 AB	72,2 A	82,1 AB	87,1 A
Ethephon 1000	45,3 A	82,8 A	99,6 A	113,1 A
$CV_{exp.}$(%)	11,99			

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

De acordo com a tabela 5, observou-se que os diferentes tratamentos com GA reduziram o comprimento dos perfilhos de maior altura aos 45 e 60 DAP, quando comparados ao controle e que essa diferença não foi notada a partir dos 75 DAP até o final do período avaliado. Possivelmente, o efeito de GA aplicado exogenamente tenha sido mais eficiente até aos 75 DAP, sendo que aos 90 DAP as plantas não responderam mais aos estímulos do regulador, passando a não apresentar diferenças em relação ao controle. Gonçalves (1984), observou que imersão de toletes em soluções de GA (1; 5; 10 e 15 mg L^{-1}), não causou diferença na altura dos perfilhos extremos, quando avaliados aos 90 DAP dos toletes tratados.

Na tabela 5, verificações referentes a média dos perfilhos de maior altura, em plantas de cana-de-açúcar obtidas através de toletes tratados no sulco de plantio, com aplicação de CEPA (225; 450; 900 e 1000 mg L^{-1}), evidenciaram que CEPA 1000 mg L^{-1} aumentou a altura aos 45 e 75 DAP. Sendo que aos 90 DAP, todas as concentrações de CEPA incrementaram significativamente a altura média dos perfilhos. A imersão de toletes em soluções de ethephon 120 e 240 mg L^{-1} incrementaram significativamente a altura dos perfilhos extremos, quando avaliadas aos 90 DAP dos toletes tratados (GONÇALVES et al. 1989).

Tabela 6 - Valores médios para o massa fresca das folhas (MFF), massa secas da folhas (MSF), massa fresca do colmos (MFC) e massa seca do colmos (MSC) de cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, em relação aos tratamentos aplicados, aos 90 após dias o plantio

Biorreguladores (mg.L^{-1})	**MFF** (g.planta^{-1})	**MSF** (g.planta^{-1})	**MFC** (g.planta^{-1})	**MSC** (g.planta^{-1})
Controle	87,8 A	23,9 A	221,6 A	46,0 A
GA 10	72,5 BC	19,8 B	150,7 BC	27,4 B
GA 25	67,8 BC	18,5 B	137,7 C	26,4 B
GA 50	72,4 BC	19,6 B	159,2 BC	31,3 B
GA 75	66,7 C	17,6 B	140,9 C	28,2 B
Ethephon 225	76,1 ABC	20,2 AB	169,1ABC	43,1 AB
Ethephon 450	76,8 ABC	20,3 AB	176,8 ABC	39,9 AB
Ethephon 900	79,2 AB	20,6 AB	169,8 ABC	38,9 AB
Ethephon 1000	79,3 AB	20,9 AB	189,2 AB	56,9 A
$CV_{exp.}$(%)	5,6	6,5	9,9	16,0

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Podemos observar na tabela 6, que a aplicação de GA em diferentes concentrações, em toletes de cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, reduziu a massa fresca e seca das folhas aos 90 DAP. Esses resultados discordam dos encontrados em Porto Rico por Alexander et al. (1970); que verificaram que aplicação GA em cana-de-açúcar incrementou a massa fresca das plantas em aplicações únicas ou repetidas, quando comparadas ao controle. Castro et al. (1975 b), observaram que imersão de toletes da variedade CB 49-260, durante uma hora, nas soluções de reguladores

vegetais, após tratamento por via úmida, não afetou de forma significativa a massa seca da parte aérea, mas as médias mostraram tendência de redução desses valores quando avaliadas 30 DAP.

Aplicação de diferentes tratamentos com CEPA em toletes de cana-de-açúcar não diferiram do controle quando se avaliou a massa fresca e seca das folhas (tabela 6). Esses resultados foram diferentes dos encontrados por Manjunatha et al. (2005), que após aplicarem ethephon na Tailândia, nas variedades K 84-69, K 84-200 e K 86-161 Marcos, por imersão dos toletes, em 3 diferentes concentrações de CEPA (100; 250 e 400 mg L^{-1}), observaram depois de 2 meses que ethephon 100 mg L^{-1} incrementou a massa fresca e seca da parte aérea em todas as variedades avaliadas. Aplicação de ethephon na dosagem de 0,5 L ha^{-1} em toletes, incrementou a massa fresca e seca da parte aérea em duas avaliações realizadas aos 62 e 122 DAP (NAUFEL et al., 2008).

Através da tabela 6, notou-se que os tratamentos com GA reduziram significativamente a massa fresca e seca do colmo aos 90 DAP, quando comparados ao controle. Esses resultados discordam dos encontrados por Alexander et al. (1970) e Buren et al. (1979), que observaram que aplicação de giberelina em cana-de-açúcar incrementou a massa fresca dos colmos. Os resultados de massa seca dos colmos não estão de acordo com os encontrados por Mongelard e Mimura (1972), que observaram aumento na massa seca dos colmos com aplicação de giberelina nas plantas de cana-de-açúcar, quando cultivadas sob temperatura controlada (30,5 °C) durante o dia.

Aplicação de diferentes tratamentos com CEPA em toletes de cana-de-açúcar não diferiram do controle, quando se avaliou a massa fresca e seca do colmo (tabela 6). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Silva et al. (2007) que ao avaliarem a massa fresca do colmo sob aplicação de ethephon, não observaram diferenças significativas quando comparadas ao controle.

Ao avaliarmos a tabela 7 observamos que a aplicação de GA em toletes de cana-de-açúcar, no sulco de plantio, não apresentou diferenças significativas quando se determinou o diâmetro do colmo aos 90 DAP. Esses resultados são semelhantes aos

encontrados por Lee et al. (1984) que ao pulverizarem GA em cana-de-açúcar, em aplicações únicas ou repetidas, não observaram diferenças significativas entre as médias do diâmetro do colmo, quando comparadas ao controle.

Tabela 7 - Valores para o diâmetro médio do colmos (DMC) e diâmetro médio dos perfilhos (DMP) da cana-de-açúcar, variedade SP 81-3250, em relação aos tratamentos aplicados, aos 90 dias após o plantio

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	DMC ($mm.planta^{-1}$)	DMP ($mm.planta^{-1}$)
Controle	14,6 A	3,93 A
GA 10	15,1 A	4,05 A
GA 25	14,5 A	3,92 A
GA 50	15,3 A	4,02 A
GA 75	16,2 A	4,13 A
Ethephon 225	14,9 A	3,97 A
Ethephon 450	15,4 A	4,04 A
Ethephon 900	15,8 A	4,09 A
Ethephon 1000	15,7 A	4,07 A
$CV_{exp.}$(%)	16,5	8,6

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para análise estatística utilizou-se transformação $(n/10)^{0,5.}$

Na tabela 7, observou-se que a aplicações de CEPA em toletes de cana-de-açúcar, no sulco de plantio, não apresentou diferenças significativas quando se avaliou o diâmetro do colmo aos 90 DAP. Segundo Landell e Silva (2004), o diâmetro dos colmos, em conjunto com a altura e o perfilhamento, são os componentes responsáveis pela formação do potencial agrícola da cultura da cana-de-açúcar. Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Silva et al. (2007), que ao aplicarem ethephon em três variedades de cana-de-açúcar, não observaram diferenças no diâmetro dos colmos.

Pulverizações com doses crescentes de GA em toletes de cana-de-açúcar, no sulco de plantio, não apresentaram diferenças significativas no diâmetro dos perfilhos, quando comparados aos demais tratamentos (tabela 7). Estudos mostram que aplicações de giberelina em diversas espécies vegetais podem reduzir o diâmetro dos

colmos e ramos das plantas ou mesmo não promoverem diferenças significativas, quando comparadas ao controle, pelo fato da giberelina atuar sobre o alongamento do colmo em detrimento do aumento do diâmetro (MODESTO et al. 1999; TAVARES et al., 2007).

Na tabela 7, podemos observar que aplicações de doses crescentes de CEPA em toletes de cana-de-açúcar não afetaram significadamente o diâmetro dos perfilhos, quando comparado com os demais tratamentos. Tem sido demonstrado que o etileno regula várias respostas nos vegetais como germinação, diferenciação e crescimento celular, florescimento e senescência, entretanto parece promover diferença significativa no diâmetro das plantas, somente quando são cultivadas em ambiente com escassez de luz ou no escuro (TAIZ; ZEIGER, 2009).

4. 2 Experimento realizado em soqueiras na Estação Experimental da Syngenta

Tabela 8 - Valores médios da maior altura total (cm), onde foi avaliado a média das 5 maiores folhas, da variedade RB 86 7515, em relação aos tratamentos aplicados

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)					
	15	30	45	60	75	90
Controle	27,9 BC	47,2 BC	70,8 BCD	83,3 BC	91,8 ABC	103,4 ABC
GA 10	29,3 ABC	57,5 AB	76,0 ABC	95,2 AB	102,6 AB	113,1 AB
GA 25	45,4 AB	62,5 AB	89,4 A	101,8 A	103,7 AB	115,2 AB
GA 50	45,1 AB	66,2 A	88,0 A	101,6 A	107,0 A	118,8 A
GA 75	45,2 AB	68,2 A	90,3 A	103,8 A	106,2 AB	118,8 A
Ethephon 225	24,5 C	35,9 CD	57,6 DEF	73,1 CD	82,0 CD	94,4 C
Ethephon 450	21,7 C	33,7 CD	59,3 CDE	73,9 C	87,9 BCD	97,7 BC
Ethephon 900	17,6 C	22,2 D	39,9 F	55,0 D	71,0 D	88,3 C
Ethephon 1000	19,1 C	25,2 D	47,7 EF	65,8 CD	81,2 CD	98,5 BC
$CV_{exp.}$(%)	10,4					

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Na tabela 8, podemos observar que a aplicação de giberelina (GA) em soqueiras de cana-de-açúcar de primeiro corte, variedade RB 86 7515, não afetaram a altura total média plantas aos 15 dias após a aplicação (DAA) e que aos 30 DAA os tratamentos com GA 75 e 50 mg L^{-1} aumentaram a altura das plantas. Aos 45 e 60 DAA, GA 75; 25 e 50 mg L^{-1} diferiram do controle, aumentando a altura das plantas. A partir dos 75 DAA não foram mais observadas diferenças entre os tratamentos de GA com relação ao controle. Podemos notar que os efeitos significativos no incremento da altura ocorreram por aplicação das concentrações mais altas de GA, onde 10 mg L^{-1} não revelou significância quando comparado ao controle e que a partir dos 60 DAA o efeito do regulador foi reduzido, fazendo com que as plantas tratadas com GA não apresentassem mais diferenças em relação ao controle. Alexander et al. (1970) também verificaram aumento no comprimento do colmo da cana-de-açúcar no tratamento com giberelina. Aplicação de GA 60; 100 e 125 g ha^{-1} em cana-de-açúcar de quarto corte, variedade CB 51-22, promoveu incremento na altura total das plantas aos 90 DAP (CASTRO et al., 1982).

Podemos observar que a aplicação de ethephon (CEPA) em soqueiras de cana-de-açúcar de primeiro corte, não afetou a altura aos 15 DAA. Sendo que aos 30 DAA os tratamentos com CEPA 900 e 1000 mg L^{-1} retardaram a altura das plantas. Aos 45 DAA CEPA 900 e 1000 mg L^{-1} também diminuíram o crescimento. Aos 60 e 75 DAA notamos que CEPA 900 mg L^{-1} reduziu a altura das plantas. Aos 90 DAP não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com CEPA em relação ao controle (tabela 8). Esses resultados também foram observados por Castro et al. (1985), que após promoverem a pulverização foliar em soqueira de cana-de-açúcar com ethephon, observaram uma drástica diminuição na altura das plantas, sendo que doses crescentes do biorregulador promoveram maior ação retardante. Silva et al. (2007), notaram efeito negativo na variedade IAC 91-5155 com o uso de ethephon, cujo comprimento médio dos colmos foi reduzido após a aplicação do regulador nas plantas. Lucchesi et al. (1979), observaram redução do comprimento da cana sob aplicação de ethephon aos 40 DAA. Millhollon e Legendre (1995) obtiveram, tanto com aplicação em pré quanto em pós-emergência de ethephon, redução do comprimento de colmos em todas as variedades avaliadas, apesar de nem todas as diferenças mostrarem-se

significativas. De acordo com Rodrigues (1995), o ethephon, pela ação retardadora do etileno, reduz o crescimento dos entrenós do colmo desenvolvido na época da pulverização, sendo que os entrenós formados posteriormente retomam o crescimento normal.

Tabela 9 - Valores médios para o número de perfilhos de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, em relação aos tratamentos aplicados

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)					
	15	30	45	60	75	90
Controle	6,5 A	13,0 A	14,7 A	20,0 ABC	23,2 BC	27,0 BC
GA 10	6,2 A	20,0 A	25,2 A	26,0 ABC	27,2 ABC	27,7 BC
GA 25	8,5 A	15,2 A	15,2 A	15,7 BC	16,7 C	16,7 C
GA 50	9,0 A	10,2 A	14,2 A	14,2 C	15,2 C	16,5 C
GA 75	8,7 A	10,2 A	13,0 A	17,7 BC	20,0 C	20,0 C
Ethephon 225	9,5 A	17,7 A	21,5 A	25,5 ABC	33,7 ABC	40,2 AB
Ethephon 450	10,7 A	16,0 A	25,2 A	31,7 ABC	32,2 ABC	34,0 ABC
Ethephon 900	5,5 A	22,2 A	27,0 A	33,7 AB	40,5 AB	44,2 A
Ethephon 1000	19,2 A	28,7 A	30,2 A	37,7 A	43,7 A	47,2 A
$CV_{exp.}$(%)	36,1					

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Observaram-se que doses crescentes de GA, aplicadas em soqueiras de cana-de-açúcar de primeiro corte não resultou em diferenças significativas no número de perfilhos, quando comparadas ao controle (tabela 9). Esses resultados foram semelhantes aos observados por Gonçalves (1984), que aplicou diferentes concentrações de giberelina em plantas jovens de cana-de-açúcar e não verificou diferença significativa no número de perfilhos. Na tabela 9, observou-se que a aplicação de CEPA 1000 mg L^{-1} em soqueiras de cana-de-açúcar de primeiro corte, incrementou significativamente o número de perfilhos aos 75 DAA. Esse aumento também foi verificado aos 90 DAA pela aplicação de CEPA 1000 e 900 mg L^{-1}. Segundo Castro (2000) a remoção da gema apical por aplicação de regulador vegetal tem como resposta a quebra de dormência das gemas laterais, uma vez que as oligossacarinas que inibiam o desenvolvimento dessas gemas, deixam de ser produzidas e liberam a brotação lateral, que é conhecida como perfilhamento ou brotação lateral. Nailwal et al.

(2004) esclarecem que o efeito do etileno, tanto em pré-tratamento dos colmos de cana-de-açúcar quanto em aplicação foliar, diminui o transporte de auxina temporariamente, quebrando a dominância apical e, portanto, estimula a produção de novas ramificações (perfilhos). Lucchesi et al. (1979), realizou aplicação de ethephon em cana-soca de quarto corte, obtendo aumento significativo no perfilhamento e no número de colmos industrializáveis. Silva et al. (2007) aplicaram ethephon 126 dias antes da colheita e notaram aumento no perfilhamento em dois de três genótipos, até 180 dias após o corte e incremento na produtividade dos colmos da cana-soca subsequente. Aplicação de ethephon em soqueira de diversos genótipos de cana-de-açúcar mostrou-se favorável e significativa no incremento do número de perfilhos, quando comparados ao controle (GONÇALVES, 1993; LI; SOLOMON, 2003, SILVA et al., 2010).

.

Tabela 10 - Valores para o número médio de perfilhos por touceira de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, em relação aos tratamentos aplicados

Biorreguladores ($mg.L^{-1}$)	**Tempo** (dias)					
	15	30	45	60	75	90
Controle	0,7 A	1,5 B	1,7 BC	2,7 BC	3,0 BC	3,5 BCDE
GA 10	1,0 A	3,0 AB	3,5 ABC	3,5 ABC	3,5 ABC	3,5 BCDE
GA 25	1,0 A	1,7 AB	2,0 ABC	2,0 C	2,0 C	2,0 E
GA 50	2,0 A	2,2 AB	3,0 ABC	3,0 ABC	3,0 BC	3,2 CDE
GA 75	1,2 A	1,5 B	1,5 C	2,2 C	2,7 BC	2,7 DE
Ethephon 225	1,2 A	2,2 AB	2,7 ABC	3,5 ABC	4,5 ABC	5,5 ABC
Ethephon 450	1,7 A	2,5 AB	4,2 AB	5,0 AB	5,0 AB	5,2 ABCD
Ethephon 900	0,7 A	3,0 AB	3,5 ABC	4,2 ABC	5,7 A	6,0 A
Ethephon 1000	2,7 A	4,2 A	4,5 A	5,5 A	6,0 A	6,5 A
$CV_{exp.}$(%)	34,7					

Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A pulverização de soqueiras com doses crescentes de GA em cana de primeiro corte, não afetou de forma significativa o número de perfilhos por touceira, em todas as avaliações quinzenais realizadas (tabela 10). Esses resultados também foram observados por Gonçalves (1984), que ao aplicarem diferentes concentrações de

giberelina em plantas jovens de cana-de-açúcar, não notaram diferença no perfilhamento.

Através da tabela 10, notou-se que CEPA 1000 mg L^{-1} aumentou significativamente o número de perfilhos por touceira dos 30 aos 90 DAA, sendo que CEPA 900 mg L^{-1} também incrementou o número de perfilhos dos 75 DAA. Ethephon estimulou o aumento no número de perfilhos por metro, nos genótipos IAC 91-5155 e IAC 93-6006, até os 280 dias após a aplicação, em soqueira de cana-de-açúcar de quarto corte, quando comparada ao controle (SILVA et al., 2010).

4.3 Análises tecnológicas

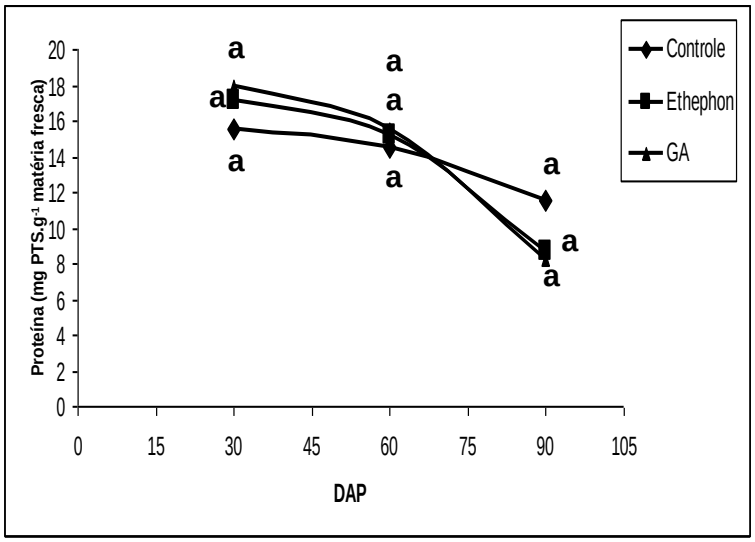

Figura 1- Proteína total solúvel, da folha de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, sob efeito de biorreguladores. Símbolos com letras iguais, na mesma data, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

Verificamos na figura 1, que quantidade de proteína total solúvel da folha de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, não foi alterada pela aplicação dos reguladores dos 30 aos 90 dias após o plantio (DAP). Observou-se também uma tendência de uma maior diminuição no teor de proteína total solúvel a partir dos 60 DAP para todos os tratamentos, com destaque para GA e CEPA. Apesar de não observarmos diferenças

significativas, notamos uma tendência dos efeitos dos reguladores de diminuírem o teor de proteína nas folhas aos 90 DAP, provavelmente essas proteínas poderiam estar sendo translocadas para a formação de novas enzimas, aminoácidos e proteínas, nos novos drenos em desenvolvimento. A aplicação de GA em toletes de cana-de-açúcar promove o surgimento de novos drenos, devido ao crescimento acelerado da parte aérea (regiões apicais) da cana. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Castro et al. (1982), onde após a aplicação de giberelina em cana CP 51-22, ocorreu incremento considerável do crescimento na região apical das plantas, causando estiolamento. A tendência de diminuição das proteínas quando se aplicou CEPA, pode ser justificada pela indução de perfilhamento, onde um aumento considerável no número de perfilhos faz com as proteínas das folhas sejam traslocadas rapidamente para esses novos drenos, reduzindo assim o teor de proteína nas folhas. Naufel et al. (2008), após a aplicação de CEPA na dosagem de 0,5 L ha^{-1} em toletes, observaram incremento significativo do número de perfilhos nas duas avaliações efetuadas aos 62 e 122 DAP.

Na figura 2 A verificamos que a atividade da enzima invertase ácida na folha de cana-de-açúcar variedade RB 86 7515, não foi alterada pela aplicação dos reguladores GA e CEPA aos 30; 60 e 90 DAP, sendo que para os todos os tratamentos, ocorreu ao longo do tempo, uma maior atividade aos 60 DAP. De acordo com os resultados da figura 2 A, a enzima invertase ácida não alterou sua atividade quando comparada ao controle, não corroborando resultados de Gayler e Glasziou (1972); Legendre (1975) que consideraram que a atividade dessa isoenzima pode ser alta ou baixa, respectivamente, em condições favoráveis ao crescimento ou em condições desfavoráveis, como por exemplo sob estresse hídrico, fotoperíodo muito curto, temperaturas baixas e aplicação de reguladores vegetais.

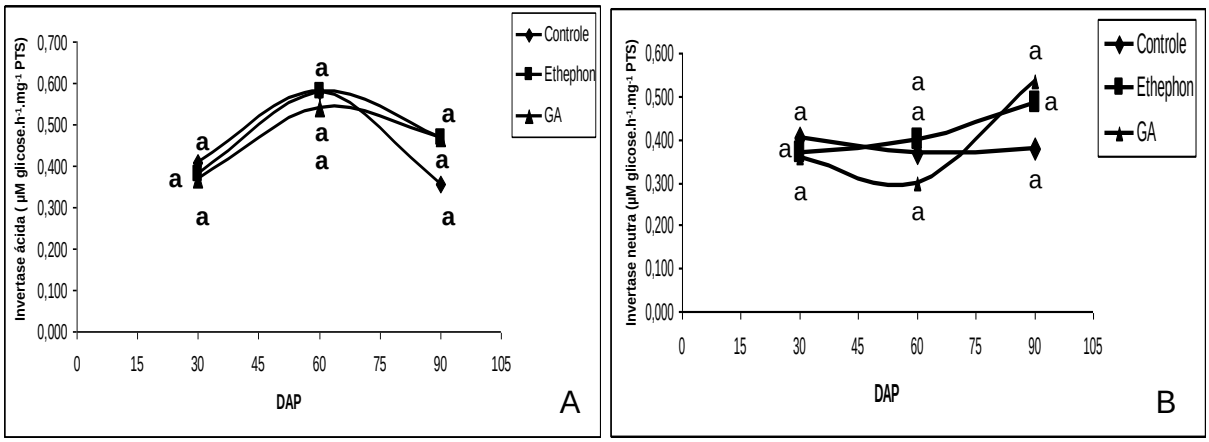

Figura 2 - Atividade da enzima invertase ácida (A) e invertase neutra (B) das folhas de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, sob efeito de biorreguladores. Símbolos com letras iguais, na mesma data, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

Verificações referentes a atividade da invertase neutra, na folha de cana-de-açúcar, evidenciaram que os tratamentos com GA e CEPA não provocaram variações significativas quando comparados ao controle (figura 2 B). Apesar de não observarmos diferenças significativas, podemos notar uma tendência de aumento nos teores da invertase neutra aos 90 DAP, o que indica uma provável função da enzima na mobilização da sacarose foliar para órgãos que estão em franco desenvolvimento, como perfilhos e ápices caulinares, obedecendo aos estímulos dados pelos reguladores GA e CEPA, respectivamente. Nos tecidos maduros do colmo, onde os processos de crescimento estão praticamente finalizados, ocorre declínio da concentração da SAI e, então, a invertase neutra (NI) torna-se predominante. Essa enzima, com o baixo nível da SAI, governa o acúmulo ativo de sacarose no vacúolo, posteriormente nos tecidos com maior maturidade, que apresentam teores de sacarose em torno de 20%, há armazenamento de sacarose nos espaços intercelulares (LINGLE, 1999). Vários autores atribuem a capacidade efetiva de armazenamento de sacarose, aos elevados níveis da NI em relação à SAI e à correlação significativa entre o teor de sacarose e o nível de NI (HATCH; GLASZIOU, 1963; RICARDO; SOVIA, 1974; SUZUKI, 1983; ROSE; BOTHA, 2000).

Na figura 3 A, notou-se decréscimo gradual nos teores de açúcares redutores, sendo que observou-se a ocorrência de um decréscimo significativo no teor de açúcares redutores aos 60 DAP, quando as plantas foram tratadas com GA. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Alexander et al. (1970), que observaram redução dos açúcares redutores em cana tratada com GA. Castro et al. (1982), não notaram diferenças significativas nos teores de açúcares redutores com aplicação de GA em cana-de-açúcar. Sendo a folha o local de síntese dos açúcares redutores, é de se esperar que logo após a biossíntese esses sejam drenados para o caule e outros órgãos dreno. Pode-se observar que a medida que há um aumento na atividade dos drenos, ocorre redução nos níveis de açúcares redutores nas folhas porque estão sendo utilizados na síntese de sacarose, o que está evidenciado nas figuras 3 A e B até os 60 DAP. Após essa data, possivelmente a alocação de carboidratos para os novos drenos induzidos por efeito de GA e CEPA, no crescimento das gemas apicais e perfilhos, respectivamente, reduzem os teores de açúcares redutores nas folhas. Para Castro et al. (2001), a gradativa queda dos teores de açúcares redutores revela que eles são utilizados para a síntese endógena de sacarose, sendo que sua estabilização em níveis mínimos, evidencia que pouco restou desses carboidratos para contribuírem com essa síntese.

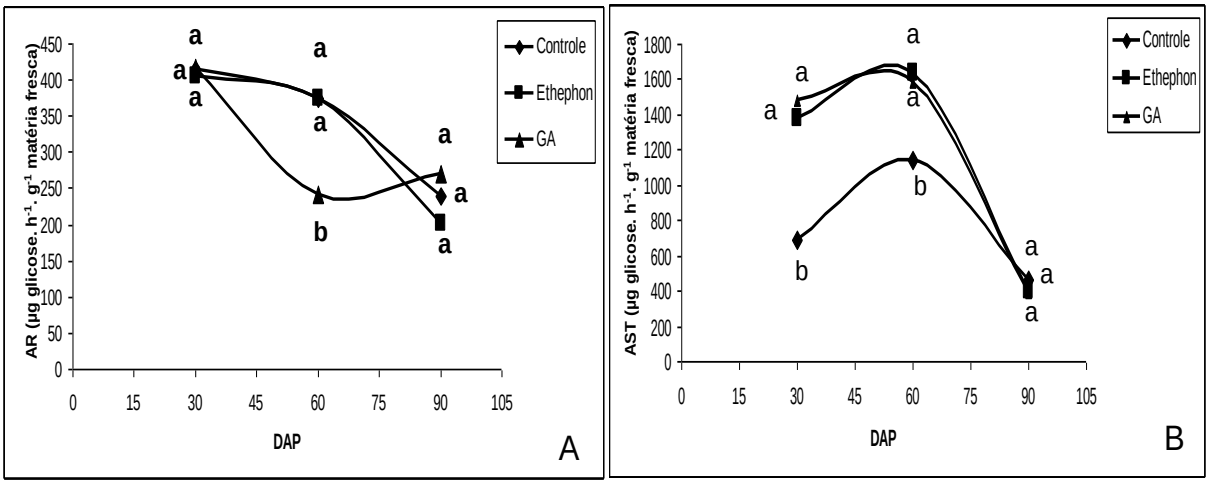

Figura 3 - Açúcares redutores totais (AR) (A) e açúcares solúveis totais (AST) (B) da folha de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, sob efeito de biorreguladores. Símbolos com letras iguais, na mesma data, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

Através da figura 3 B, notou-se uma diferença nos teores de açúcares totais solúveis por efeito de CEPA e GA, quando comparados com o controle, aumentando os conteúdos dos açúcares aos 30 e 60 DAP. Com relação a seus açúcares totais, cujo principal componente é a sacarose, observa-se um significativo efeito dos biorreguladores empregados entre os 30 e 60 DAP em relação ao controle e após esse período nota-se o mesmo comportamento dos açúcares, devido ao aumento na atividade dos drenos. Os resultados estão de acordo com Bull (1964) que após aplicar GA em cana em início de desenvolvimento, na Austrália, nas concentrações de 100 e 200 mg L^{-1} , sob condições de casa de vegetação, observou aumento no teor de açúcares totais e na tonelagem do colmo. O resultado observado no aumento da produção de sacarose aos 60 DAP, sob aplicação de CEPA foi semelhante ao encontrado por Almeida et al. (2003), que notaram um maior aumento na produção de sacarose por volta dos 75 dias após a aplicação do regulador vegetal ethephon.

Tabela 11 - Médias da atividade da invertase ácida (INA), µM glicose.h^{-1}.mg^{-1} PTS, invertase neutra (IN), µM glicose.h^{-1}.mg^{-1} PTS, proteína total solúvel (PST), mg PTS.g^{-1} matéria fresca, açúcares redutores totais (AR), µg glicose. h^{-1}.g^{-1} matéria fresca e açúcares solúveis totais (AST), µg glicose. h^{-1}.g^{-1} matéria fresca, do colmo de cana-de-açúcar, variedade RB 86 7515, aos 90 dias após o plantio (DAP), sob efeito de biorreguladores

Biorreguladores	INA	IN	PTS	AR	AST
Controle	1,68 A	2,84 A	3,726 A	1.702,4 A	222,5 A
Ethephon	0,88 B	0,88 B	3,878 A	1.309,3 B	132,7 C
GA	1,19 B	1,12 B	4,210 A	1.387,1 B	162,8 B
$CV_{exp.}$(%)	15,8	32,4	14,8	9,9	4,5

Nas colunas, médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Na tabela 11, observou-se que a aplicação dos reguladores GA e CEPA em toletes de cana-de-açúcar, reduziu a atividade da INA nos colmos da planta, quando comparada ao controle. Esses resultados discordam dos encontrados por Leite et al. (2009), que aos 90 DAA de ethephon em cana soca de segundo corte, observaram aumento significativo nos teores de invertase ácida nos colmos. A diminuição na atividade da enzima invertase ácida por ação de GA vem corroborar com os resultados de Alexander (1968), que após pulverizar cana-de-açúcar variedade P.R. 980 com GA,

em Porto Rico, observou redução nos teores da enzima invertase ácida nos colmos, 6 semanas da aplicação do biorregulador.

Ao se avaliar a atividade IN no colmo, observou-se que os tratamentos afetaram a enzima de forma significativa, diminuindo a atividade da invertase neutra sob aplicação de GA e CEPA, determinada aos 90 DAP. A baixa atividade das invertases no colmo, vem corroborar a observação de que a sacarose foi direcionada para as regiões com intenso desenvolvimento, ou seja aos novos drenos que estão se formando por efeito dos biorreguladores. Na literatura, é conhecido que a aplicação de GA estimula o crescimento das plantas de cana-de-açúcar, fazendo com que se mantenham no estágio vegetativo por mais tempo, antes dos colmos entrarem em estágio de maturação. Segundo Weaver, (1972), a utilização de giberelina (ácido giberélico) produz geralmente um estímulo no crescimento do caule e aumento na produtividade de gramíneas. A formação de novos perfilhos nas plantas, por efeito do CEPA, pode ter retardado o ciclo de maturação dos colmos basais aos 90 DAP, onde eles se mantiveram imaturos. Leite et al. (2009), aos 90 após a aplicação de ethephon em cana soca de segundo corte, não observaram aumento na atividade da invertase neutra, quando comparada ao controle.

Os teores de açúcares redutores e açúcares solúveis totais no colmo foram menores em relação ao controle com a aplicação de GA e CEPA em toletes, com destaque para GA, que reduziu fortemente o teor de açúcares solúveis totais no colmo. Nas células meristemáticas das gemas laterais, estimuladas pelo CEPA, que passam a ser gemas em brotação, aumenta a necessidade por mais energia, incrementando a força de dreno, o que pode ser observado na tabela 11, onde houve também uma diminuição nos açúcares redutores (glicose e frutose) e solúveis totais (sacarose). A ocorrência da brotação lateral, pode implicar na queda da qualidade tecnológica dos colmos, uma vez que a formação dessas brotações tardias mobiliza considerável quantidade de energia da planta, em contrapartida ao processo de acúmulo de sacarose (LEITE; CRUSCIOL, 2008).

A redução dos teores de açúcares redutores e totais no colmo, quando se aplicou GA, provavelmente deve-se ao fato desse regulador vegetal aumentar o crescimento das plantas, quando esses açúcares possivelmente foram alocados para

as novas partes em desenvolvimento. Segundo Priestley (1962), a mobilização rápida das reservas nos locais de síntese/armazenamento depende da relação fonte/dreno, sendo que quanto maior o número de drenos, maior a intensidade de alocação das reservas. Melo et al. (1995), também observaram uma redução nos teores de açúcares redutores, ao avaliar o desenvolvimento de toletes de cana aos 42 dias após o plantio, atribuindo a esses resultados a hipótese de que sendo o tolete uma região de intensa atividade metabólica, a sacarose é imediatamente utilizada, não acumulando assim os produtos de degradação da sacarose (glicose e frutose). Segundo Dillewijn (1952); Melo et al. (1995) a redução dos açúcares totais solúveis é resultado da ocorrência de interconversão da sacarose em outras substâncias, na fase de franco desenvolvimento da planta, como ocorre nos toletes, por aumento dos teores de amido durante a brotação.

Os resultados obtidos para as proteínas totais solúveis apresentados na tabela 11, permitem considerar que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Possivelmente pelo fato dos tecidos do colmo ainda estarem imaturos. Os resultados mostram que GA aplicado em toletes de cana-de-açúcar, avaliados aos 90 DAP, não alterou os teores de proteínas nos colmos, sendo que esta constatação concorda com Alexander (1968), que após avaliar os teores de proteínas nos colmos imaturos de cana-de-açúcar, sob aplicação de GA, também não observou diferenças significativas nos teores de proteínas, seis semanas depois da aplicação do biorregulador. A aplicação de CEPA no tolete não causou variação no teor de proteínas, quando avaliado aos 90 DAP, possivelmente por esses tecidos ainda estarem imaturos, já que é conhecido que CEPA aumenta o efeito do etileno nos colmos e conseqüentemente incrementa o teor de proteína em tecidos em inicio ou em plena maturação. De acordo com Bleinroth (1981), o aumento de proteínas ocorre no período de maturação dos tecidos, podendo ser atribuído ao fato da metionina e/ou a beta-alanina, atuar como precursores do etileno em tecidos vegetais.

4.4 Desenvolvimento das plantas *in vitro* sob aplicação de GA e CEPA

Verificações referentes ao número médio de perfilhos em plantas de cana-de-açúcar obtidas através de aplicações de diferentes dosagens de giberelina (GA) em

meio de cultura, *in vitro*, mostraram que o regulador reduziu o número médio de perfilhos da cana-de-açúcar variedade IAC 95-5000 (figura 4 A). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Araújo et al., (2008), que após a aplicação de giberelina mais BAP em plântulas de abacaxizeiro em meio de cultura, *in vitro*, em diferentes concentrações, observou que quando se aplicava GA ele reduzia o número de brotações das plântulas.

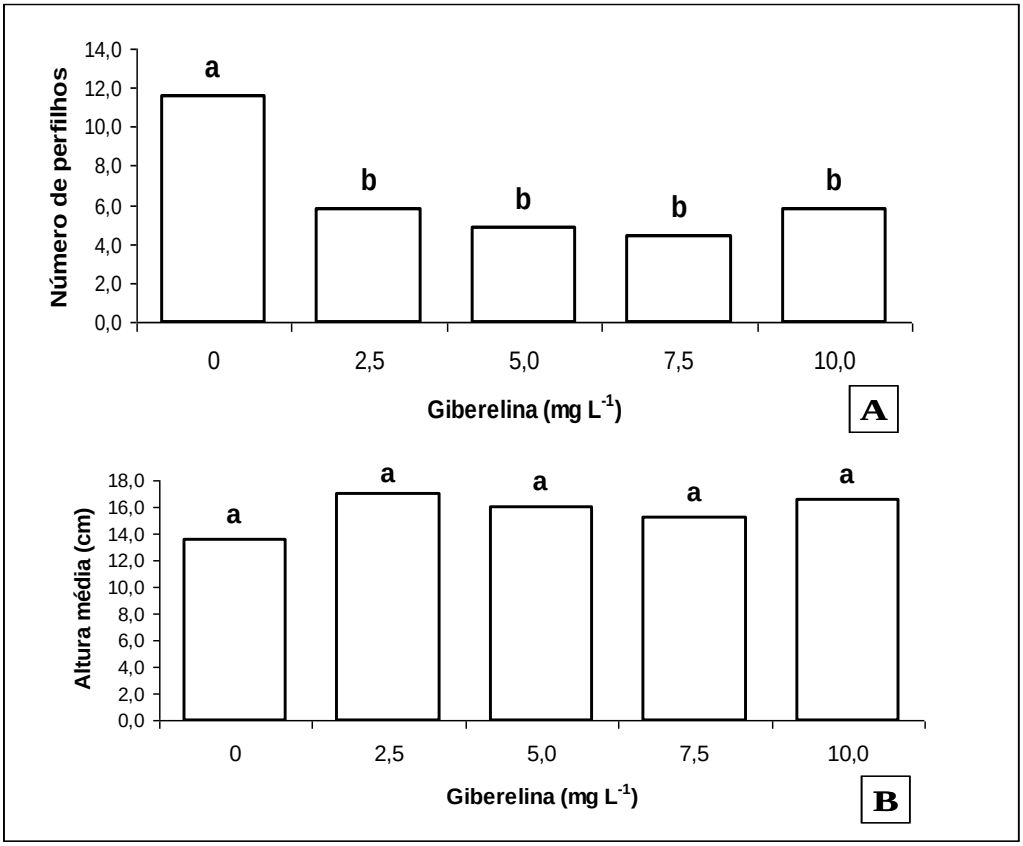

Figura 4 - Número de perfilhos (A) e altura média dos perfilhos (B) das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de giberelina 30 após a após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Sendo que para A, utilizou-se na análise estatística a transformação de log (10)

Observou-se na figura 4 B, que os tratamentos aplicados em meio de cultura, *in vitro*, de GA (2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg L^{-1}), não afetaram a altura média das plantas, sendo que observou-se uma tendência do aumento da altura total média (do colo até a

extremidade da folha mais alta). Possivelmente os nutrientes do meio de cultura *in vitro*, já se encontrassem esgotados, restringindo o crescimento mais acelerado por ação do regulador. A aplicação de giberelina em monocotiledôneas acelera o crescimento das plantas por aumentar a produção de células na região meristemática intercalar, fazendo com que ela cresça mais rapidamente (SAUTER et al., 1995). Aplicação de ácido giberélico na cultura de arroz promove crescimento rápido do meristema intercalar, causando aumento significativo na altura dessas plantas (FRANCIS; SORRELL, 2001).

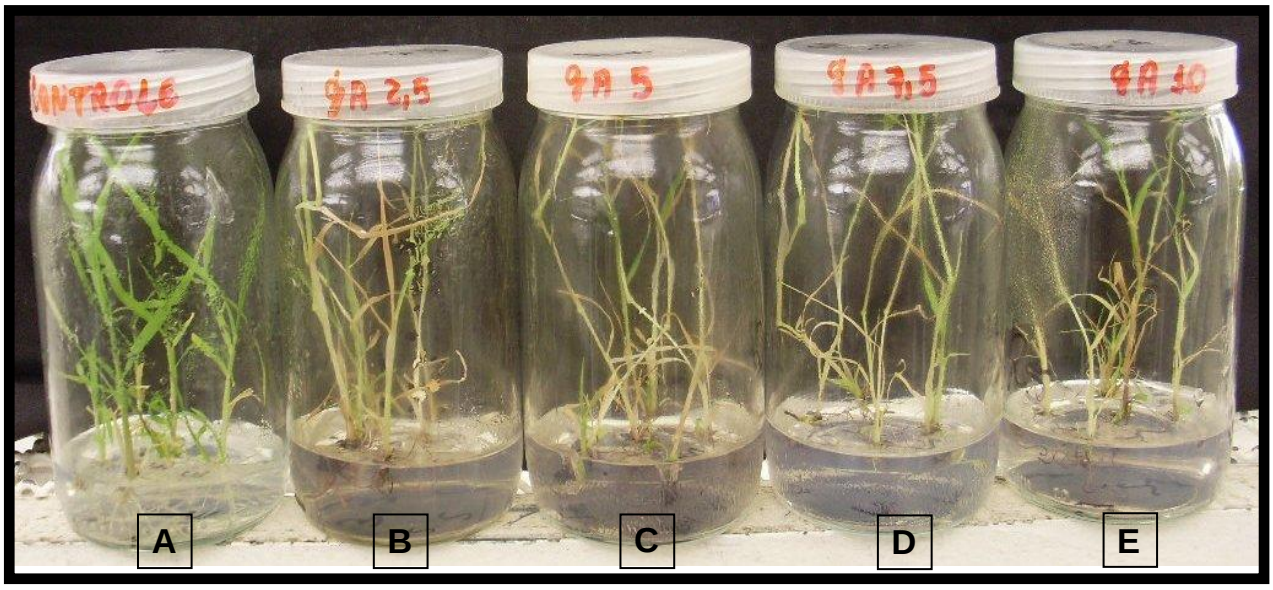

Figura 5 - Plântulas estioladas de cana-de-açúcar da variedade IAC 95-5000, 30 dias após a aplicação de giberelina em meio de cultura (A): Controle; (B): 2,5 mg L^{-1}; (C): 5,0 mg L^{-1}; (D): 7,5 mg L^{-1} e (E): 10 mg L^{-1}

Na figura 6, A e B notamos que a aplicação de GA em meio de cultura, *in vitro*, não promoveu diferenças significativas na massa fresca e seca da parte aérea, respectivamente, quando comparada ao controle. Esses resultados diferem dos encontrados por Ribeiro et al. (2006), que notaram um aumento significativo na massa fresca e seca das plântulas de *Zantedeschia aethiopica*, quando se aplicou giberelina em concentrações crescentes em meio de cultura, entretanto foi observado um efeito tóxico nas concentrações mais altas do biorregulador.

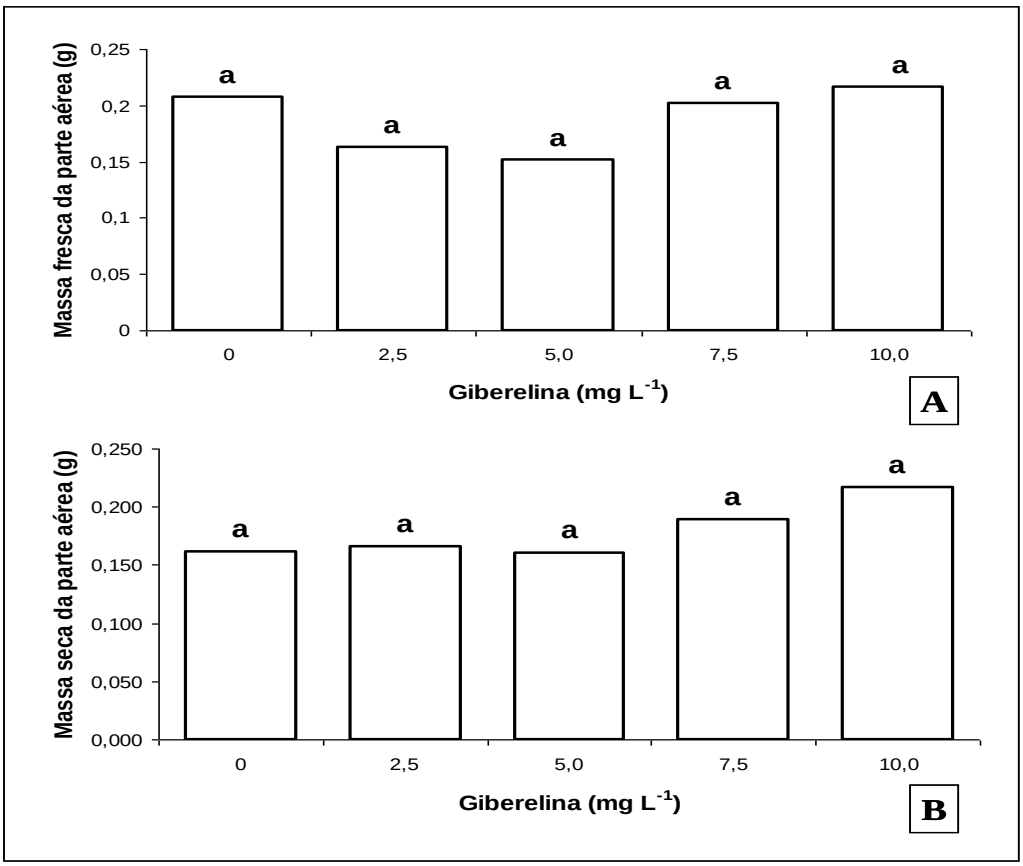

Figura 6 - Massa fresca da parte aérea (A) e massa seca da parte aérea (B) das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de giberelina 30 após a após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Sendo que para B utilizou-se na análise estatística a transformação de log (10)

De acordo com a figura 7 A, os tratamentos *in vitro* com GA nas concentrações (5,0; 7,5 e 10,0 mg L^{-1}), reduziram a massa fresca da raiz. Com relação massa seca da raiz, podemos observar que GA em diferentes concentrações não alterou significativamente a mesma (figura 7 B). Segundo Assis e Teixeira (1998), as giberelinas têm demonstrado ação inibitória no enraizamento, por interferir na atividade de auxinas e inibir a divisão celular, associada com a fase de iniciação radicular. Kochba et al. (1974) consideraram que a presença de ácido giberélico no meio de cultura proporciona a iniciação de uma zona meristemática radicular e/ou estimula o desenvolvimento da zona radicular. Todavia, quando aplicado em concentrações elevadas, impede a formação de raízes.

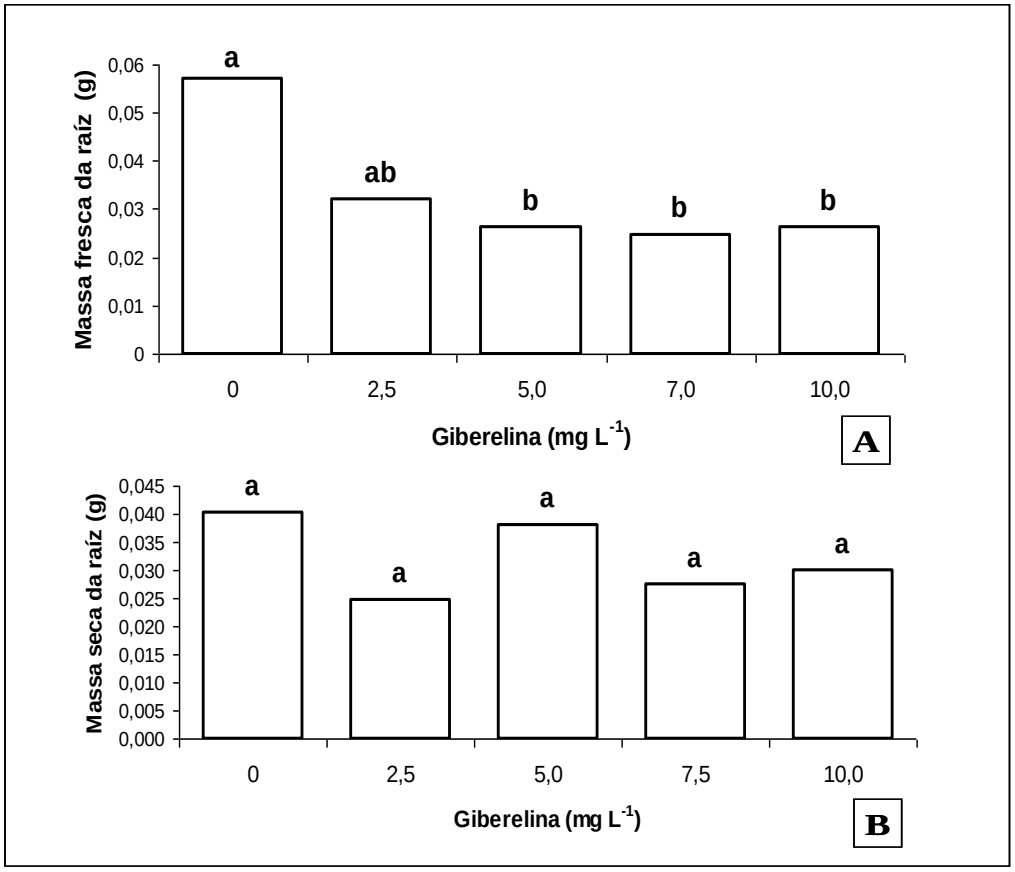

Figura 7 - Massa fresca da raiz (A) e massa seca da raiz (B), das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de giberelina 30 após a após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Sendo que para A e B utilizou-se na análise estatística a transformação de log (10)

Notamos na figura 8 A, um aumento significativo no número médio de perfilhos nas microplantas de cana-de-açúcar IAC 95 5000, quando se aplicou ethephon (CEPA) em meio de cultura, *in vitro*, nas concentrações (25; 50; 100 e 200 mg L^{-1}), sendo o resultado mais evidente para a concentração de 50 mg L^{-1}, que incrementou o número de perfilhos em mais de duas vezes, quando comparado ao controle. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados por Nailwal et al. (2004), na Índia, que ao aplicarem ethephon em diferentes concentrações em meio de cultura, *in vitro,* em plântulas de cana-de-açúcar da variedade Co Pant 84211, nas concentrações de 50 e 100 mg L^{-1}, incrementaram o número de perfilhos em 84 e 184%, respectivamente, entretanto, as plântulas apresentaram sintomas de toxidez quando se aplicou a concentração de 200 mg L^{-1}. O aumento no número de brotações

laterais por aplicação de ethephon em meio de cultura, *in vitro*, já foi observado em diversos cultivos, sendo que a concentração ideal a ser aplicada a cada um deles pode variar de acordo com a sensibilidade dos tecidos de cada espécie vegetal (PANIZZA et al., 1993; NOUR; HORPE, 1994; DIMASI-THERIOU; ECONOMOU, 1993). Segundo Leite (2005), a utilização de ethephon na cultura de cana-de-açúcar é justificável pelo fato deste produto químico aumentar o perfilhamento das plantas.

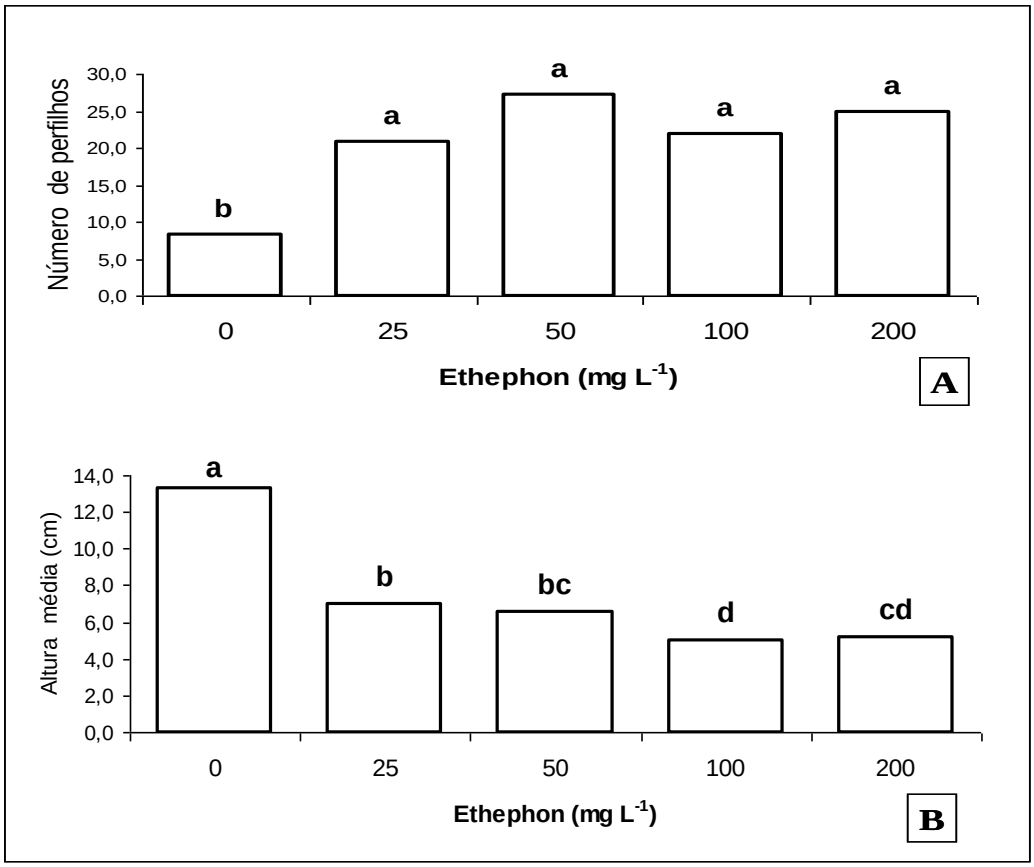

Figura 8 - Número de perfilhos (A) e altura média dos perfilhos (B) das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de ethephon 30 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Sendo que para A e B utilizou-se na análise estatística a transformação de log (10)

A altura total média das plantas (do colo até a extremidade da folha mais alta), foi reduzida por ação do CEPA aplicado em meio de cultura, *in vitro*, em todas as concentrações utilizadas, quando comparadas ao controle, sendo essas diferenças

maiores nas plantas sob aplicação de 100 e 200 mg L^{-1} (figura 8 B). A redução no tamanho das plantas possivelmente se deve a ocorrência de diminuição da divisão mitótica das células por efeito aplicação de CEPA. Investigações sobre os efeitos específicos do etileno na divisão celular são ainda bastante limitadas, mas permitem a observação de que o etileno tem um efeito significativo na redução da divisão celular, causando um efeito inibitório no crescimento e desenvolvimento celular (KUMAR et al., 1998). Etileno causou significativa redução na divisão celular na cultura de cana-de-açúcar, quando se avaliou o desenvolvimento em cultura de tecido (TAYLOR et al., 1994). Adkins et al., (1993), também observaram resultados semelhantes quando avaliaram o desenvolvimento de arroz *in vitro*, sob aplicação de ethephon.

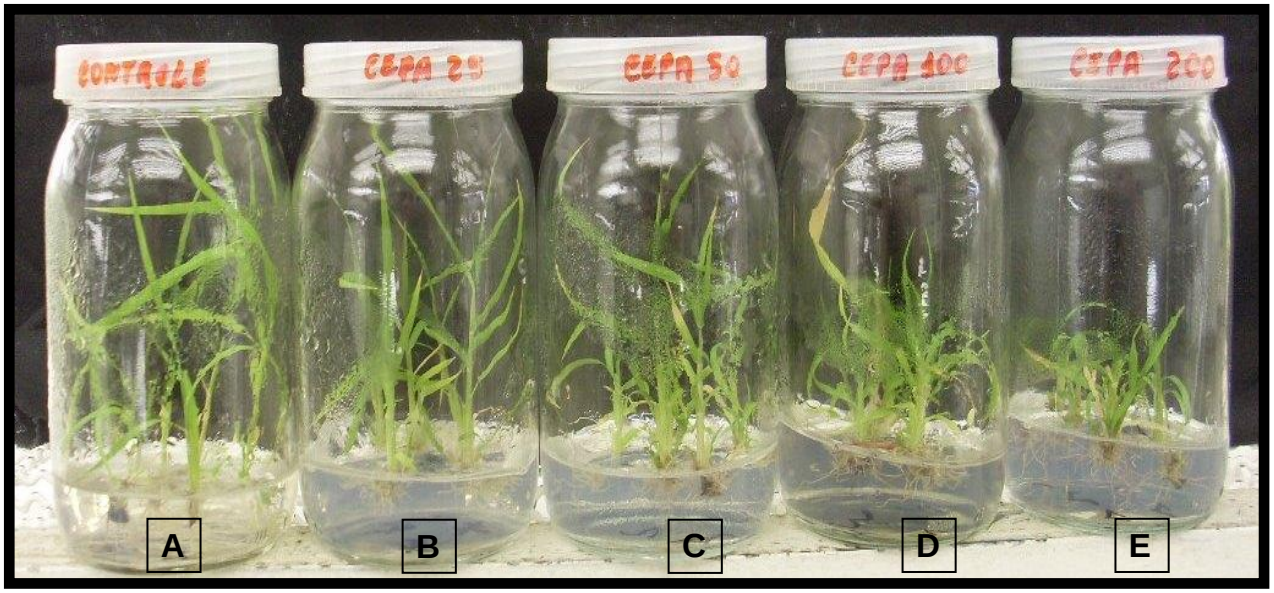

Figura 9 - Redução gradual da altura das plântulas de cana-de-açúcar da variedade IAC 95-5000, 30 dias após a aplicação de ethephon em meio de cultura (A): Controle; (B): 25 mg L^{-1}; (C): 50 mg L^{-1}; (D): 100 mg L^{-1} e (E): 200 mg L^{-1}

Na figura 10, A e B observamos que as plântulas não apresentaram diferenças significativas na massa fresca e seca da parte aérea, respectivamente, para os tratamentos com CEPA. O efeito do etileno aplicado em meio de cultura, em plântulas de cana-de-açúcar no inicio do desenvolvimento, incrementa o número de perfilhos (figura 9 A), entretanto, reduz a altura das plantas temporariamente (figura 9 B), o que explicaria a não ocorrência de diferença significativa da biomassa inicial

avaliada aos 30 DAP, já que é conhecido que ethephon, ao aumentar o número de perfilhos incrementa também a biomassa na colheita de diversos genótipos cana-de-açúcar. Segundo Li e Salomon (2003), aplicação de ethephon através de diversas formas, promove incremento no perfilhamento e na biomassa (massa fresca e seca), na época de colheita em diversas variedades de cana-de-açúcar.

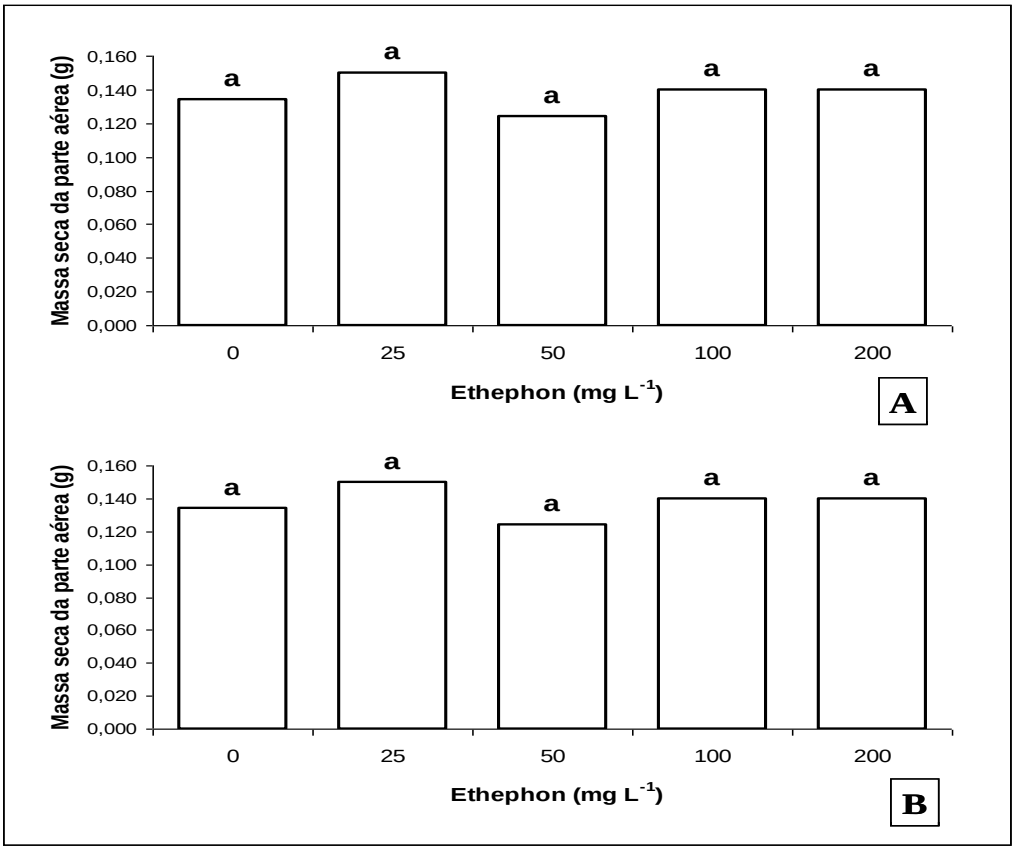

Figura 10 - Massa fresca da parte aérea (A), massa seca da parte aérea (B), das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de ethephon 30 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

De acordo com a figura 11 A e B, os tratamentos com CEPA não afetaram a massa fresca e seca da raiz, respectivamente, mostrando que a aplicação desse regulador vegetal em microplantas de cana em meio de cultura, *in vitro*, não apresenta efeito sobre as raízes no período considerado. Os resultados foram diferentes aos encontrados por Liu et al. (2005), que observaram aumento significativo na produção de biomassa das raízes de arroz selvagem, quando aplicou ethephon em meio de cultura, mostrando que o regulador vegetal induziu e aumentou a produção de raízes nas

plântulas de arroz. Grossman et al. (1990), com intuito de avaliarem o efeito do etileno *in vitro*, aplicaram ethephon em meio de cultura para o cultivo de plantas de trigo, e observaram que o biorregulador incrementou o enraizamento, ou seja a biomassa das raízes das plantas.

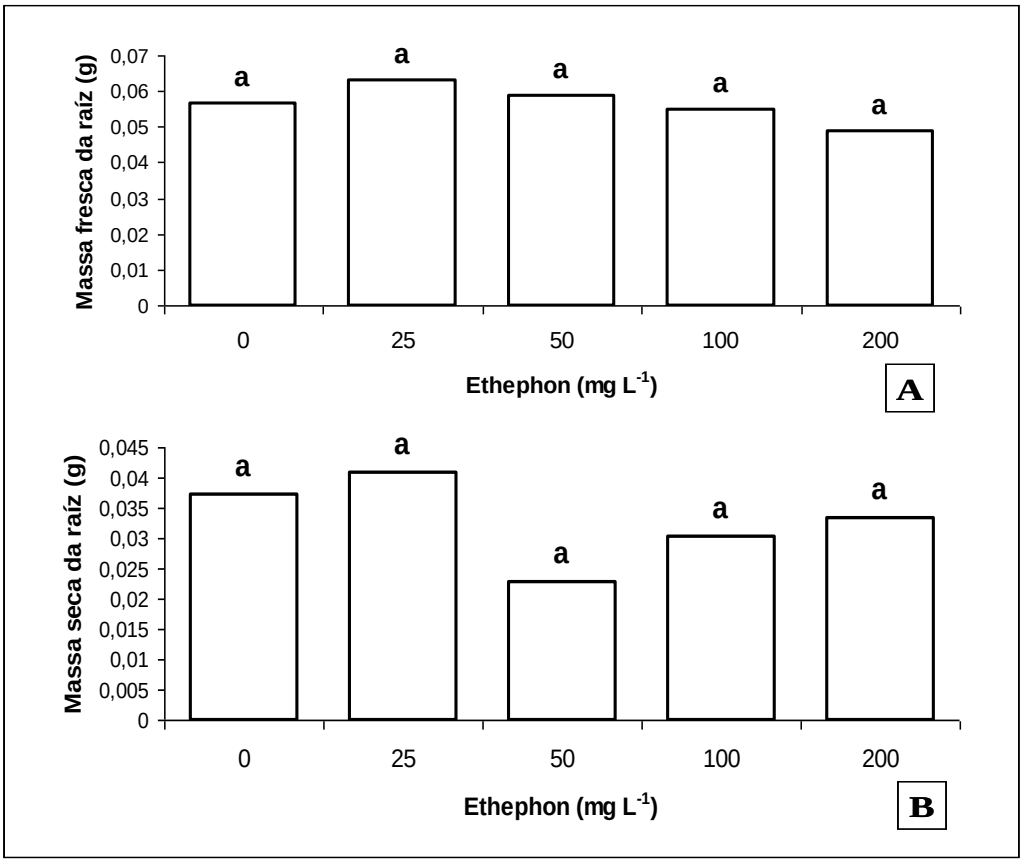

Figura 11 - Massa fresca da raiz (A) e massa seca da raiz (B), das plantas de cana-de-açúcar obtidas *in vitro*, variedade IAC 95-5000, sob aplicação de ethephon 30 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de pelo menos uma letra comum, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

5 CONCLUSÕES

1. A aplicação de concentrações crescentes de giberelina em toletes, revelam resultados negativos no desenvolvimento inicial das plantas de cana-de-açúcar, pois retardam a emergência aos 15 DAP, o perfilhamento aos 45 DAP e a biomassa das plantas aos 90 DAP.

2. A aplicação de concentrações crescentes de CEPA em toletes, apresenta resultados promissores para a produtividade da cultura da cana-de-açúcar variedade SP 81-3250, incrementando significativamente o número e a altura dos perfilhos. A aplicação de CEPA 900 mg L^{-1}, destaca-se entre todos os tratamentos, como sendo o mais eficiente no incremento do número de perfilhos.

3. Aplicação de GA em touceiras de cana-de-açúcar aumenta temporariamente a altura das plantas dos 30 aos 60 DAA, sendo que a partir dos 75 DAA não se nota mais efeito do regulador vegetal sobre a altura média total das plantas.

4. A aplicação de concentrações crescentes de CEPA em soqueiras de cana-de-açúcar de primeiro corte, somente afeta o perfilhamento nas concentrações mais altas, de 1000 e 900 mg L^{-1}.

5. Os resultados das avaliações tecnológicas mostram que aplicação de GA e CEPA em toletes, não afeta a atividade de enzimas (invertases ácida e neutra), relacionadas ao acúmulo de açúcar na folha. Entretanto, aplicação de GA e CEPA reduz os parâmetros tecnológicos dos colmos, relacionados com as atividades das invertases, açúcares redutores e totais.

6. A aplicação dos reguladores vegetais em meio de cultura, *in vitro*, em cana-de-açúcar, afeta significativamente as plântulas, sendo que GA promove estiolamento das plântulas e CEPA retarda o crescimento das mesmas e incrementa em duas vezes mais, o perfilhamento. Esses resultados mostram a necessidade de maiores estudos

sobre a aplicação de concentrações de reguladores vegetais *in vitro* em cana-de-açúcar e a grande possibilidade da produção de mudas em larga escala através da aplicação de CEPA.

REFERÊNCIAS

ADKINS, S.W.; KUNANUVATCHAIDACH, R.; GRAY, S.J. Effect of ethylene and culture environment on rice callus proliferation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.44, p. 1829-1835; 1993.

ABBOTT LABORATORIES. A summary of the use of Pro-Gibb Plus. **Agricultural and Veterinary Products Division, Abbott Laboratories**. North Chicago, Illinois, 1975. p. 1-8.

ALMEIDA, J.C.V.; SANOMYA R.; LEITE, C.F.; CASSINELLI, N.F. Eficiência agronômica de sulfometuron-methyl como maturador na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 21, p. 36-37, 2003.

ALEXANDER, A.G. Growth, enzyme and sugar responses of immature sugarcane to foliar treatment with 6-azauracil and gibberellic acid. **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 52, p. 295-309, 1968.

ALEXANDER, A.G. **Sugarcane physiology**. Amsterdam: Elsevier, 1973. 752 p.

ALEXANDER, A.G.; MOLTALVO-ZAPATA, R.; KUMAR, A. Gibberellic acid activity in sugarcane as a function of the number and frequency of applications. **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 54, p. 477-503, 1970.

ARAÚJO, A.G.; COSTA, F.C.; NUNES, C.F.; BRAGA, F.T.; PASQUAL, M.; FERREIRA, K.S. BAP e GA_3 no estiolamento *in vitro* de abacaxi - IAC “Gomo de Mel”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA,20.,; ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54., 2008. Vitória. **Resumo...** Vitória: Centro de Convenções –ES, 12 a 17 Out. 2008. p. 237.

ASSIS,T.F.; TEIXEIRA, S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES,A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1998.v. 1, p. 261-297.

BAGLIONE, B.M.; COELHO, A.L.; MONTREZOR, G.; PAGGIARO, C.M.; MOURA, H.O.; CONTIERO, J.C. Efeito da aplicação de Ethrel no sulco do plantio. In**:** ENCONTRO RHODIA CANA-DE-AÇÚCAR**,** 7., 1996. São Paulo. **Anais…** São Paulo, 1996. p. 18-24.

BANOWETZ, G.M. The effect of ethephon seed treatment on leaf development and head initiation of wheat. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 34, p. 113-120, 1993.

BIDDINGTON, M.L. The influence of ethylene in plant tissue culture. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 11, n 2, p. 173-187, 1992.

BLEINROTH, E.W. Manga: da cultura ao processamento e comercialização. Matéria prima. **Instituto de Tecnologia de Alimentos. Frutas tropicais,** São Paulo, v. 8, p.243-287, 1981.

BRADFORD, M.M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BUENAVENTURA, C.G.; ROSARIO, E.L. Effects of some chemical treatment on the tillering of sugarcane var. Phil. 52-226. **Phylippine Journal of Crop Science**. Laguna, v. 2, p. 115-120, 1978.

BULL, T.A. The effects of temperature, variety and age on the response of *Saccharum* spp. to applied gibberellic acid. **Australian Journal of Agricultural Research**. Melbourne, v. 15, p. 77-87, 1964.

BUREN, L.L.; MOORE, P.H.; YAMASAYI, Y. Gibberellin studies with sugarcane. II. Hand-sampled field trials. **Crop Science**, Madison, v.19, p. 425-428, 1979.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 87-132.

CAMARGO, P.N. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Agricultura e Horticultura, 1970. 38 p.

CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 157 p.

CASTRO, P.R.C. Maturadores químicos em cana-de-açúcar. ***Saccharum***, Rio de Janeiro, v. 1, p. 12-16, 1999.

CASTRO, P.R.C. Utilização de reguladores vegetais no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FISIOLOGIA DA CANA-DE-AÇÚCAR,2000. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: STAB, 2000. p. 10.

CASTRO, P.R.C.; MARTINELLI, C.; DEMÉTRIO, C.G.B. Ação de giberelina no crescimento da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro,v.4, n.1, p. 22-25, 1984.

CASTRO, P.R.C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; GONÇALVES, M.B. Ação de hidrazida maleica e ethephon no crescimento da cana-de-açúcar, **Anais da Esalq**, Piracicaba, v. 42, n.2, p.391-399, 1985.

CASTRO, P.R.C.; DIONISIO, A.J,J. MARTINELLI, C.; DEMÉTRIO, C.G.B. Aumento da produção de cana-de-açúcar com ácido giberélico. **Brasil Açucareiro**. Rio de Janeiro, v. 99, n.3, p. 35-42, 1982.

CASTRO, P.R.C.; SANGUINO, A.; VILELA, E.; SUDO, S.; MASUDA, Y. Ação de reguladores de crescimento no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar tratada termicamente. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, n. 5, p. 350-358, 1975 a.

CASTRO, P.R.C.; MIYASAKI, J.M.; BERNARDI, M.; MARENGO, D.; NOGUEIRA, M.C.S. Efeito do ethephon na maturação e produtividade da cana-de-açúcar. **Revista de Agricultura,** Piracicaba, v.76, n.2, p.277-290, 2001.

CASTRO, P.R.C.; SERRA, G.E.; RUGAI, S.; ORLANDO FILHO; NASCIMENTO FILHO, V.F.; SOUSA, J.A.G.C. Efeitos de reguladores de crescimento no enraizamento e desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar cultivar Co 740. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 27.,1975. Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte, 1975 b. 627p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Avaliação da safra agrícola de cana-de-açúcar 2007/2008, terceiro levantamento. 2008. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 10 jul., 2009.

DILLEWIJIN, C. **Botany of sugarcane**. (S. L.): Walton Cronic Botânica, 1952. 371 p.

DIMASI-THERIOU, K.; ECONOMOU, A.S.; EVANGELOS, M.S. Promotion of petunia (*Petunia hybrida* L.) regeneration in vitro by ethylene. **Plant Cell, Tissue *and* Organ Culture,** Dordrecht, v. 32, p. 219-225, 1993.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, New York, v. 28, p. 350-356, 1956.

FRANCIS, D.; SORRELL, D.A. The interface between the cell cycle and plant growth regulators: a mini review. **Plant Growth Regulation**, Nova York, v. 33, p. 1–12, 2001.

GASPAR, T.; KEVERS, C.; FAIVRE-RAMPANT, O.; CRÉVECOEUR, M.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; DOMMES, J. Changing concepts in plant hormone action. **In Vitro Cellular & Development of Biology of Plant**, New York, v. 39, p. 85–105, 2003.

GAYLER, K.R.; GLASZIOU, K.T. Physiological functions of acid and neutral invertases in growth and sugar storage in sugar cane. **Plant Physiology**, Rockville, v. 27, p.25-31, 1972.

GERALD, L.T.S.; BACCHI, O.O.S. Efeitos do Ethrel no perfilhamento e crescimento inicial de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). In: REUNIÃO DA SOCIEDADE LATINO-AMERICANA DE FISIOLOGIA VEGETAL, 9., 1983 .Viçosa. **Resumos...** Viçosa, UFV, 1983. p. 29.

GONÇALVES, M.B. **Efeitos de giberelina e ethephon no crescimento inicial, nutrição mineral, morfologia e anatomia da cana-de-açúcar**.1984. 63p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

GONÇALVES, M.B.; CASTRO, P.R.C.; DECHEN, A.R. Efeitos de giberelina nos teores de macronutrientes nas folhas e colmos da cana-de-açúcar 'NA 56-79'. In: CONGRESSO ANUAL DA SOCIEDADE DE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 3., 1983. Rio Claro. **Resumos**...Rio Claro:UNESP, 1983. p. 35.

GONÇALVES, C.E.S. Efeito do ethrel na brotação de soqueira de cana, variedade SP 71-6163. In: ENCONTRO CANA-DE-AÇÚCAR, 2.,1993. São Paulo. **Anais**... São Paulo: Rhodia, 1993. p. 45-47.

GONÇALVES, M.B.; CASTRO, P.R.C.; CORSO, G.M. Efeitos de ethephon no crescimento inicial e no perfilhamento da cana-de-açúcar. In:REUNIÃO BRASILEIRA DE FISIOLOGIA VEGETAL,2., 1989.Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba, 1989. p 162.

GRATTAPAGLIA, D; MACHADO; M.A. Micropropagação. In: TORRES A, CALDAS LS ; BUSO, J.A. (Ed.).**Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, EMBRAPA. 1998. p. 183-260.

GROSSMAN, K.; SANERBREY, E.; JUNG, J. Influence of growth retardants and ethylene generating compounds on culture response of leaf explants from wheat *Triticum aestivum* L. **Plant Physiology**, Rockville, v. 135, p. 725-73, 1990.

HATCH, M.D.; GLASZIOU, K.T. Sugar accumulation cycle in sugarcane. II. Relationship of invertase activity to sugar content and growth rate in storage tissue of plant grown in controlled environments. **Plant Physiology**, Rockville, v. 38, p. 344-348, 1963.

HEDDEN, P.; KAMIYA, Y. Gibberellin biosynthesis: enzimes, genes and their regulation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 431-460, 1997.

HEINZ, D.J.; MEE, G.W.P. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. **Crop Science**, Madison, v. 9, p. 346–348, 1969.

IRVINE, J.E. Sugarcane. In: **Potential productivity of field crops under different environments.** Los Baños, Philippines:International Rice Research Institute.,1983. p. 361-382.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C.H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, Oxford, v. 38, p. 795-802, 1974.

KUMAR P.P.; LAKSHMANAN, P.; THORPE, T.A. Review regulation of morphogenesis in plant tissue culture by ethylene. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, New York, v. 34, p. 94-103, 1998.

LANDELL, M.G.A.; SILVA, M.A. As estratégias de seleção da cana em desenvolvimento no Brasil. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v.1, p.18-23, 2004.

LEE, T. S.G. Micropropagação de cana-de-açúcar através de cultura de meristema apical. ***Saccharum*** APC, Rio de Janeiro, v. 7, p. 36-39, 1984.

LEE, T. S.G.; IAIA, A.M.; SILVA, M.R.; MAGALHÃES , P.M. Viabilidade de aplicação de regulador vegetal em cana-de-açúcar.In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 3., ;CONVENÇÃO DA ACTALAC., 5., 1984.São Paulo. **Anais…**São Paulo, 1984. p.357-362.

LEGENDRE, B.L. Ripening of sugarcane: effects of sunlight, temperature, and rainfall. **Crop Science**, Madison, v.15, p.349-352, 1975.

LEITE, G.H.P. **Maturação induzida, alterações fisiológicas, produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.)** 2005. 141p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista"Julio de Mesquita Filho", Botucatu, 2005.

LEITE, G.H.P.; CRUSCIOL, C.A.C. Reguladores vegetais no desenvolvimento e produtividade da cana-de-açúcar**. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.8, p. 995-1001, 2008.

LEITE, G.H.P.; CRUSCIOL, C.A.C.; LIMA, G.P.P.; SILVA, M.A. Reguladores vegetais e atividade de invertases em cana-de-açúcar em meio de safra. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.718-725, 2009.

Li, Y.R. Beneficial effects of ethephon application on sugarcane under sub-tropical climate of China. **Sugar Techonoly**, Dordrecht, v. 6, n.4, p.235-240, 2004

LI, Y. R.; SOLOMON, S. Ethephon: A versatile growth regulator for sugar cane industry. **Sugar Techonoly**, Dordrecht, v. 5, n.4, p. 213-223, 2003.

LIU, H.; WANG, S.; YU, X.; YU, J.; HE X.; ZHANG, S.; SHOU, H.; WU, P. ARL1, a LOB-domain protein required for adventitious root formation in rice. **The Plant Journal**, Oxford, n. 43, p. 47–56, 2005.

LINGLE, S.E. Sugar metabolism during growth and development in sugarcane internodes. **Crop Science**, Madison, v.39, p. 480-486, 1999.

LUCCHESI, A.A.; FLORENCIO, A.C.; GODOY, O.P.; STUPIELLO, J.P. Influência do ácido 2-cloroetil fosfônico na indução de perfilhamento em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) variedade NA 56-79. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 4, 19-27, 1979.

MARTINS, M.B.G.; CASTRO, P.R.C. Efeito da giberelina e ethephon na anatomia de plantas da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.10, p.1855-1863, 1999.

MANJUNATHA S.R.; KRISHNAMURTHI, M.; WEERATHAWORN, P. Effect of ethephon on yield and sugar content of different sugarcane cultivars in Thailand. In: INTERNACIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS. OF THE CONGRESS;ISSCT CONGRESS,25., 2005**.** Guatemala. **Proceedings….** Guatemala, 2005. v. 2, p.414-419.

MELLO, G.A.; ALVES, J.D.; OLIVEIRA, L.E.M. Propagação da cana-de-açúcar - Alterações nos componentes de reservas do tolete durante a brotação. **STAB**, Piracicaba, v. 13, n. 5, 1995.

MILHOLLON, R.W.; LEGENDRE, B.L. Influence of ethephon on plant population and yield of sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids). **Plant Growth Regulator Society of America**, LaGrange, v. 23, n. 1, p. 17-30, 1995.

MODESTO, J.M.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. Ácido giberélico e o desenvolvimento de plântulas de tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshnihort*. ex. Tanaka). **Scientia Agrícola**, Piaracicaba, v.56, n.2, p.289-294, 1999.

MOORE, P.H. Additive and nonadditive effects of serial applications of gibberellic acid on sugarcane internode growth. **Plant Physiology**, Copenhagen, v. 49, p. 271-176, 1980.

MONGELARD, J.C.; MIMURA, L. Growh studies of the sugarcane plant. II. Some effects of root temperature and gibberellic acid and their interactions on growth. **Crop Science**, Madison, v. 12. p. 52-58, 1972.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagem , v. 15, p. 473-497, 1962.

NAILWAL, T.K.; GUPTA, V.K.; SAND, N.K.; PANT, R.C. Role of ethylene in tillering of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Physiology & Molecular Biology of Plants**, Nova Delhi, v. 10, p. 127-130, 2004.

NAUFEL, H.S.; OLIVEIRA, C.C.; ROSSINI, D. ; CHIARELLI, C.B.; MUTTON, M.A. Desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar submetida a tratamento químico dos toletes. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB ECONVENÇÃO DA ACTALAC, 5., 2008. São Paulo**. Anais…** São Paulo, 2008. p.172-177.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somoghy method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, p. 375-380, 1944.

NICKELL, L.G. Crop improvement in sugarcane: studies using in vitro methods. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 717–719, 1977.

NICKELL, L.G. **Plant growth regulating chemicals**. Chicago: CRC Press, 1988. v.1/2., 256 p.

NOUR, K.A.; THORPE, T.A. The effect of the gaseous state on bud induction and shoot multiplication in vitro in eastern white cedar. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, p. 163-172, 1994.

PAGGIARO, C.M.; GERALD FILHO, L.; ALBUQUERQUE, F.C.; BAGLIONI, B.M. Ethrel na germinação e perfilhamento da cana-de-açúcar na Usina da Barra S. A. –Açúcar e Álcool.In: ENCONTRO ETHREL CANA-DE-AÇÚCAR**,**4., 1995. **Anais...** São Paulo: Rhodia,1995. p. 10-11.

PANIZZA, M.; MENSUALI-SODI, A.; TOGNONI, F. Role of ethylene in axillary shoot proliferation of lavandin interaction with benzyladenine and polyamines. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, p. 387-394; 1993.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A; RAMOS, J.D. **Cultura de tecidos:** tecnologia e aplicações**.** Lavras, 1997. 159 p.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais:** tecnologia e aplicações meios de cultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PRIESTLEY, M.A. **Carbohydrate resources within the perenial plant. Their utilization and conservation.** Commonwealth Agricultural Bureau, 1962. 116 p.

RADEMACHER, W. Growth retardants: Effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 501–531, 2000.

RIBEIRO, M.N.O.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; ALBUQUERQUE, K.S. Efeitos do AIB e GA_3 na micropropagação de *Zantedeschia aethiopica*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 53, n. 309, p. 568-573, 2006.

RICARDO, C.P.P.; D. SOVIA. Development of tuberous roots and sugar acumullation as related to invertase activity and mineral nutrition. **Planta**, Berlin, v.118, p.43-55, 1974.

RODRIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: Instituto de Biociências-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,Botucatu, 1995. 99 p. (Apostila).

ROSE, S.; BOTHA, F.C. Distribution patterns of neutral invertase and sugar content in sugarcane internodal tissues. **Plant Physiology**, Rockville, v. 38, p. 819-824, 2000.

RUGAI, S.; SOUSA, J.G.C. Maturação da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, p. 73-82, 1974.

SAUTER M.; MEKHEDOV, S.L.; KENDE, H. Gibberellin promotes histone H1 kinase activity and the expression of cdc2 and cyclin genes during the induction of rapid growth in deepwater rice internodes. **Plant Journal**,Leiden, v. 7, p. 623–632, 1995.

SIEMER, S.R., Developmental field studies of gibberellic acid treatment of Hawaiian, sugarcane. **Reports of the Hawaiian Sugar Technology**. Hawaii, 1969. p.1-5.

SILVA, M. A.; CARLIN, S.D.; CAMPANA, M.P.; LANDELL, M.G.A.; PERECIN, D.; VASCONCELOS, A.C.M. Brotação da cana-de-açúcar em condições de casa de vegetação. **STAB: Açúcar Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.22, p.28-31, 2003.

SILVA, M. A.; CARLIN, S.D.; PERECIN, D. Fatores que afetam a brotação inicial da cana-de-açúcar. **Revista Ceres**, Viçosa, v.51, p. 457-466, 2004.

SILVA, M.A.; GAVA, G.J.C.; CAPUTO, M.M.; PINCELLI, R.P.; JERÔNIMO, E.M.; CRUZ, J.C.S. Uso de reguladores de crescimento como potencializadores do perfilhamento e da produtividade em cana-soca. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.4, p.545-552, 2007.

SILVA, M.A.; CATO, S.C.; COSTA, A.G.F.C. Produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.774-780, 2010.

SOARES, R.A.B.; OLIVEIRA, P.F.M.; CARDOSO, H.R.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A ;ROSENFELD, J. Efeito da irrigação sobre o desenvolvimento e a produtividade de duas variedades de cana-de-açúcar colhidas em início de safra. **STAB: açúcar álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 22, n. 4, p. 38-41, 2004.

SPONSEL, V.M. Gibberellin biosynthesis and metabolism. In: DAVIES, P.J. (Ed.). **Plant hormones and their role in plant growth and development**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p. 43-75.

STURM, A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant Physiology**, Rockville, v. 121, p. 1–7, 1999.

SUZUKI, J. **Biossíntese e acúmulo de sacarose em cana-de-açúcar (Saccharum spp.): Influência do íon Potássio durante diferentes estádios de crescimento em solução nutritiva.** 1983. 96 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

TAYLOR, P.W. J.; KO, H.L.;FRASER, T. A. Effect of silver nitrate on sugarcane cell suspension growth, protoplast isolation, ethylene production and shoot regeneration from cell suspension cultures. **Journal of Experimental Botany,** Oxford**,** v. 45, p. 1163-1168, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 4.ed. Porto Alegre:Artmed, 2009. 820 p.

TAVARES, A.R.; AGUIAR, F.F.A.; SADO, M.; KANASHIRO, S.; CHU, E.P.; LIMA, P.P.; LUZ, P.B.; MODOLO, V.A. Efeito da aplicação de ácido giberélico no crescimento da palmeira-ráfia. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.6, p. 999-1004, 2007.

VATTUONE, M.A.; PRADO, F.E.; SAMPIETRO, A.P. Cell wall invertases from sugarcane. **Phytochemistry**, New York, v. 20, p.189-1981, 1981.

VIEIRA, I.M.S. **Efeito do potássio sobre a atividade de invertases, teores de açúcares e compostos nitrogenados em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp var. NA56-79) cultivados em solução nutritiva**. 1983. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba,1983.

VIEIRA, R.A.; SILVA, C.M.; SOUTO, E.R.; HATA, F.T; MACHADO, M.F.P.S.; MARCUZ, F.S. Diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina e cinetina na micropropagação *in vitro* das variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar. **Campo Digital**, Campo Mourão, v.4, n.1, p. 122-126, jan/dez. 2009 .

WEAVER, R.J. **Plant growth substances in agriculture.** San Francisco: W.H. Freeman 1972. 594 p.

WEN, Y.; WU, W. Y.; LIU, S.J. Effects of different concentrations of ethephon soaking seed cane on germination and growth of bud sheath and roots in sand-cultured sugarcane. **Sugarcane and Canesugar Industry,** Taiwan, v.1, p. 25-27, 1989.

WIEDENFELD, B. Enhanced sugarcane establishment using plant growth regulators. **Journal American Society of Sugarcane Technologists**, Canal Point, v. 23, p.48-61, 2003.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Biology,** Palo Alto v. 9, p. 225-251, 2008.

YANG, P.C.; HO, F.W.; WEI, C.C. Studies on the effects of plant growth regulators on sprouting, growth and yield of ratoon cane. **Reports of the Taiwan Sugar Research Institute**. Taiwan, v. 89, p. 13-24, 1980.

YATES, R.A. Effects of environmental conditions and the coadministration of growth retardants on the response of sugarcane to foliar treatments with gibberellin. **Agronomy Journal,** Madison,v. 64, p.31-35, 1972.