



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**DESCRITORES FISIOQUÍMICOS PARA A SELEÇÃO DE
VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

CINTHYA MIRELLA PACHECO

RECIFE/PE

2016



UFRPE



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
PONTO FOCAL: RECIFE

**DESCRITORES FÍSIOQUÍMICOS PARA A SELEÇÃO DE
VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

CINTHYA MIRELLA PACHECO

RECIFE/PE

2016

Cinthya Mirella Pacheco

**DESCRITORES FISIOQUÍMICOS PARA A SELEÇÃO DE
VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira

Coorientador: Dr. Djalma Euzébio Simões Neto

Área de concentração: Biotecnologia em Agropecuária

Recife/PE

2016

Ficha catalográfica

P116d Pacheco, Cinthya Mirella
Descritores fisiquímicos para a seleção de variedades promissoras de cana-de-açúcar quanto a tolerância ao déficit hídrico / Cinthya Mirella Pacheco. – Recife, 2016.
95 f. : il.

Orientadora: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira.
Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, 2016.

Ponto focal em Pernambuco - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Referências.

1. Biocombustível 2. Cultivo de sequeiro 3. Ajustamento osmótico 4. Trocas gasosas 5. Fechamento estomático 6. Melhoramento genético I. Nogueira, Rejane Jurema Mansur Custódio, orientadora II. Título

CDD 620.8

Cinthya Mirella Pacheco

**DESCRITORES FÍSIOQUÍMICOS PARA A SELEÇÃO DE VARIEDADES
PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR QUANTO A TOLERÂNCIA
AO DÉFICIT HÍDRICO**

Aprovado em: ___/___/___

Orientadora:

Profa. Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira
Departamento de Biologia - UFRPE

Examinadores:

Profa. Dra. Ana Lucia Figueiredo Porto.
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Profa. Dra. Margareth Ferreira Sales
Departamento de Biologia - UFRPE

Prof. Dr. Ederson Akio Kido
Departamento de Genética – UFPE

Profa. Dra. Jarcilene Silva de Almeida Cortez
Departamento de Botânica – UFPE

**Recife/PE
2016**

*Aos meus pais (Maria e Raul),
irmão (Bruno) e ao meu marido,
companheiro de todas as horas
(Thiago) pelo carinho e amor
incondicional.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força que me permitiu continuar e chegar ao término do trabalho.

A minha orientadora, Rejane Mansur, pelos ensinamentos, amizade e principalmente pela força, incentivo e paciência que sempre teve comigo.

Ao meu coorientador, Djalma Simões Neto, por toda ajuda e orientação no trabalho realizado na Estação Experimental de cana-de-açúcar do Carpina.

Aos meus pais, Maria Silva e Raul Pacheco, ao meu marido, Thiago Ladislau, e ao meu irmão, Bruno Pacheco, pelo apoio incondicional, em todos os momentos da minha vida. Se não fosse por eles não conseguiria fazer o que fiz.

À minha família LFV, Cibele Alves, Natália Vaz, Elaine Alves, Rafaela Pereira e Clovis Lapa que sempre que precisei pude contar com eles.

Aos que deixaram a família pra seguirem seus caminhos, Marcelle Almeida, Hugo Henrique Nascimento, Letícia Siqueira, Marcelo Maurício, Caio Silva, Laura Oliveira, Lilian Cândido, Luísa Braz, Thiago Barreto e Olímpia Lino.

Ao grupo da UFPE que também me acompanharam e me ajudaram bastante, em especial à Roberta Lane, Jéssica Barboza, Mireli Santana, Gabriela Frosi, Stephani Soares e demais.

À EECAC/UFRPE (Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina/ Universidade Federal Rural de Pernambuco) e RIDESA (Rede Interuniversitária de Desenvolvimento para o setor sucroalcooleiro) pelo fornecimento das variedades de cana-de-açúcar utilizadas no experimento;

Ao CNPq e à UFRPE e UFPE pelo apoio financeiro e estrutura física para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal forma que, num dado momento, a tua fala seja a tua prática.

(Paulo Freire)

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi selecionar variedades promissoras para o estresse hídrico com base em parâmetros fisiológicos, bioquímicos e de produtividade. Para tal, foram realizados dois experimentos, um em condição de casa de vegetação e outro em condições de campo. O delineamento experimental, do experimento de casa de vegetação foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 6 x 2 correspondendo a seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454 e C90-178) e dois tratamentos, rega diária (controle) e suspensão da rega (sem rega). Já para o experimento de campo, o delineamento experimental foi em blocos ao acaso, compostos por oito parcelas, que corresponderam às oito variedades (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176), cultivadas em condições de irrigação de salvamento e de sequeiro. Foram avaliadas as variáveis fisiológicas das trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos e relações hídricas, as análises bioquímicas de determinação dos teores de carboidratos, prolina e aminoácidos totais, para o experimento de casa de vegetação, além da análise de crescimento, concentração de proteínas solúveis totais e produtividade para o experimento de campo. As coletas para a realização das análises foram realizadas após 24 h e 72 h após a suspensão da rega para o experimento de casa de vegetação e após 3, 6 e 10 meses de cultivo no experimento de campo, além da produtividade após 11 meses. As variáveis fisiológicas no geral foram afetadas negativamente nas variedades de cana-de-açúcar tanto em condições de casa de vegetação, como no campo. No entanto, a variedade C90-176 se destacou dentre as estudadas em casa de vegetação, por não apresentar alterações nas suas trocas gasosas, relações hídricas e eficiência do uso da água, além de apresentar acúmulos significativos de teores de carboidratos nas folhas e prolina, nas raízes, após 24 h de estresse, indicando maior tolerância ao déficit hídrico de curta duração. A variedade RB962962 foi considerada a mais sensível ao déficit hídrico por reduzir as trocas gasosas logo no início do estresse, além de apresentar redução no potencial hídrico foliar e eficiência do uso da água após 72 h. Em adição, esta variedade apresentou reduções significativas do teor de prolina nas folhas e raízes, após 24 h de suspensão da rega, o que pode levar as plantas a um dano oxidativo numa maior exposição ao estresse. Já para o experimento realizado em condições de sequeiro, no campo, foi observado um possível ajustamento osmótico das variedades RB92579, RB867515, RB962962 e RB972631, com o acúmulo de aminoácidos e prolina, que atrelado ao fechamento parcial dos estômatos indicou a variedade RB92579 como a mais tolerante a seca, visto que mesmo com todas as variedades apresentando redução em suas produtividades, essa variedade apresentou menor redução (20%) em comparação a RB972631 que não apresentou fechamento estomático e reduziu a sua produtividade em 38%, sendo considerada, portanto, a mais sensível. O contraste das respostas ao cultivo de sequeiro, por meio da suspensão de rega, de curta ou longa duração, apresentado nas variedades indicadas como tolerantes e sensíveis à seca é bastante promissor para auxiliar nos programas de melhoramento genético. Pois, apresenta as vias de respostas mais eficientes, a fim de conferir maior tolerância da cana-de-açúcar a seca e contribui para ampliação do potencial das variedades já cultivadas ou o desenvolvimento de novas variedades recomendadas para cultivos regionais.

Palavras-chave: biocombustível; cultivo de sequeiro; ajustamento osmótico; trocas gasosas; fechamento estomático; melhoramento genético;

ABSTRACT

The aim of this work was to select promising varieties to water stress based on physiological parameters, biochemical and productivity. To this end, two experiments were conducted, one in greenhouse condition and another in field conditions. The experiment, the greenhouse experiment was completely randomized in a factorial 6 x 2 corresponding to six varieties of sugarcane (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, C90-178 and RB72454) and two treatments, daily irrigation (control) and suspension of irrigation (no irrigation). As for the field experiment, the experimental design was a randomized block consisting of eight installments, corresponding to the eight varieties (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 and C90-176), grown in conditions irrigation rescue and dry. The physiological variables of gas exchange were evaluated, photosynthetic pigments and water relations, biochemical analysis to determine the carbohydrate content, proline and total amino acids for the greenhouse experiment, besides the growth analysis, total soluble protein and productivity for the field experiment. The collections for the analyzes were carried out after 24 h and 72 h after stopping irrigation for home experiment of vegetation and after 3, 6 and 10 months of cultivation in the field experiment, in addition to productivity after 11 months. The physiological variables were overall quite heavily in varieties of sugarcane at home conditions of vegetation, and in the field. However, the C90-176 variety stood out among those studied in a greenhouse, not to present changes in its gas exchange, water relations and efficiency of water use, and present significant accumulations of carbohydrate concentration in leaves and proline, roots after 24 h of stress, indicating greater tolerance to water deficit of short duration. And RB962962 variety was considered the most sensitive to water deficit by reducing gas exchange early in the stress, and presents reduction in leaf water potential and efficiency of water use after 72 h. In addition, this strain showed significant reductions of the proline content in leaves and roots after 24 h of water removal, which can lead to an oxidative damage plants in greater exposure to stress. As for the experiment conducted under rainfed conditions in the field, it observed a possible osmotic adjustment of RB92579 varieties RB867515, RB962962 and RB972631, with the accumulation of amino acids and proline, which linked to the partial closing of the stomata indicated RB92579 variety as more tolerant to drought, since even with all varieties representing a reduction in their productivity, this variety showed lower reduction (20%) compared to RB972631 not presented stomatal closure and reduced their productivity by 38%, and is considered, therefore, the most sensitive. The contrast of the responses to dryland farming through irrigation suspension, short or long term, presented in varieties indicated as tolerant and sensitive to drought is promising to assist in breeding programs. Therefore it presents the way of more efficient responses in order to provide greater tolerance of sugarcane drought and contributes to expanding the potential of already cultivated varieties or the development of new varieties recommended for regional crops.

Keywords: biofuel; rainfed cultivation; Osmotic adjustment; gas exchange; stomatal closure; genetical enhancement;

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Sistema de numeração de folhas no sistema conforme van Dillewijn; Waltham (1952).....23

Figura 2. Resumo das principais respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares das plantas sob déficit hídrico. Adaptado de Lissner et al., (2012).....27

Figura 3. Modelo esquemático das respostas das plantas para a tolerância ao estresse hídrico. Adaptado de Osakabe et al., (2014).....29

CAPÍTULO II: SELEÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR PROMISSORAS QUANTO À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO A PARTIR DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Figura 1: Trocas gasosas de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) e B) Fotossíntese líquida (A) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; C) e D) Transpiração (E) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; E) e F) Condutância estomática (gs) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; G) e H) Eficiência do uso da água (EUA) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas e os círculos que não houve diferença estatística.....49

Figura 2: Índice de clorofila total pelo clorofilômetro SPAD de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.....52

Figura 3: Potencial hídrico foliar de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.....53

Figura 4: Teor relativo de água (TRA) de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre

tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.....54

Figura 5: Ficha de descritores fisiológicos das respostas de seis variedades de cana-de-açúcar, após 24 h e 72 h da suspensão de rega, cultivadas em casa de vegetação. Setas cheias para baixo representam reduções significativas; Setas cheias para cima representam aumentos significativos; + maior valor dentre as variedades em estudo; Fonte em negrito representa tolerância e em itálico e sublinhado a sensibilidade à seca.....59

CAPÍTULO III: SELEÇÃO DE VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA O CULTIVO NO CAMPO EM REGIME DE SEQUEIRO

Figura 1: Análise biométrica do crescimento de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A, B e C) Altura da planta (cm) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; D, E, e F) Diâmetro do colmo (mm) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; G, H e I) Área foliar (cm³) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; J, L e M) Número de folhas após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; N e O) Número de nós (após 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam reduções significativas.....74

Figura 2: Trocas gasosas de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A, B e C) Fotossíntese líquida (A) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; D, E, e F) Transpiração (E) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; G, H e I) Condutância estomática (gs) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; J, L e M) Eficiência do uso da água (EUA), após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas para baixo indicam reduções significativas, setas para cima indicam aumentos significativos e os círculos que não houve diferença estatística.....78

Figura 3: Potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}), realizado ao meio-dia, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....81

Figura 4: Teor relativo de água (TRA), realizado ao meio-dia, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições

de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....82

Figura 5: Índice de clorofila total pelo clorofilômetro SPAD, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....83

Figura 6: Produtividade de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro, por 11 meses, em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1. Variedades de cana-de-açúcar e suas características importantes para o estudo em programas de melhoramento genético.....32

CAPÍTULO II: SELEÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR PROMISSORAS QUANTO À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO A PARTIR DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Tabela 1: Teores de pigmentos fotossintéticos de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico com coletas realizadas após 24 h e 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.....51

Tabela 2: Análise bioquímica de folhas e raízes de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico com coletas realizadas após 24 h e 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.....56

CAPÍTULO III: SELEÇÃO DE VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA O CULTIVO NO CAMPO EM REGIME DE SEQUEIRO

Tabela 1: Teores de pigmentos fotossintéticos de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.....85

Tabela 2: Concentrações de solutos compatíveis (carboidratos solúveis totais, Prolina livre, aminoácidos livre totais e proteínas solúveis totais), de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.....88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ψ_{wf}	Potencial hídrico foliar
A	Fotossíntese
ABA	Ácido abscísico
E	Transpiração
EECAC	Estação experimental de cana-de-açúcar do Carpina
gs	Condutância estomática
O₂-	Radical superóxido
OH-	Radical hidroxila
Mn-SOD	Superóxido dismutase [Mn]
PMF	Peso da massa fresca
PMS	Peso da massa seca
PMT	Peso da massa túrgida
RIDESA	Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucoalcooleiro
SOD	Superóxido dismutase
TRA	Teor relativo de água
PSII	Fotossistema II

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	19
CAPÍTULO I	21
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
1.1 Características gerais da cana-de-açúcar	22
1.2 Importância econômica e cultivo da cana-de-açúcar no Brasil.....	24
1.3 Déficit hídrico.....	26
1.3.1 <i>Mecanismos fisiológicos de plantas sob déficit hídrico</i>	<i>28</i>
1.3.2 <i>Efeitos do déficit hídrico na fisiologia da cana-de-açúcar.....</i>	<i>29</i>
1.3.3 <i>Seleção de variedades de cana-de-açúcar tolerantes à seca para o melhoramento genético vegetal</i>	<i>31</i>
1.3.4 <i>Mecanismos bioquímicos de resposta ao déficit hídrico em cana-de-açúcar.....</i>	<i>33</i>
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO II	40
1. INTRODUÇÃO	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1. Material vegetal e condições de crescimento.....	45
2.2. Varáveis analisadas	46
2.2.1. Trocas gasosas	46
2.2.2. Pigmentos fotossintéticos	46
2.2.3. Potencial hídrico foliar e teor relativo de água	46
2.2.4. Teores de carboidratos solúveis, aminoácidos livres e prolina livre	47
2.3. Análise estatística	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1 Trocas gasosas	47
3.2 Teor de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , total e carotenoides.....	50
3.3 Potencial hídrico foliar e teor relativo de água.....	53
3.4 Teor de carboidratos solúveis, aminoácidos livres e prolina livre	55
3.5 Ficha de descritores fisiológicos das variedades de cana-de-açúcar após 24 h e 72 h da suspensão de rega para seleção promissora de tolerância à seca	58
4. CONCLUSÕES	60
5. AGRADECIMENTOS	61
6. REFERÊNCIAS	61

CAPÍTULO III	64
1. INTRODUÇÃO	67
2. MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 Plantio e condições experimentais	69
2.2 Análises fisiológicas	70
2.2.1 <i>Análises biométricas de crescimento</i>	70
2.2.2 <i>Avaliação das trocas gasosas</i>	70
2.2.3 <i>Avaliação das relações hídricas</i>	70
2.2.4 <i>Medições dos pigmentos fotossintéticos</i>	71
2.2.5 <i>Determinação dos solutos orgânicos</i>	71
2.2.6 <i>Produtividade de colmos</i>	71
2.3 Análise estatística	72
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
3.1 Análises biométricas de crescimento	72
3.2 Trocas gasosas	75
3.3 Relações hídricas	80
3.4 Pigmentos fotossintéticos	83
3.5 Solutos orgânicos	87
3.6 Produtividade	90
4. CONCLUSÕES	91
5. REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO GERAL

Frente às mudanças climáticas provocadas pelo aquecimento global devido à emissão de gases do efeito estufa para atmosfera, há uma preocupação crescente com as fontes de combustíveis fósseis utilizadas, buscando nos biocombustíveis uma fonte alternativa de combustível renovável a fim de suprir a demanda mundial.

A cana-de-açúcar é matéria-prima para a produção do etanol e se destaca por ser fonte renovável para esse combustível. Com a alta demanda para a substituição do petróleo, o aumento da produtividade dessa cultura é de fundamental importância, fortalecendo a economia brasileira. No entanto, para que o pretendido aumento na produtividade seja alcançado de forma suficiente é imprescindível que haja uma sincronização entre as tecnologias aplicadas em seu cultivo junto às condições edafoclimáticas favoráveis. Portanto, o aumento da produtividade do cultivo da cana-de-açúcar no Brasil representa principalmente para os programas de melhoramento genético um grande desafio, já que para atender a demanda é imprescindível a obtenção de variedades produtivas e adaptadas aos diversos problemas ambientais encontrados no País.

Um dos principais problemas encontrados na Região do Nordeste brasileiro onde há o cultivo da cana-de-açúcar é a seca, que afeta negativamente sua produtividade, sobretudo no seu crescimento e desenvolvimento. Esse estresse hídrico pode variar de curta duração a prolongada seca, onde apresenta forte influência na tolerância/adaptação da cultura. Portanto, torna-se fundamental o objetivo de entender os mecanismos de acúmulo de biomassa e avaliar os processos fisiológicos e bioquímicos afetados pelo déficit hídrico.

Uma das abordagens para indicar a tolerância das plantas e desempenho da cultura em ambientes secos é selecionar os genótipos que aprimoraram o seu rendimento sob déficit hídrico. Para isso, estudos sobre genótipos de cana-de-açúcar contrastantes quanto à tolerância à seca, ajudam na diferenciação das respostas observadas em condições de estresse hídrico e revela quais genótipos são mais tolerantes, isso se torna essencial, uma vez que esses genótipos mostrarão bons rendimentos nesta condição adversa.

A exploração da variação genética para respostas relacionadas com a seca resulta em um progresso no desempenho da cana-de-açúcar, por apresentar as vias

de respostas mais eficientes, a fim de conferir maior tolerância da cana-de-açúcar a seca e contribuir para a ampliação do potencial das variedades já cultivadas ou o desenvolvimento de novas variedades recomendadas para cultivos regionais.

Assim, objetivou-se nesse trabalho a seleção de variedades promissoras de cana-de-açúcar quanto à tolerância ao déficit hídrico a partir de parâmetros fisiológicos, bioquímicos e de produtividade.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Características gerais da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta alógama e perene, provavelmente originária das regiões da Indonésia e Nova Guiné, pertencente à família *Poaceae* e ao gênero *Saccharum* L. (CONAB, 2014; JADOSKI et al., 2010).

Existem, pelo menos, seis espécies pertencentes ao gênero *Saccharum*: *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e *S. edule*, sendo que a cana-de-açúcar cultivada atualmente é um híbrido interespecífico. A espécie *S. officinarum* foi descrita pela primeira vez por Carlos Linneau em 1753, foi cruzada com a *S. spontaneum* para obtenção das atuais variedades comerciais de cana-de-açúcar mais resistentes a pragas, doenças, deficiência hídrica e com alto teor de sacarose (CESNIK, 2004; CIB, 2009, JADOSKI et al., 2010; TOPPA et al., 2010).

A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil em 1532 e desde então se apresenta com importância destacada até os dias atuais (CONAB, 2015; JADOSKI et al., 2010). Atualmente a cultura é cultivada em todo território nacional, na Região Sudeste, especificamente em São Paulo, concentra 50% do seu cultivo. Devido ao investimento do país na cultura, o Brasil é o maior produtor de seus derivados, açúcar e etanol, seguido da Índia e da China (CONAB, 2014).

A principal característica da cana-de-açúcar é a capacidade de perfilhamento, sendo esta a razão mais importante para a produtividade, que varia com a temperatura, a radiação solar, a variedade, a densidade do plantio, o ciclo, assim como a disponibilidade de nitrogênio e, fundamentalmente, de água no solo (MARAFON, 2012).

As folhas das plantas de cana-de-açúcar são normalmente acopladas aos nós de forma alternada, formando duas fileiras em lados opostos. A planta madura apresenta o número de folhas verdes por colmo em torno de dez, dependendo da variedade e das condições de crescimento (Figura 1) (JADOSKI et al., 2010).

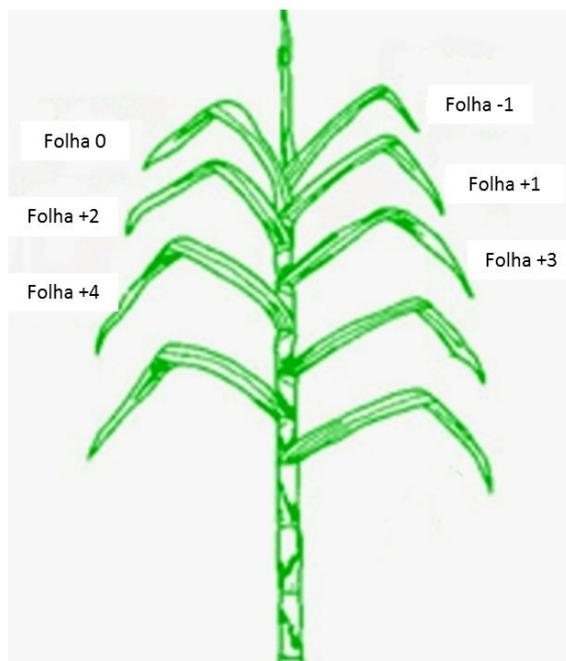


Figura 1. Sistema de numeração de folhas no sistema conforme van Dillewijn; Waltham (1952).

A brotação é geralmente feita por intermédio de pedaços de colmos de perfilhos, contendo uma ou mais gemas, que caracteriza uma fase de fundamental importância para o seu desenvolvimento (JADOSKI et al., 2010).

A fase fisiológica da cana-de-açúcar que proporciona um retorno econômico é a maturação, a qual é alcançada quando os colmos atingem seu potencial máximo de acúmulo possível de armazenamento de sacarose. Essa fase é devida principalmente a baixas temperaturas, seca moderada e teores de nitrogênio no solo, que são fatores importantes para essa etapa (TOPPA et al., 2010).

O desenvolvimento da cultura acontece em dois ciclos e o genótipo de cada variedade é que define o número de colmos por planta, a altura e o diâmetro do colmo, o comprimento e a largura das folhas e a disposição da parte aérea. No entanto, as expressões destes caracteres são influenciadas por fatores externos, como as condições climáticas, o manejo e as práticas tecnológicas utilizadas (RODRIGUES, 1995).

1.2 Importância econômica e cultivo da cana-de-açúcar no Brasil

Segundo a CONAB (2014) a área cultivada com cana-de-açúcar colhida e destinada ao setor sucroalcooleiro foi estimada em aproximadamente 9.004,5 milhões de hectares (safra 2014/2015), distribuídos em todas as regiões produtoras, sendo que em Pernambuco foi de 2,9% que corresponde a 260,1 mil hectares.

A crescente demanda mundial por biocombustíveis faz favorecer a expansão do cultivo da cana-de-açúcar, exigindo maior produtividade da cultura visando a produção de etanol. Diante das mudanças climáticas que o mundo está sofrendo, serão necessárias fontes alternativas de combustíveis, principalmente os renováveis, para suprir mundialmente a demanda visando à redução de emissão de CO₂ para a atmosfera (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2010).

As preocupações com o meio-ambiente e o aquecimento global, além do aumento da preocupação com a disponibilidade e preço dos combustíveis fósseis, têm tornado o etanol um destaque dentre os biocombustíveis. O etanol se apresenta como uma das melhores alternativas para reduzir a emissão de gases causadores do efeito estufa, já que a sua queima como combustível reduz em 70% a emissão de CO₂ na atmosfera em relação à gasolina (CONAB, 2014).

A produção de etanol total para o primeiro levantamento da safra 2014/15 foi estimada em 28,66 bilhões de litros (CONAB, 2014), o que faz o Brasil ocupar o segundo lugar no ranking dos países produtores desse combustível, partilhando a liderança com os Estados Unidos (ZINGARETTI et al., 2012). No entanto, esse último país lidera com o etanol celulósico que usa como matéria-prima caules e folhas de milho (NOVACANA, 2015). O etanol celulósico, também chamado etanol de segunda geração é produzido por poucas usinas no mundo, no entanto é uma fonte de combustível sustentável, favorável e eficiente, capaz de atender à demanda universal pelos biocombustíveis.

No Brasil, embora ainda na fase inicial, o etanol celulósico exhibe grande potencial de crescimento, já que não depende da expansão da área plantada com cana-de-açúcar, e sim do reaproveitamento dos resíduos da produção de etanol e açúcar, que são abundantes (UNICA, 2013). Em setembro de 2014, a GranBio foi a primeira usina a produzir no Brasil, em escala de fábrica, o etanol de segunda geração produzido a partir da biomassa, palha de cana-de-açúcar, por um processo biotecnológico (NOVACANA, 2015). No entanto, o CTBE (2015) estima que o etanol

celulósico, só será viável nas usinas brasileiras no médio-prazo, a partir de 2020, pois um dos principais desafios para o Brasil está na busca pela competitividade em relação ao combustível de primeira geração, onde o custo de produção é inferior.

Já para o açúcar, produto também derivado da cana-de-açúcar, foi estimado em 36,36 milhões de toneladas, responsável pelo fornecimento de 25% do açúcar consumido em todo o globo (UNICA, 2015), com cerca de 10% produzidos na Região do Nordeste brasileiro (CONAB, 2014). Com isso, a necessidade de aumentar a produtividade do cultivo da cana-de-açúcar no Brasil representa principalmente para os programas de melhoramento genético um grande desafio, já que para atender a demanda é imprescindível a obtenção de variedades produtivas e adaptadas aos problemas ambientais encontrados no País (WACLAWOVSKY et al., 2010).

As práticas e época do plantio, assim como a escolha da área, o preparo do solo, a seleção das variedades, a sanidade das mudas, a cobertura dos rebolos e distribuição de gemas no sulco e a profundidade do plantio, são os aspectos de maior importância para obter uma elevada produtividade no cultivo de cana-de-açúcar (FAROOQ et al., 2009).

Devido à expansão dos canaviais, o cultivo da cana-de-açúcar foi levado a regiões com condições diferentes das tradicionais, com isso, surgiu a necessidade de adequar as variedades às características de cada região (KOHLHEPP, 2010). Atualmente, é imprescindível saber qual variedade é a mais indicada para o cultivo em determinada região, principalmente pela sua importância econômica como produtora de biomassa e açúcar, já que novas variedades surgem anualmente, e melhores tecnologicamente, quando comparadas com as que já estão sendo cultivadas em campo (ARAÚJO, 2006). Portanto, estudos que visem selecionar variedades que apresentem características de adaptação à determinada região, visando principalmente aquelas de difícil cultivo, como as regiões áridas e semiáridas são fundamentais.

As variedades RB (RIDESA BRASIL) de cana-de-açúcar - desenvolvidas pela rede de dez universidades federais - responderam por 69% da área de plantio no Brasil na atual safra 2014/15 (PMGCA/RIDESA) (NOVACANA, 2015) e caracterizar de forma fisiológica e bioquímica essas variedades podem aumentar o cultivo e produtividade dessas, principalmente no Nordeste do país, onde o principal fator que reduz o rendimento dessa cultura é o estresse hídrico por déficit de água.

1.3 Déficit hídrico

O estresse hídrico pode ser considerado como um desvio na condição ótima para a vida, causando alterações e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, que são principalmente reversíveis, mas podem tornar-se irreversíveis, e são frequentemente observados em muitas culturas (ZINGARETTI et al., 2012).

A baixa umidade do solo afeta a absorção da água pelas raízes das plantas, por isso, quando a demanda evaporativa aumenta a planta perde mais água, por transpiração, há um atraso na sua absorção e o estresse hídrico é estabelecido (PIRES et al., 2010). Esse estresse pode variar de moderada e de curta duração, a extremamente grave e prolongada seca, onde apresenta forte influência na adaptação dos vegetais (AKINCI; LÖSEL, 2012). Os fatores que controlam as condições de estresse hídrico alteram o equilíbrio natural das plantas e ocasiona uma série de características morfológicas, alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares, que afetam negativamente o seu crescimento e produtividade (LISAR et al., 2012).

Em resposta à seca provocada pelo déficit de água no solo, as plantas podem apresentar os mecanismos de escape à seca, tolerância à seca com baixo potencial hídrico e tolerância à seca com alto potencial hídrico. Escape à seca é descrito como a capacidade que as plantas apresentam de completarem o ciclo de vida antes de enfrentar o estresse severo, já para tolerar a seca com baixo potencial hídrico a planta tem que apresentar a capacidade de se ajustar osmoticamente, e, com alto potencial hídrico as plantas têm que evitar a desidratação através do fechamento estomático (NOGUEIRA; ALBUQUERQUE; SILVA, 2005; HARB et al., 2010).

Em muitas partes do mundo, o rendimento da safra é limitado pela escassez de água, assim a maioria das plantas em alguns momentos do seu ciclo de vida tendeu a desenvolver alguns mecanismos adaptativos para tolerar as mudanças nas condições ambientais (AKINCI; LÖSEL, 2012). O estresse hídrico é o principal fator que pode limitar o potencial de produção de plantas cultivadas em até 70% (ZINGARETTI et al., 2012), provocando um impacto negativo sobre o crescimento e desenvolvimento da cultura, comprometendo a sua produtividade, especialmente, se a duração do tempo em exposição à seca for maior que a capacidade da planta em tolerá-lo (INMAN-BAMBER, 2004; SMIT; SINGLES, 2006).

As plantas, em geral, evoluíram mecanismos de aclimação e adaptação específicos para responder e sobreviver ao estresse hídrico de curta e longa duração,

reduzindo seu consumo de água e assim ajustando o seu crescimento, uma vez que o estresse por déficit de água é conhecido por alterar uma gama de processos fisiológicos, tais como, a captura de radiação solar, temperatura foliar, condutância estomática, transpiração, transporte de elétrons e concentração dos pigmentos fotossintéticos, que acabam por determinar o rendimento de uma cultura (SILVA et al., 2007). Além de processos fisiológicos, vários processos bioquímicos e moleculares, em nível celular ou de planta inteira, também são alterados em resposta à seca. Em resumo, as principais respostas das plantas estão mostradas na figura 2, segundo Lisar et al. (2012), e desempenham um papel importante na tolerância ao estresse.

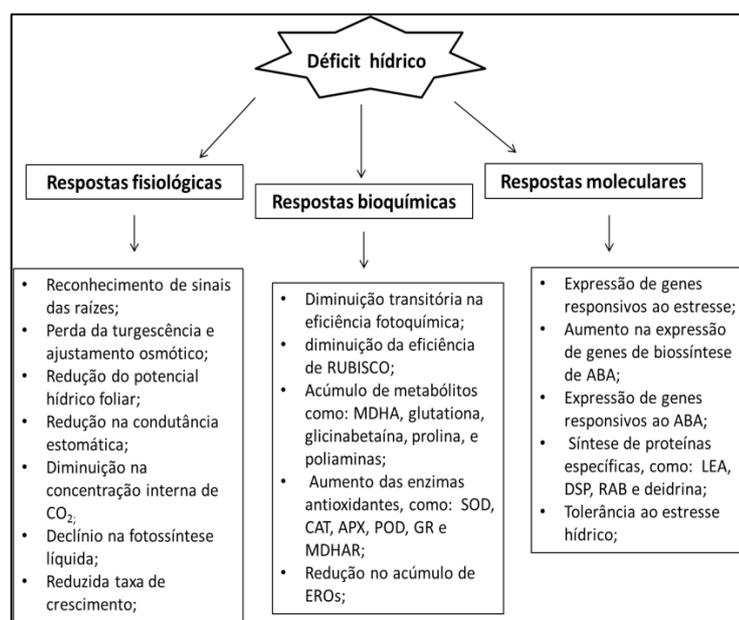


Figura 2. Resumo das principais respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares das plantas sob déficit hídrico. Adaptado de Lisar et al., (2012).

Portanto, são essenciais, estudos que determinem as respostas não só das plantas em geral sob estresse hídrico, mas nas diferenças observadas nas respostas de diferentes genótipos da mesma espécie, visto que genótipos mais tolerantes poderão ser selecionados para o cultivo em regiões afetadas por essa condição.

1.3.1 Mecanismos fisiológicos de plantas sob déficit hídrico

A seca, como estresse abiótico, é multidimensional por natureza, e isso afeta os vegetais em vários níveis de sua organização. As plantas toleram o estresse hídrico através de alterações nos processos fisiológicos fundamentais como fotossíntese, respiração, relações hídricas, metabolismo antioxidante e hormonal (AKINCI; LÖSEL, 2012).

As respostas das plantas podem ser classificadas como: mudanças em curto prazo relacionadas principalmente com as respostas fisiológicas (ligada à regulação dos estômatos); a disponibilidade de aclimatação ao nível de água submetida (acúmulo de solutos resulta em ajuste de potenciais osmóticos); e a adaptação às condições de estresse hídrico (sofisticados mecanismos fisiológicos e, especificamente, modificações na anatomia) (AKINCI; LÖSEL, 2012).

Dentre os variados mecanismos de tolerância à seca, a redução na perda de água através do aumento da resistência estomática ou redução da condutância estomática, o aumento da absorção de água através do desenvolvimento de sistemas radiculares profundos e síntese de solutos compatíveis são vitais para a tolerância. Em adição, a remoção das espécies reativas de oxigênio (EROs) por sistemas enzimáticos e não enzimáticos, a estabilidade da membrana celular, a expressão de proteínas responsivas ao estresse, as aquaporinas, além de substâncias como o ácido salicílico, a citocinina e o ácido abscísico no crescimento, também representam grande importância dentre as respostas das plantas quando submetidas ao déficit hídrico (FAROOQ et al., 2009).

Cada resposta é relacionada com determinada função para a tolerância ao estresse por seca como: redução no transporte de elétrons fotossintético, desacoplamento da fotofosforilação, proteção contra as EROs produzidas nos cloroplastos, prevenção da perda de água por meio da transpiração ou manutenção da atividade fotossintética, indução do crescimento da raiz e inibição do crescimento da parte aérea, acúmulo de osmólitos compatíveis e ajustamento osmótico. Além dessas, evitar o acúmulo e produção de EROs do processo respiratório, desacoplamento da fosforilação oxidativa e de transporte de elétrons da respiração, manutenção da estrutura proteica em membranas internas nas mitocôndrias, regulação da atividade das aquaporinas e inibição do acúmulo de etileno são as principais funções realizadas em busca da tolerância (BHARGAVA; SAWANT, 2013).

Em síntese, as respostas estomáticas e de fotossíntese, a remoção das EROs e alterações metabólicas levam a um ajuste na taxa de crescimento das plantas como uma resposta adaptativa para a sobrevivência buscando maior rendimento nos cultivos (Figura 3) (OSAKABE et al., 2014).

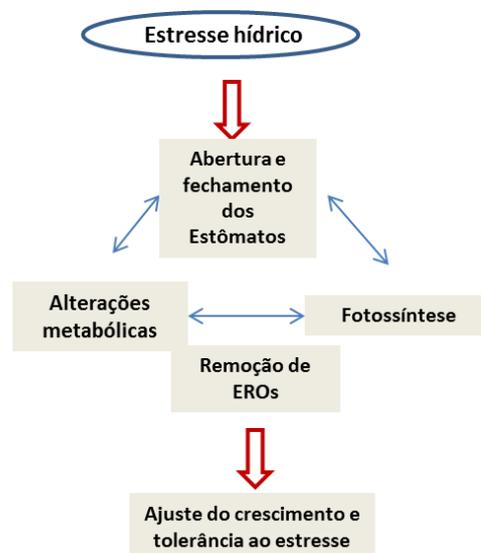


Figura 3. Modelo esquemático das respostas das plantas para a tolerância ao estresse hídrico. Adaptado de Osakabe et al., (2014).

As variadas respostas encontradas em plantas a fim de tolerar o estresse hídrico fizeram com que a biotecnologia intervisse para melhorar a capacidade de tolerância à seca. No entanto, as causas e consequências do estresse hídrico em plantas ainda têm muitas lacunas que precisam ser preenchidas com mais estudos, portanto, a seleção cuidadosa das características adequadas e métodos não destrutivos de quantificações rápidas são muito importantes na indicação da tolerância à seca.

1.3.2 Efeitos do déficit hídrico na fisiologia da cana-de-açúcar

Nas plantas submetidas a estresse hídrico a expansão celular diminui ou cessa, e o crescimento é retardado ou inibido, em adição, o potencial hídrico e a turgescência das células são reduzidos, o que elevam as concentrações dos solutos no citoplasma e matrizes extracelulares. O estresse por seca pode levar também a um fechamento estomático, limitando as trocas gasosas e assim reduzindo as taxas de transpiração e de assimilação de carbono. Na nutrição mineral, também são

encontrados efeitos negativos, nas plantas sob seca, na absorção e transporte de nutrientes, que pode levar a uma diminuição da área foliar e alteração na partição de assimilados entre os órgãos. Também foram relatados efeitos na elasticidade da parede da célula vegetal e perturbações da homeostase e da distribuição de íons na célula, além de síntese de novas proteínas e mRNAs (LISAR et al., 2012).

As principais respostas das plantas em condições de seca que estão relacionadas com o processo fotossintético são resumidas por Bhargava (2013), tais como: o ajuste da extensão das clorofilas do complexo antena, fotodestruição da proteína D1, que é responsável por transferir os elétrons da molécula de água para o centro de reação P_{680} localizados no fotossistema II (PSII), dissipação térmica de energia luminosa, fechamento estomático ou atraso deste, fotoinibição, biossíntese de ABA e alterações na partição de carbono na relação fonte-dreno. Essas respostas, relacionadas principalmente com o processo fotossintético, são observadas em plantas no geral, no entanto a cana-de-açúcar que tem metabolismo fotossintético C₄, possui um mecanismo que diminui a perda de água em ambientes secos, devido a um aumento, em cerca de dez vezes, na bainha vascular, que impede a perda de água pelos estômatos, quando estes estão abertos, para permitir a entrada do CO₂ (ZINGARETTI et al., 2012).

Na cana-de-açúcar, o déficit hídrico na fase inicial de seu desenvolvimento influencia no seu rendimento, reduzindo algumas variáveis como a produção de perfilhos; número, altura, diâmetro e peso individual dos colmos industrializáveis; área foliar e altura da planta, além de acelerar a senescência foliar (ROBERTSON et al., 1999; RAO; KUMAR; REDDY, 2005; GONÇALVES et al., 2010; INMAN-BAMBER, 2004). A redução no potencial de água no solo afeta tanto a divisão celular quanto o alongamento celular (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; GONÇALVES et al., 2010). Outras características fisiológicas verificadas em cana-de-açúcar é o enrolamento foliar, aumento na densidade estomática (PINCELLI; SILVA, 2012), redução na condutância estomática, na máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II, no conteúdo de clorofila *a*, além de reduções nas relações hídricas (MEDEIROS et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2008). Como são sabidos os efeitos do estresse abiótico não varia apenas entre espécies, mas também há diferenças de respostas fisiológicas entre genótipos (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000) e em cana-de-açúcar já é sabido que há grande variação genotípica (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005).

1.3.3 Seleção de variedades de cana-de-açúcar tolerantes à seca para o melhoramento genético vegetal

Várias abordagens têm sido até agora testadas para a produção de plantas tolerantes ao estresse, usando métodos da genética clássica, bem como técnicas de reprodução de plantas melhoradas (LISAR et al., 2012). Uma abordagem para melhorar a tolerância das plantas e desempenho da cultura em ambientes secos é selecionar genótipos que aprimoraram o seu rendimento sob déficit hídrico.

Para seleção de variedades tolerantes à seca para uso no melhoramento genético, são necessários conhecimentos prévios morfofisiológicos das plantas a serem estudadas. Primeiramente, as condições edafoclimáticas de como as plantas serão cultivadas devem ser as mesmas para espécies diferentes ou genótipos da mesma espécie. Além disso, sempre tem que ser comparada com uma espécie/genótipo sensível para que possam ser observadas diferenças nos mecanismos de respostas das plantas (FAGERIA et al., 2010).

Genótipos que diferem na tolerância à seca são bastante importantes para o estudo de respostas ao estresse hídrico em culturas, e a exploração da variação genética para respostas relacionadas com a seca, resulta em um progresso no desempenho da cana-de-açúcar (BHARGAVA; SAWANT, 2013). Estudos sobre genótipos contrastantes de cana-de-açúcar ajudam na diferenciação das respostas observadas em condições de estresse hídrico e revela quais genótipos são mais tolerantes à seca, isso se torna essencial, uma vez que o genótipo tolerante mostrará bons rendimentos nesta condição adversa.

Existem características nas variedades de cana-de-açúcar que são importantes de serem estudadas, principalmente para os programas de melhoramento genético, a fim de alcançar o melhor cultivo e assim aumentar a produtividade. Algumas dessas variedades e características, de acordo com a RIDESA (Rede Interuniversitária de Desenvolvimento para o setor sucroalcooleiro) (2010), estão listadas na tabela 1.

Tabela 1. Características das variedades de cana-de-açúcar pré-selecionadas para o estudo no programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar - RIDESA (Rede Interuniversitária de Desenvolvimento para o setor sucroalcooleiro).

Variedades	Características		
	Teor de sacarose*	Teor de fibra**	Tolerante a seca
RB72454	Médio	Médio	Não
RB863129	Médio	Médio	Sim
RB867515	Alto	Médio	Sim
RB92579	Alto	Médio	Sim
RB962962	Alto	Médio	Sim
RB972631	-	-	-
RB98710	Alto	Baixo	Não
RB992506	-	-	-
002504	Alto	Médio	-
C90-176	Baixo	Alto	-
C90-178	Baixo	Alto	-

* Sacarose alta (brix: 25 e pol%: 15); sacarose média (brix: 19-23 e pol%: 13-14) sacarose baixa (brix: 17-18 e pol%: 12-11).

** Fibra alta: (22%) fibra média (17% a 20%); Fibra baixa (entre 15% e 16%).

Fonte: RIDESA, 2010.

O cultivo de variedades da RIDESA Brasil, como já mencionado antes, ocupa grande parte do território brasileiro, com diferentes condições de estresse ambientais, e as variedades cubanas (C90-176 e C90-178), também listadas, estão com similar importância, visto que são caracterizadas como ricas em fibras e utilizadas para fins energéticos na execução e conclusão da colheita, para substituir a combustão. Essas variedades apresentam maior produção de biomassa e resistência às principais doenças que atacam a cultura, além disso, “as canas energia”, como são denominadas, contêm alto teor de fibras e baixo teor de sacarose (PEDROMO, 2012). A sua exploração é economicamente viável, porém seu uso é mais adequado para a produção de etanol, nesse caso de segunda geração.

As variedades descritas acima são contrastantes quanto ao teor de fibras, sacarose, além da tolerância à seca, e, estudos fisiológicos e bioquímicos, em conjunto, sobre os genótipos contrastantes de cana-de-açúcar fornecem importantes informações sobre os mecanismos envolvidos na tolerância a restrição hídrica, além de mostrar a estratégia utilizada para tal tolerância.

Alguns parâmetros são de fundamental importância para indicar genótipos tolerantes e sensíveis à seca, tais como, as relações hídricas e as trocas gasosas durante a fase de crescimento (perfilhamento) que podem ser úteis na identificação

de genótipos tolerantes ao déficit hídrico. Em adição, o teor de verde estimado pelo SPAD (Soil Plant Analysis Development) e a concentração dos pigmentos fotossintéticos, podem ser tão eficazes como as trocas gasosas e reveladores sobre genótipos tolerantes e sensíveis à seca (SILVA et al., 2007). As variáveis de potencial hídrico foliar, teor relativo de água, condutância estomática e eficiência no uso da água correlacionada com o fechamento estomático, a fim de reduzir a taxa de transpiração, são características muito importantes que influencia nas relações hídricas das plantas, além de serem bastante sensíveis ao estresse hídrico correlacionando-se bem com a tolerância à seca (MONCLUS et al., 2005; FAROOQ et al., 2009).

1.3.4 Mecanismos bioquímicos de resposta ao déficit hídrico em cana-de-açúcar

Algumas espécies de plantas apresentam a habilidade de acumular osmólitos compatíveis, quando submetidas à seca. Isso seria uma resposta bioquímica a nível celular que permitiria as plantas a tolerarem períodos de seca e continuar com o crescimento vegetal (BARTELS; SUNKAR, 2005; SALES et al., 2013). Mesmo sendo considerado um importante mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, o ajustamento osmótico pode não favorecer ao aumento da produtividade das plantas, porém pode possibilitar a continuação do desenvolvimento em condições de seca (SERRAJ; SINCLAIR, 2002).

O acúmulo de compostos orgânicos solúveis no citoplasma é o fator mais comumente utilizado para combater os efeitos da seca nas plantas, porque atuam como solutos compatíveis, visto que não interferem no metabolismo citoplasmático, mesmo em altas concentrações. Os osmólitos compatíveis, como os carboidratos solúveis, proteínas solúveis e aminoácidos livres, atuam mantendo o equilíbrio osmótico, protegendo as células contra a desidratação por meio da estabilização de membrana e proteína estruturais, além de proteger as enzimas, eliminando os radicais livres produzidos sob o estresse hídrico (MUNNS, 2002; WILLADINO; CAMARA, 2010; PADMAVATHI; RAO, 2013).

Diversas substâncias possuem função osmoprotetora, em que se destacam a trealose, a glicina betaína e a prolina. Esta última é considerada osmólito-chave para o ajustamento de plantas sob estresse hídrico, já que protege as membranas contra os efeitos deletérios causados pelo estresse oxidativo secundário, prevenindo a

desnaturação de proteínas e preservando a estrutura de enzimas, além de regular o potencial redox celular e inibir a agregação de proteínas (SHARMA; DUBEY, 2005; ASHRAF; FOOLAD, 2007; CARLIN; SANTOS, 2009; MORAES et al., 2015).

Como consequência da exposição das plantas ao estresse abiótico, assim como a seca, há a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e o acúmulo de radicais livres tais como o superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e radicais hidroxilas (OH^\cdot), que perturbam a homeostase celular redox levando a lesões oxidativas em proteínas, DNA e lipídios (APEL; HIRT 2004; BARTELS; SUNKAR, 2005). Para a proteção das membranas celulares e das organelas dos efeitos prejudiciais das concentrações tóxicas das EROs, as plantas possuem dois sistemas de defesa conhecidos: um não enzimático, que envolve moléculas antioxidantes, como os flavonoides, alcaloides, carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico, tocoferol e a glutathione reduzida, além das poliaminas que também podem proteger as plantas das injúrias do acúmulo de radicais livres; e outro enzimático, composto pelas enzimas antioxidantes que inclui a superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, guaiacol peroxidase, catalase, glutathione redutase, tioredoxina redutase, polifenoloxidase, e as peroxidases. (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000; MITTLER et al., 2004; REDDY; CHAITANYA; VIVEKANANDAN, 2004; PANG; WANG, 2008; WILLADINO; CAMARA, 2010; GALLEGO et al., 2012; BOARETTO et al., 2014).

As respostas relacionadas à defesa contra o estresse oxidativo podem ser encontradas no apoplasto, citosol, cloroplasto, mitocôndria e peroxissomo e consiste basicamente em remover ou neutralizar as EROs (NOCTOR et al., 2004). Em vários estudos, foram encontradas diferenças no nível de expressão ou atividade dessas enzimas antioxidantes, inclusive em cana-de-açúcar (WILLADINO et al., 2011; BOARETTO et al., 2014).

Sugere-se que a diferença dos mecanismos na atividade antioxidante entre genótipos contrastantes pode ser devida a respostas, por exemplo, nos graus de fechamento estomático, na alteração da taxa de fixação de CO_2 ou em processos que evitam a fotoinibição (MUNNS; TESTER, 2008), e que pode estar associada ao genótipo tolerante, como na maioria dos casos.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINCI, Ş.; LÖSEL D. M. **Plant Water-Stress Response Mechanisms**. Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman (Ed.), ISBN: 978-953-307-963-9, InTech, p. 15-42, 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/water-stress/plant-water-stress-response-mechanisms>. Acesso em: 23. Set. 2015.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004.
- ARAÚJO, N.C.; **Cana-de-açúcar: resposta técnica**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. 7p. 2006. Disponível em: <http://www.agrobyte.com.br/cana.htm>. Acesso em 03 de Set. de 2015.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 59, n.2, p. 206-216, 2007.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.24, p. 23-58, 2005.
- BHARGAVA, S.; SAWANT K.; Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, v. 132, p. 21–32, 2013.
- BOARETTO L. F. et al. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.74, p. 165-175, 2014.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (ed.) **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiology, p. 158-1203, 2000.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, W.D.; SOUZA, A.P. As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In: Luís Augusto Barbosa Cortez. (Org.). **Bioetanol da cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Edgard Blucher, v., p. 365-380, 2010.
- CARLIN S. D.; SANTOS D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.9, p. 1106-1113, set. 2009.
- CESNIK, R. Melhoria da Cana-de-açúcar: marco sucro-alcooleiro no Brasil. In: Cesnik, R.; MIOQUE, J.Y.J. **Melhoria da Cana-de-açúcar**. Brasília: EMBRAPA – Embrapa informações tecnológicas, 2004, 307p.
- CIARMIELLO, L.F. et al. Plant genes for abiotic stress. In: SHANKER, A.K.; VENKATESWARLU, B. **Abiotic stress in plants – Mechanisms and adaptations**. Rijeka, InTech, 2011, p.283-308.

CIB. **Guia da cana-de-açúcar: avanço científico beneficia o país.** Conselho de informações sobre biotecnologia. 2009. Disponível em: <http://www.cib.org.br/pdf/guia_cana.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2014.

CONAB, **Companhia Nacional de Abastecimento.** Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-açúcar safra 2014/2015. Primeiro levantamento. Brasília: Conab, 2014a. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/cana.pdf>> Acesso em: 27.jul. 2014.

CONAB, **Companhia Nacional de Abastecimento.** Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-açúcar: safra 2015/2016: primeiro levantamento. Brasília: Conab, 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/cana.pdf>> Acesso em: 27.jul. 2015.

CTBE. **Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol.** 2015. Disponível em: <http://ctbe.cnpem.br/etanol-celulosico-deve-ser-viavel-2020/>. Acesso em: 03. nov. 2015.

FAGERIA, N. K. et al. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. (ed.) **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**, Fortaleza: INCT Sal, 2010, p. 205-218.

FAROOQ M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Springer Verlag (Germany), v.29, n.1, p.185-212, 2009.

GALLEGO, S. M. et al. Unraveling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanism. **Environmental Experimental Botany**, v.83, p. 33-46, 2012.

GONÇALVES, E. R. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedade de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 4, p. 378-386, 2010.

HARB A. et al. Molecular and Physiological Analysis of Drought Stress in Arabidopsis Reveals Early Responses Leading to Acclimation in Plant Growth. **Plant Physiology**, V. 154, p. 1254–1271, Nov. 2010.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v.89, p.107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N.G., SMITH, D.M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 185-202, 2005.

JADOSKI C. J. et al. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.3, n.2, p. 169-176, 2010.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

LISAR, S.Y.S. et al. **Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses**. Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman (Ed.), ISBN: 978-953-307-963-9, InTech, p.1-14, 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/water-stress/plant-water-stress-response-mechanisms>. Acesso em: 23. Set. 2015.

MARAFON, A. C. **Análise quantitativa de crescimento em cana-de-açúcar: uma introdução ao procedimento prático**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 29 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1953; 168). Disponível em: http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_168.pdf. Acesso em: 27. jul. 2015.

MEDEIROS, D. B. et al. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Campo dos Goytacazes, v. 25, n. 3, p. 213-222, 2013.

MITTLER R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**. v.9, n.10, p.490-498, oct. 2004.

MONCLUS R. et al. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoids* x *Populus nigra*, **New Phytologist**, v. 169, p. 765–777, 2006.

MORAES, P. F. et al. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 1, p. 25-32, Mar. 2015.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.239-250, 2002.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mecanismos de Salinity Tolerance. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 59, p.651-681, jun. 2008. MUNNS, R.; TESTER, M. Mecanismos de Salinity Tolerance. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 59, p.651-681, jun. 2008.

NOCTOR, G. et al. Use of mitochondrial electron transport mutants to evaluate the effects of redox state on photosynthesis, 36 stress tolerance and the integration of carbon/nitrogen metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n.394, p.49-57, jan. 2004.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas de caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M.C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Orgs.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. 1 ed. Recife: Imprensa Universitária da UFRPE, v. 1, p. 22-31, 2005.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; SILVA, E.C; SILVA, M.A.; SANTOS, H.R.B.; PACHECO, C.M.; TEIXEIRA, M.M.; SIMÕES NETO, D.E. **Uso de indicadores fisiológicos para avaliar tolerância à seca em cana-de-açúcar no estado inicial do desenvolvimento: relações hídricas e comportamento estomático**. Maceió - AL: 9º Congresso Nacional da STAB, p. 692-698, 2008.

NOVACANA. **Novacana.com**. 2015. Disponível em: <http://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/vez-biotecnologia-biomassa-240915/>. Acesso em: 03. Nov. 2015.

OSAKABE Y. et al. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**. V.5, n. 86, 2014. *PMC*. Web. 16 Nov.2015.

PADMAVATHI,T.A.V.; RAO, D.M. Differential Accumulation of Osmolytes in 4 Cultivars of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) under Drought Stress. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v.16, n.2, p. 151-159, 2013.

PANG, C. H.; WANG, B. S. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**, v.69, n.3, p. 231-245, 2008.

PEDROMO, I. M. Uso de la caña energética en la empresa azucarera Melanio Hernández. **Factibilidad del uso energético de la caña de azúcar como combustible renovable**. Editorial Académica Española, 2012. 64f. Disponível em: <https://www.morebooks.de/store/es/book/uso-de-la-ca%C3%B1a-energ%C3%A9tica-en-la-empresa-azucarera-melanio-hern%C3%A1ndez/isbn/978-3-8484-7307-6>. Acesso em: 13. maio. 2015.

PINCELLI R.P.; SILVA M. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 546-556, July/Aug. 2012.

PIRES, R.C.M.; Arruda, F.B. & Sakai, E. **Irrigação e Drenagem**, In: Cana-de-Açúcar, L.L. Dinardo-Miranda; A.C.M. Vasconcelos & M.G.A. Landell, (1a Ed.), p. 631-670, 2010. ISBN 978-85-85564-17-9, Campinas, São Paulo, Brasil.

RAO, C. M.; KUMAR, M. V.; REDDY, L. K. Management of sugarcane clones under limited moisture situations (drought) at formative stage. **Indian Sugar**, Indian, p. 949-953, 2005.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v.161, n.11, p.1189-1202, nov. 2004.

RIDESA. Liberação nacional de novas variedades “RB” de cana-de-açúcar. **Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento Sucroalcooleiro**, Curitiba, 2010. 64f.

ROBERTSON, M. J. et al. Physiology and productivity of sugarcane with early and midseason water deficit. **Field Crops Research**, Australia, v. 64, p. 211-227, 1999.

RODRIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: UNESP, 1995. 100 p.

SALES C. R.G. et al. Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p. 326-336, 2013.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant Cell and Environment**, v.25, p.333-341, 2002.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.

SILVA, M.A. et al. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 19, n.3, p. 193-201, 2007.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 98, p. 91-97, 2006.

TOPPA E. V. B. et al. Aspectos da fisiologia de produção da cana-de-açúcar (*Saccharum Officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.3, n.3, p. 215-221, Set.- Dez. 2010.

UNICA. **União da Indústria de Cana-de-açúcar**. 2013. Disponível em: <http://www.unica.com.br/noticia/29810917920343378786/usina-pioneira-de-etanol-celulosico-coloca-brasil/>. Acesso em: 03. nov. 2015.

UNICA. **União da Indústria de Cana-de-açúcar**. 2015. Disponível em: <http://www.unicadata.com.br/>. Acesso em: 03. nov. 2015.

VAN DILLEWIJN, C.; WALTHAM, M. **Botany of sugarcane**. New York, Chronica Botanica, 1952. 371p.

WACLAWOVSKY, A.J. et al. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v.8, n.3, p.263-276, apr. 2010.

WILLADINO, L.; CAMARA T.R., Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.6, n.11, p.1-23, 2010.

WILLADINO, L. et al. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agrônômica**. v.42, n.2, p.417-422, abr.-jun. 2011.

ZINGARETTI, S. M. et al. Sugarcane Responses at Water Deficit Conditions. In: Ismail Md. Mofizur Rahman and Hiroshi Hasegawa (Ed.). **Water Stress**. InTech: p. 255-276, 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/water-stress/sugarcane-responses-at-water-deficit-conditions>.

CAPÍTULO II

SELEÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR PROMISSORAS QUANTO À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO A PARTIR DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Artigo submetido para a revista Journal of Plant Physiology

Selection of sugarcane promising varieties for tolerance to water stress from
physiological and biochemical parameters

Cinthya Mirella Pacheco^{1*}, Rafaela Pereira Souza de Araújo², Marcelle Almeida da Silva³,
Djalma Euzébio Simões Neto⁴, Rejane J. Mansur C. Nogueira⁵

¹ Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil. cinthya.m.pacheco@gmail.com

² Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil. rafinha.pereira588@gmail.com

³ Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil. marcelle.almeida@univasf.edu.br

⁴ Experimental station of sugarcane of Carpina, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil. desn@oi.com.br

⁶ Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil. rjmansur1@gmail.com

*corresponding author: cinthya.m.pacheco@gmail.com

Seleção de variedades de cana-de-açúcar promissoras quanto à tolerância ao déficit hídrico a partir de parâmetros fisiológicos e bioquímicos

Resumo – O objetivo do trabalho foi comparar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos avaliados em variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico a fim de fornecer informações sobre as respostas iniciais observadas quando submetidas à suspensão de rega. Foram avaliadas as variáveis fisiológicas das trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos e relações hídricas, além das análises bioquímicas de determinação dos teores de carboidratos, prolina e aminoácidos totais em seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454 e C90-178) em coletas realizadas 24 h e 72 h após a suspensão da rega. As variáveis fisiológicas no geral foram bastante afetadas nas variedades de cana-de-açúcar em estudo, principalmente nas plantas após 72 h de estresse por suspensão de rega, exceto na variedade C90-176, que não alterou suas trocas gasosas, relações hídricas e eficiência do uso da água, além de apresentar acúmulos significativos de teores de carboidratos nas folhas e prolina, nas raízes, após 24 h de estresse, indicando maior tolerância ao déficit hídrico. A variedade RB962962 foi considerada a mais sensível ao déficit hídrico por reduzir as trocas gasosas logo no início do estresse, além de apresentar redução no potencial hídrico e eficiência do uso da água foliar após 72 h, em adição apresentou reduções significativas do teor de prolina nas folhas e raízes, após 24 h de suspensão da rega, podendo levar as plantas a um dano oxidativo numa maior exposição ao estresse. O contraste das respostas iniciais à suspensão de rega apresentado nas duas variedades indicadas como tolerante e sensível é promissor para auxiliar nos programas de melhoramento genético, por apresentar as vias respostas mais eficientes a fim de conferir maior tolerância da cana-de-açúcar a seca e por contribuir para ampliação do potencial das variedades já cultivadas ou o desenvolvimento de novas variedades.

Palavras-chave: *Saccharum* spp; suspensão de rega; eficiência do uso da água; trocas gasosas; prolina;

Abstract - The objective was to compare the physiological and biochemical parameters evaluated in varieties of sugarcane under water stress to providing information on responses at an early exposure to suspend watering. The physiological variables of gas exchange were evaluated, photosynthetic pigments and water relations, in addition to biochemical analysis to determine the carbohydrate content, proline and total amino acids in six varieties of sugarcane (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454 and C90-178) in samples taken 24 h and 72 h after stopping irrigation. The physiological variables were overall quite heavily in varieties of sugarcane under study, mainly in the plants after 72 h of stress by watering suspension, except in the variety C90-176, which did not change their gas exchange, water relations and efficiency water use, besides presenting significant accumulations of carbohydrate concentration in leaves and proline in roots after 24 h of stress, indicating greater tolerance to drought. The RB962962 variety was considered the most sensitive to water deficit by reducing gas exchange early in the stress and presents reduction in water potential and efficiency of the use of foliar water after 72 h, in addition showed significant reductions in proline content in leaves and roots after 24 h of water removal, which may lead plants to oxidative damage in increased exposure to stress. The contrast of the initial responses to irrigation suspension presented in two varieties indicated as tolerant and sensitive is promising to assist in breeding programs, by presenting the routes more efficient responses to providing greater tolerance of sugarcane drought and contribute to expanding the potential of already cultivated varieties or the development of new varieties.

Key-words: *Sccharum* spp; suspend watering; water use efficiency; gas exchange; proline;

1. INTRODUÇÃO

Frente às mudanças climáticas, a escassez da água será o fator mais limitante no desenvolvimento de culturas com importância econômica mundial. Dentre essas culturas destaca-se a cana-de-açúcar, que se encontra distribuída no Brasil em uma área superior a 7,1 milhões de hectares, com área cultivada que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2014/15 de aproximadamente 9.130,1 mil hectares (CONAB, 2014).

A cana-de-açúcar é matéria-prima para a produção do etanol e se destaca por ser fonte renovável para esse combustível. Com a alta demanda para a substituição do petróleo, fonte não renovável de combustível mais utilizado atualmente, o aumento da produtividade dessa cultura é de fundamental importância, fortalecendo a economia do Brasil. No entanto, para que o pretendido aumento na produtividade seja alcançado de forma suficiente é imprescindível que haja uma sincronização entre as tecnologias aplicadas em seu cultivo junto às condições edafoclimáticas favoráveis. No Nordeste do Brasil, por exemplo, que apresenta características de aridez, segundo a CONAB (2014), houve um crescimento no rendimento da cultura, apontado em 10,3% em relação à safra 2013/14, apresentando uma recuperação da produtividade dos canaviais que foram severamente castigados por uma das maiores secas da região.

Já que as condições ambientais não irão favorecer o cultivo da cana-de-açúcar, principalmente em relação à falta de água, será necessária a seleção de variedades de cana-de-açúcar cada vez mais tolerantes ao déficit hídrico. Para isso, os mecanismos fisiológicos realizados por essa espécie em condições de seca, podem favorecer o progresso do melhoramento genético clássico junto à manipulação genética, buscando o lançamento de variedades tolerantes aos principais estresses abióticos em menor período de tempo. Parâmetros como as relações hídricas, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, eficiência do fotossistema II são bastante indicativos para elucidar os mecanismos realizados pelas plantas submetidas ao déficit hídrico (YORDANOV, 2003; NOGUEIRA, 2008; GHANNOUM, 2009) e selecionar variedades de cana-de-açúcar tolerantes à seca.

As principais características fisiológicas verificadas em cana-de-açúcar sob estresse hídrico por seca são o enrolamento foliar, aumento na densidade estomática (PINCELLI; SILVA, 2012) redução na condutância estomática, na máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II, conteúdo de clorofila *a*, além de reduções nas relações hídricas (MEDEIROS et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2008). No entanto, há grande variação genotípica nas respostas para a tolerância ao estresse (INMAN-BAMBER et al., 2005), por isso a importância de selecionar as variedades mais viáveis economicamente, como as variedades RB (RIDESA Brasil) que respondem por cerca de 60% de área de plantio no território brasileiro (NOVACANA, 2015).

Fatores como o tempo de exposição ao estresse, idade da planta e os diferentes genótipos dentro da mesma espécie influenciam nas respostas dos vegetais aos estresses abióticos (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000), não diferente, cultivares de cana-de-açúcar de mesma classificação quanto à tolerância ao estresse hídrico podem mostrar diferentes respostas ao nível morfológico, fisiológico e molecular, em virtude de muitas características apresentarem controle multigênico (RODRIGUES *et al.*, 2009). O estudo das respostas fisiológicas da cana-de-açúcar submetidas ao estresse de curta duração também pode favorecer um maior entendimento nas respostas a nível molecular, por permitir a comparação da expressão gênica entre variedades, buscando a elucidação de mecanismos realizados numa exposição inicial ao estresse (PACHECO, 2013).

Atualmente, é essencial que existam interações entre as diversas áreas da Biologia Vegetal, assim como a Biotecnologia e a Fisiologia Clássica para o entendimento completo dos mecanismos de tolerância a estresses ambientais (VINOCUR; ALTMAN, 2005), portanto, estudos que visem explorar as respostas de variedades submetidas ao déficit hídrico, que influenciam no desenvolvimento da cana-de-açúcar irão auxiliar em decisões futuras referentes ao manejo da cultura, melhoramento genético e economia agrícola (EASTERLING *et al.* 2007).

O objetivo do trabalho foi comparar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos avaliados em variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico a fim de fornecer informações sobre as respostas iniciais observadas quando submetidas à suspensão de rega.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia Vegetal (LFV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Durante o período experimental, as condições ambientais no interior da casa de vegetação, representadas pela temperatura média e umidade relativa do ar, medidas diariamente por um equipamento Data logger, variaram de 24 a 30°C e 58 a 91%, respectivamente. Quanto ao déficit de pressão de vapor (DPV), calculado seguindo a fórmula proposta por Vianello e Alves (1991), variou de 0,69 a 0,84 KPa.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 6 x 2 correspondendo a seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454 e C90-178) e dois tratamentos, rega diária (controle) e suspensão da rega (sem rega), com oito repetições para cada tratamento, totalizando 96 unidades experimentais.

Os rebolos utilizados no experimento foram procedentes da Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC/UFRPE), os quais foram colocados para brotar em bandejas contendo solo procedente da própria estação. Um mês após a brotação, as plântulas foram transferidas para vasos de polietileno com mesmo substrato e foram mantidas diariamente na capacidade de pote de 12,500 Kg conforme a metodologia de Souza (2000). Após o período de 60 dias em aclimatação, foram empregados os tratamentos hídricos e as coletas, de tecidos de folhas e raízes, foram realizadas 24 h e 72 h após a suspensão da rega.

2.2. Varáveis analisadas

2.2.1. Trocas gasosas

As trocas gasosas foram medidas entre 10-13 horas na folha +1, com um analisador portátil de CO₂ a infravermelho (IRGA), ADC, modelo Lci, (Hoddesdon, UK). Foram avaliadas a taxa de fotossíntese líquida (A), a transpiração (E) e a condutância estomática (gs). De posse dos valores de A e E, foi calculada a eficiência do uso da água, definida pela razão A/E.

2.2.2. Pigmentos fotossintéticos

O teor de clorofila total das folhas foi estimado por um aparelho portátil, SPAD-502 (Minolta, Japão), onde foram realizadas dez leituras nas mesmas folhas utilizadas para avaliação das trocas gasosas. Em adição, foram determinadas as concentrações dos pigmentos fotossintéticos, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides, pelo método destrutivo, utilizando 0,1 g de matéria fresca do limbo da folha +2, seguindo a metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001).

2.2.3. Potencial hídrico foliar e teor relativo de água

As folhas 0 de cada planta foram destacadas, envolvidas em filme plástico e armazenadas em recipiente refrigerado para a determinação do potencial hídrico foliar (Ψ_w), utilizando-se a câmara de pressão de Scholander, em concordância com Scholander et al., (1965). O Teor Relativo de Água (TRA) foi determinado nas mesmas folhas utilizadas para a determinação das concentrações dos pigmentos fotossintéticos onde foram retirados seis recortes de área conhecida (1 cm x 0,5 cm) do limbo foliar sem a nervura central para a obtenção dos pesos da matéria fresca (PF), túrgida (PT) e seca (PS). De posse desses dados, o TRA foi calculado utilizando-se a fórmula descrita em Cairo (1995) como segue:

$$TRA = \frac{PF - PS}{PT - PS} \times 100$$

2.2.4. Teores de carboidratos solúveis, aminoácidos livres e prolina livre

Para as análises bioquímicas, foram coletados aproximadamente 1 g de matéria fresca do limbo da folha +3 e das raízes, que foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente conservados em ultrafreezer -80 °C. Para o preparo dos extratos, as amostras foram maceradas com nitrogênio líquido em almofariz, e depois foram adicionados 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. Os carboidratos solúveis foram determinados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D-(+)-glucose como padrão, fazendo leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Os aminoácidos solúveis totais foram analisados pelo método da ninhidrina (YEMM & COCKING, 1955), utilizando-se glicina como padrão, com as leituras realizadas na faixa de 570 nm e finalmente a prolina livre foi avaliada pelo método da ninhidrina ácida (BATES, 1973) com curva de padronização feita a partir de L- prolina e suas leituras realizadas sob o comprimento de onda de 520 nm.

2.3. Análise estatística

Os dados fisiológicos e bioquímicos obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade, em arranjo fatorial 6 x 2 (variedades de cana-de-açúcar x tratamentos hídricos) utilizando o programa estatístico Assistat 7.7 Beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Trocas gasosas

De um modo geral, a suspensão da rega influenciou negativamente as variáveis das trocas gasosas (A, E e gs) das variedades de cana-de-açúcar em estudo, porém mais tardiamente, após 72 h, exceto para as plantas da variedade C90-176 onde não foi observada diferença estatística com o déficit hídrico (Figuras 1A a 1F). As variáveis A, E e gs também foram afetadas de forma significativa inicialmente, após 24 h de suspensão da rega, nas variedades RB98710 e RB962962 com reduções de 65%, 49% e 60% para a RB98710,

respectivamente, de 21%, 19% e 25% para a RB962962 e de 8% apenas para a variável A na variedade RB72454 (Figuras 1A, 1C e 1E) .

Em relação a EUA, a maiorias das plantas sob estresse hídrico não apresentaram diferenças significativas após 24 h em comparação as plantas controle, exceto as plantas da variedade RB98710 que reduziram significativamente (28%) essa variável (Figura 1G), no entanto essa mesma variedade, juntamente com a C90-176, conseguiram usar a água de forma eficiente após 72 h da suspensão da rega, enquanto que as demais variedades sofreram reduções significativas que variaram de 23% (RB962962 e RB92579) a 29% (C90-178) (Figura 1H).

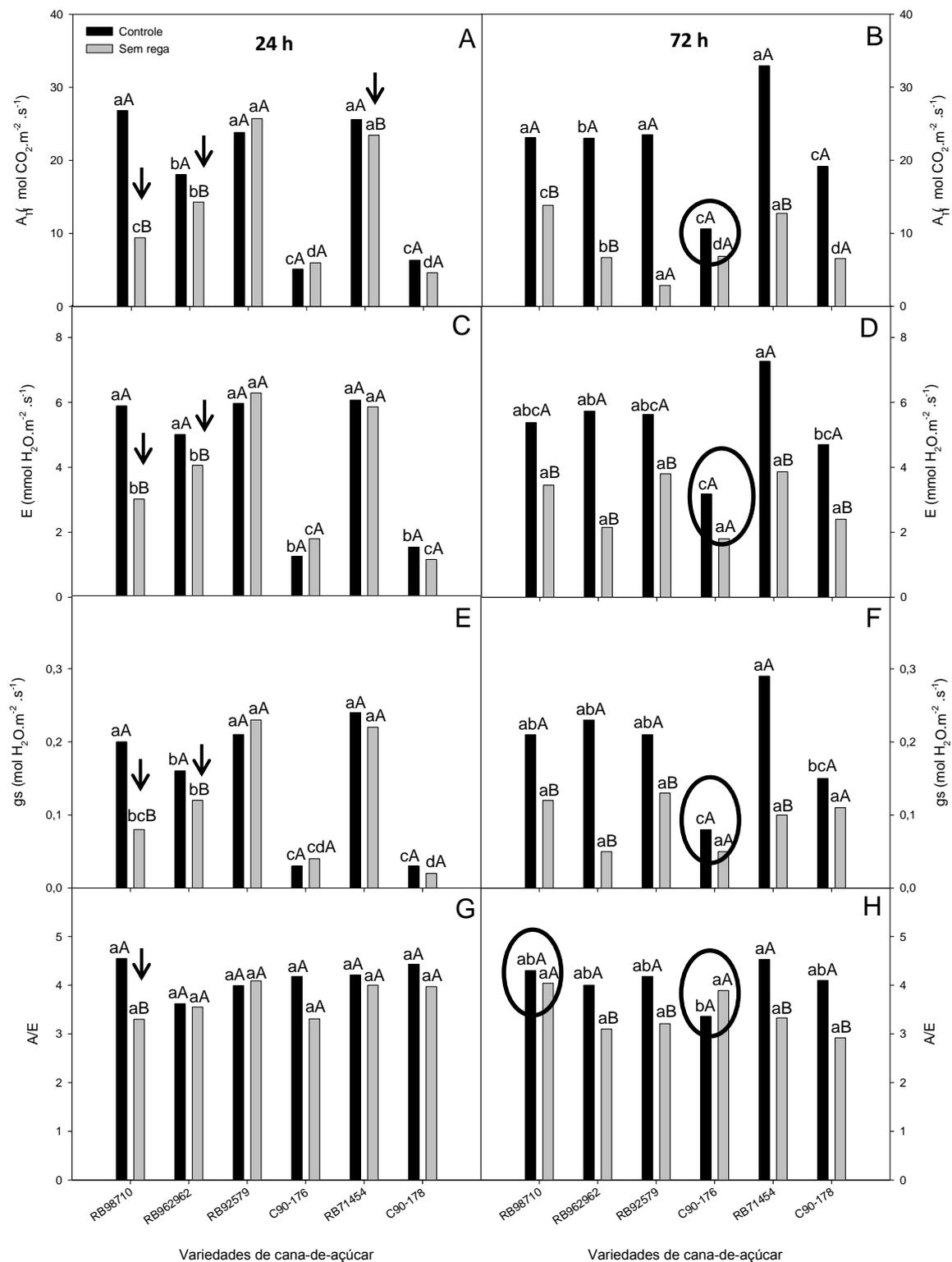


Figura 1: Trocas gasosas de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) e B) Fotossíntese líquida (A_L) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; C) e D) Transpiração (E) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; E) e F) Condutância estomática (gs) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; G) e H) Eficiência do uso da água (EUA) após 24 h e 72 h da suspensão de rega, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas e os círculos que não houve diferença estatística.

As trocas gasosas em variedades de cana-de-açúcar sob déficit hídrico sofreram reduções drásticas como consequência do fechamento estomático, mecanismo esse considerado como primeira linha de defesa dos vegetais em condições de estresse, a fim de minimizar a perda de água, reduzindo também a taxa de fotossíntese líquida (MACHADO et al. 2009; GONÇALVES, 2010; SALES, 2012). Segundo Silva et al., (2013) as cultivares de canas-de-açúcar tolerantes mantiveram os maiores valores da condutância estomática quando comparada às sensíveis sob restrição hídrica. Além disso, espécies de plantas tolerantes à seca controlam as trocas gasosas permitindo que haja fixação de CO₂ mesmo durante o estresse, otimizando a eficiência do uso da água (YORDANOV et al., 2003). Portanto, as plantas da variedade cubana, C90-176, mesmo apresentando a menor média em comparação as demais variedades em estudo, denota seu melhor desempenho em relação às mesmas nesse parâmetro avaliativo de tolerância ao estresse hídrico, já que as trocas gasosas e a condutância estomática não foram afetadas sob estresse por seca, além de ter se mostrado mais eficiente no uso da água após a suspensão da rega diária por 72 h.

3.2 Teor de clorofila a, b, total e carotenoides

As plantas das variedades de cana-de-açúcar sob suspensão da rega apresentaram comportamentos variados em relação às concentrações dos pigmentos fotossintéticos. Todas as variedades parecem recuperar seus teores de clorofila a, b e total sem diferir significativamente das plantas do tratamento controle, apresentando inclusive aumentos significativos nas plantas da variedade RB98710 (Tabela 1). O teor de carotenoides só aumentou após 72 h da suspensão da rega nas variedades RB92579 e C90-178, indicando que essas variedades investem em mecanismos de fotoproteção para tolerar a escassez hídrica, diferindo das demais em estudo, já que esse pigmento apresenta papel essencial na proteção ao aparelho fotossintético evitando danos fotooxidativos (Tabela 1).

Em geral, os pigmentos associados à fotossíntese são degradados em variedades de cana-de-açúcar sob restrição hídrica, principalmente pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio que ocasiona a peroxidação lipídica das membranas e pode desestruturar o radical

hidrofóbico das clorofilas ligados as mesmas (SANTOS, 2014). No entanto, como nesse estudo foi constatado que após 72 h da suspensão da rega os pigmentos fotossintéticos e acessórios não foram degradados, então, sugere-se que a via de biossíntese dos pigmentos não foi afetada pelo déficit hídrico, assegurando que até o momento da coleta não foram observados danos no aparato fotossintético.

Tabela 1: Teores de pigmentos fotossintéticos de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico com coletas realizadas após 24 h e 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.

Variedades de cana-de-açúcar	Clorofila a (mg.g ⁻¹ MF)				Clorofila b (mg.g ⁻¹ MF)			
	24 h		72 h		24 h		72 h	
	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega
RB98710	0,61 abcA	0,32 bcA	0,91 bB	1,63 aA	0,35 deA	0,22 dA	0,48 cB	0,95 aA
RB962962	0,35 cA	0,18 cA	1,08 abA	1,28 abA	0,25 eA	0,3 cdA	0,6 bcA	0,77 abA
RB92579	0,45 bcA	0,58 bcA	1,46 aA	1,39 abA	0,62 cdA	0,57 bcA	0,89 aA	0,76 abA
C90-176	0,93 aA	1,16 aA	1,51 aA	1,3 abA	0,66 bcB	0,92 aA	0,7 abcA	0,74 abA
RB72454	0,83 abA	0,65 bA	1,46 aA	1,29 abA	0,94 abA	0,6 bB	0,84 abA	0,69 abA
C90-178	0,66 abcB	1,15 aA	1,23 abA	1,04 bA	0,97 aA	1,06 aA	0,64 abcA	0,53 bA

Variedades de cana-de-açúcar	Clorofila total (mg.g ⁻¹ MF)				Carotenoides (mg.g ⁻¹ MF)			
	24 h		72 h		24 h		72 h	
	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega
RB98710	0,96 bA	0,55 cB	1,77 bcB	2,58 aA	0,12 abA	0,06 abB	0,06 aA	0,07 cA
RB962962	0,64 bA	0,48 cA	1,68 cA	2,05 abcA	0,06 bA	0,04 bA	0,09 aA	0,08 bcA
RB92579	0,86 bB	1,3 bA	2,35 aA	2,15 abA	0,07 bA	0,12 abA	0,07 aB	0,15 aA
C90-176	1,6 aA	1,72 abA	1,96 abcA	2,04 abcA	0,12 abA	0,14 aA	0,09 aA	0,06 cA
RB72454	1,77 aA	1,25 bB	2,31 abA	1,98 bcA	0,16 aA	0,13 aA	0,06 aA	0,08 bcA
C90-178	1,61 aB	2,21 aA	1,87 abcA	1,57 cA	0,05 bB	0,1 abA	0,09 aB	0,13 abA

Para o índice de verde, medido com o clorofilômetro SPAD, foram observadas reduções significativas nas plantas sob déficit hídrico, somente na variedade RB98710 com reduções de 17% nas plantas com 24 h sem rega (Figura 2). Com o prolongamento da suspensão da rega (após 72 h) as plantas da variedade RB98710 conseguiram se recuperar e se assemelhar às controle e apenas a variedade RB72454 apresentou reduções significativas de 15%. As plantas da variedade C90-176 apresentaram o maior valor (43,6) dentre as variedades sob déficit hídrico após 72 h, além de ser aumentado significativamente

correspondendo a 125% em relação às plantas controle, indicando que esta variedade apresenta alto índice de verde, podendo ser consequência da biossíntese das clorofilas mesmo em condições de estresse. Já foi relatado que valores abaixo de 40 para essa variável, determina a sensibilidade da variedade de cana-de-açúcar à suspensão hídrica (SILVA et al., 2013), além disso, acredita-se que as variedades que mantêm a concentração dos pigmentos fotossintéticos sob condições de seca, apresentam maior capacidade para tolerar essa condição ao longo do tempo, visto que clorofilas, potencial fotossintético e produtividade estão estreitamente relacionados (SILVA, et al. 2014).

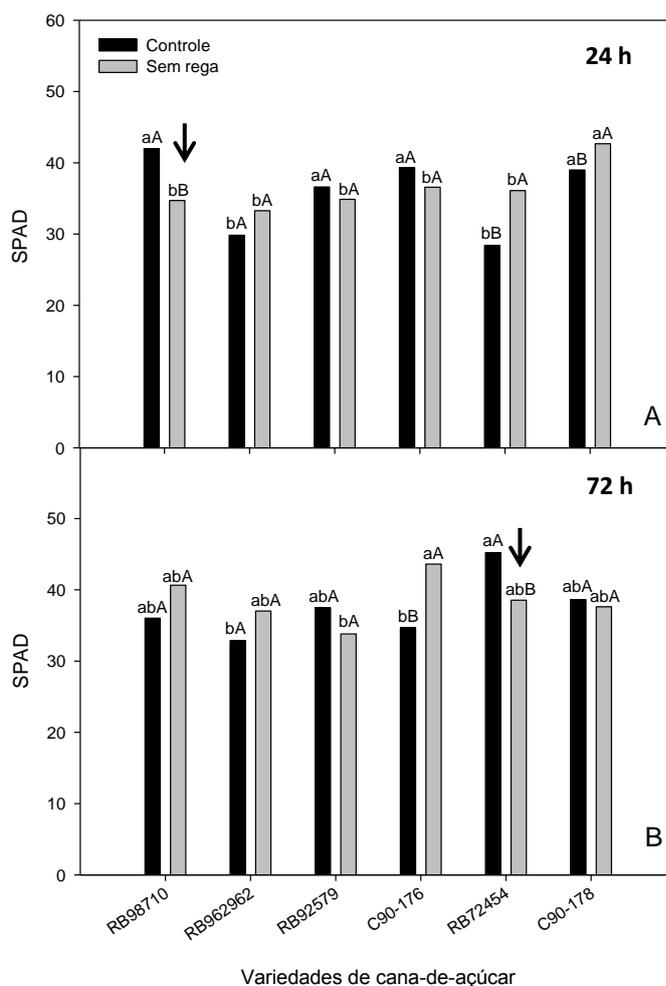


Figura 2: Índice de clorofila total pelo clorofilômetro SPAD de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.

3.3 Potencial hídrico foliar e teor relativo de água

Para as relações hídricas, conforme esperado, somente foram afetadas negativamente as plantas submetidas ao estresse hídrico, após 72 h sem rega, das variedades RB98710, RB962962 e RB72454 que reduziram seu potencial hídrico foliar nas plantas sob estresse chegando a -1,25 MPa, -1,37 MPa e -1,28 MPa respectivamente, em comparação com as plantas controle com -1,07 MPa, -1,10 MPa, -1,02 MPa, indicando que essas variedades podem ser mais sensíveis ao déficit hídrico em comparação com as outras em estudo (Figura 3A e 3B).

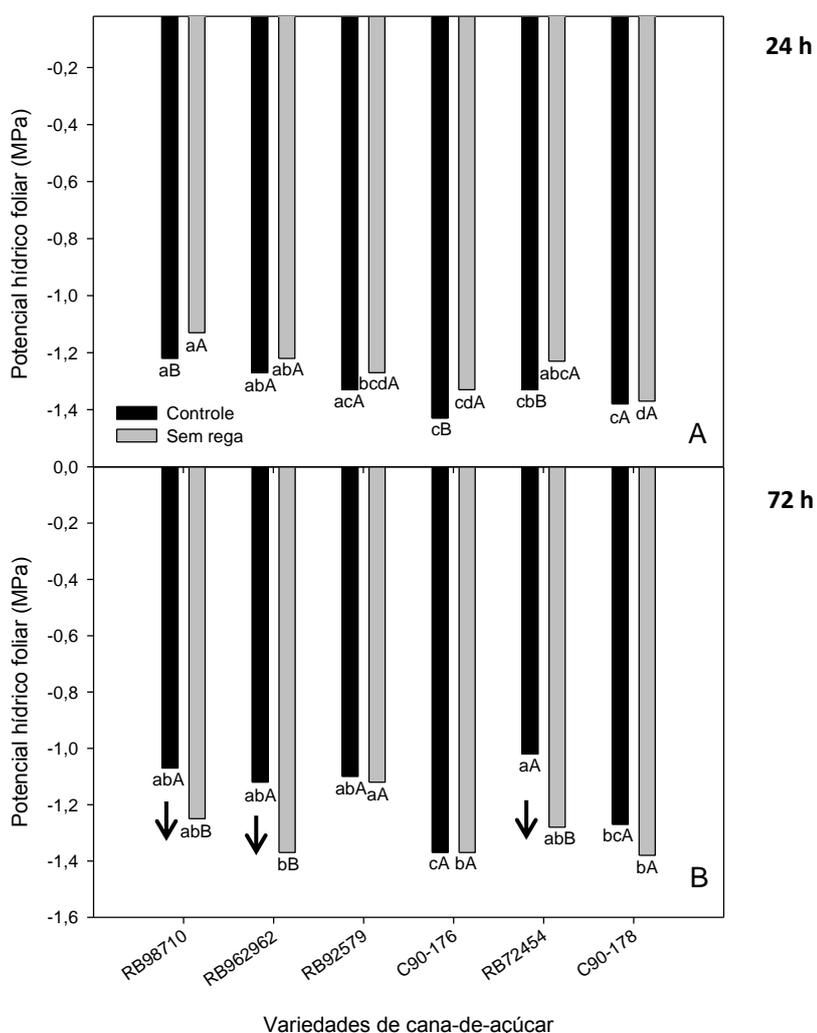


Figura 3: Potencial hídrico foliar de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.

Para o TRA somente foi observada diferença significativa nas plantas da variedade C90-178 em condições de estresse hídrico, onde as mesmas apresentaram redução significativa de 9% em relação às plantas do tratamento controle, após 72 h de estresse (Figura 4A e 4B).

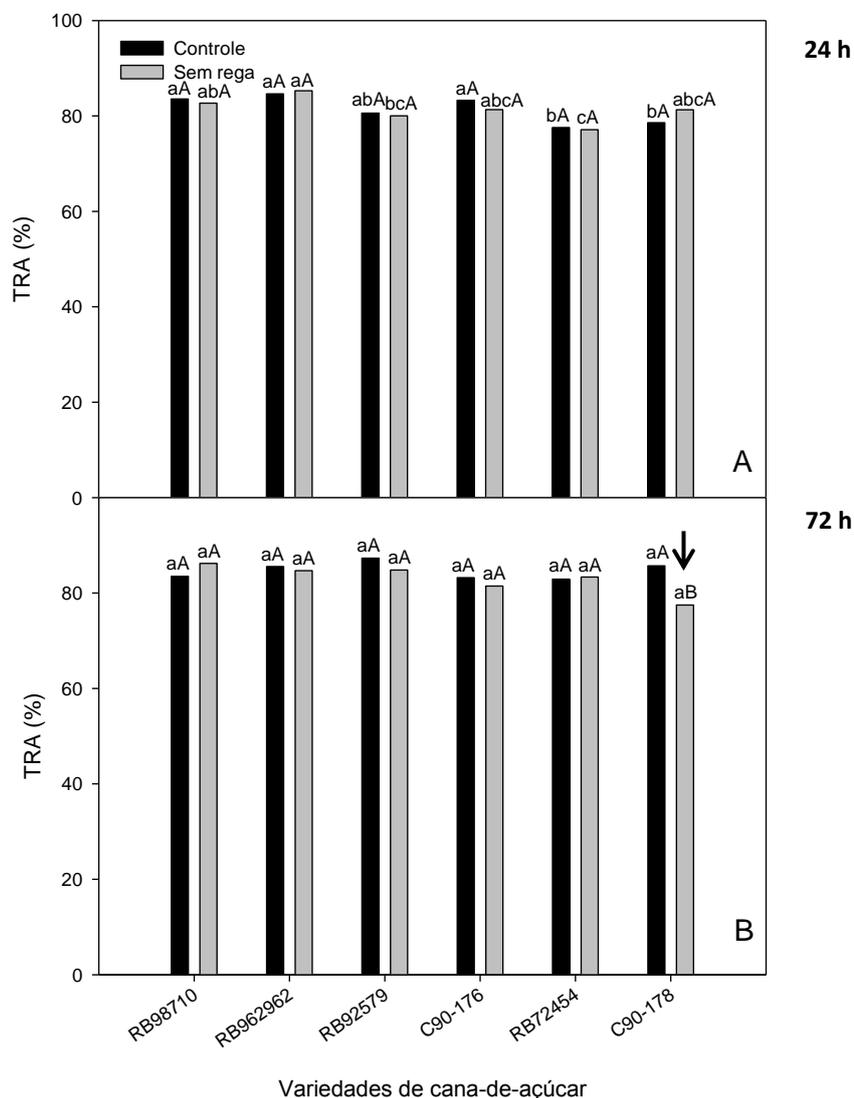


Figura 4: Teor relativo de água (TRA) de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico. A) Coleta após 24 h da suspensão de rega. B) Coleta após 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam as reduções significativas.

Segundo Silva et al. (2013) e Colom; Vazzana (2003), variedades de cana-de-açúcar que mantêm valores de TRA relativamente altos durante a escassez de água possuem forte indicativo de tolerância ao estresse, visto que, as relações hídricas, indicadas pelo potencial

hídrico foliar e o TRA, são considerados indicadores fisiológicos potenciais na seleção de cultivares de cana-de-açúcar por confirmar alta correlação com maior tolerância à deficiência hídrica em diferentes trabalhos (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; SILVA et al., 2013, ENDRES, 2010, GRAÇA et al., 2010).

Segundo SMITH; SINGELS (2006), genótipos de cana-de-açúcar mais tolerantes à seca apresentam fechamento estomático em valores de potencial hídrico foliar maiores quando comparados aos genótipos sensíveis, pensando dessa forma a variedade RB92579, se torna a mais tolerante diante as variedades estudadas, já que apresentou maiores valores do Ψ_{wf} (-1,12 MPa) nas plantas sob suspensão de rega (Figura 3B), com redução na condutância estomática (38%) após 72 h nessas mesmas plantas (Figura 1F). Além disso, os resultados ainda indicam que a variedade C90-176, novamente parece possuir mecanismos eficientes de tolerância à seca, visto que a mesma consegue manter seu TRA e *status* hídrico, confirmado pela manutenção dessas variáveis após 72 h sem rega (Figuras 3B e 4B), corroborando com os resultados encontrados para a eficiência do uso da água (Figura 1H).

3.4 Teor de carboidratos solúveis, aminoácidos livres e prolina livre

De uma forma geral, para as análises bioquímicas, foi observado um sensível acúmulo de carboidratos solúveis nas folhas após 24 h de escassez hídrica ocorrendo diferenças significativas para as variedades RB92579, RB72454 e C90-178 com aumentos que corresponderam a 141%, 153% e 163% em relação às plantas controle, respectivamente (Tabela 2). Após 72 horas de estresse, esse acúmulo continuou apenas para as plantas da variedade RB92579, além da C90-176, com acréscimos que corresponderam a 127% e 138%, em relação às plantas controle, respectivamente. Nas raízes, o teor de carboidrato somente foi afetado negativamente, após 72 h de estresse, nas plantas da variedade RB98710 submetidas a estresse hídrico, com redução de 30% em relação às plantas do tratamento controle, em contrapartida, as plantas das variedades RB72454 acumularam aproximadamente em 3x esse soluto.

Tabela 2: Análise bioquímica de folhas e raízes de seis variedades de cana-de-açúcar (RB98710, RB962962, RB92579, C90-176, RB72454, C90-178) submetidas a estresse hídrico com coletas realizadas após 24 h e 72 h da suspensão de rega. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.

Variedades de cana-de-açúcar	Carboidratos folha (mmol.g ⁻¹ MF)				Carboidratos raiz (mmol.g ⁻¹ MF)			
	24 h		72 h		24 h		72 h	
	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega
RB98710	171,24 aA	215,91 aA	241,29 abA	240,3 abA	49,23 aA	44,41 aA	41,94 aA	29,31 abB
RB962962	158,93 aA	148,58 abA	290,06 Aa	280,47 aA	53,78 aA	32,89 abcA	23,72 bcA	23,32 abA
RB92579	131,65 abB	186,81 abA	164,8 cdB	9,06 bA	23,85 bA	25,87 bcA	29,46 abA	19,81 abA
C90-176	130 abA	144,8 bA	155,72 dB	215,46 abA	23,88 bA	16,9 cA	21,74 bcA	16,39 bA
RB72454	132,22 abB	201,61 abA	221,95 bcA	208,59 bA	52,09 aA	37,52 abA	11,78 cB	32,98 aA
C90-178	85,71 bB	139,6 bA	161,16 cdA	193,09 bA	15,44 bA	17,09 cA	13,81 cA	14,92 bA
Variedades de cana-de-açúcar	Aminoácidos folha (mmol.g ⁻¹ MF)				Aminoácidos raiz (mmol.g ⁻¹ MF)			
	24 h		72 h		24 h		72 h	
	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega
RB98710	1,46 abA	1,3 abA	2,38 abA	3,3 abA	2,16 abA	1,5 abA	0,79 abB	2,14 aA
RB962962	1,34 bA	0,67 bcB	2,67 abA	3,69 aA	2,59 aA	1,06 bB	0,28 bcB	1,23 bcA
RB92579	1,8 abA	1,82 aA	2,58 abA	3,62 aA	1,52 bcA	1,37 abA	0,49 abcA	0,72 cdA
C90-176	2,27 aA	2,03 aA	2,17 abA	1,83 bA	2,26 abA	1,6 abA	0,16 cA	0,42 dA
RB72454	1,12 bcA	1,01 aA	3,77 aA	3,1 abA	0,96 cB	2,09 aA	0,91 aB	1,38 bA
C90-178	0,42 cA	0,25 cA	1,85 bB	3,55 aA	1,31 bcA	1,32 abA	0,31 bcA	0,45 dA
Variedades de cana-de-açúcar	Prolina folha (mmol.g ⁻¹ MF)				Prolina raiz (mmol.g ⁻¹ MF)			
	24 h		72 h		24 h		72 h	
	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega	Controle	Sem rega
RB98710	0,18 abA	0,13 abA	0,18 bB	0,36 aA	0,19 aA	0,15 abA	0,1 abcB	0,2 bA
RB962962	0,24 aA	0,11 bB	0,31 aA	0,3 abA	0,22 aA	0,11 bcB	0,15 aA	0,13 cA
RB92579	0,14 bcB	0,19 aA	0,26 abA	0,29 abA	0,13 bA	0,13 bcA	0,11 abA	0,11 cA
C90-176	0,18 abcA	0,16 abA	0,23 abA	0,23 bA	0,13 bB	0,19 aA	0,05 cA	0,07 cA
RB72454	0,14 bcA	0,14 abA	0,28 abA	0,32 abA	0,1 bA	0,13 bcA	0,12 abB	0,26 aA
C90-178	0,11 cA	0,15 abA	0,2 abB	0,35 abA	0,11 bA	0,09 cA	0,08 bcA	0,1 cA

O acúmulo de carboidratos, que contribuem para o crescimento em condições normais, nas plantas em condições de estresse por seca fica disponível para o crescimento seletivo das raízes ou para a síntese de solutos para ajuste osmótico (BHARGAVA; SAWANT, 2013). Com isso as plantas das variedades RB92579 e C90-176 parecem investir na síntese desse osmólito compatível, visto que as mesmas mantiveram seus valores do TRA e *status* hídrico após 72h da suspensão da rega. Já as plantas da variedade RB72454 parecem preferir a via de crescimento das raízes para a tolerância à seca, visto que se destacou dentre as outras variedades no acúmulo de carboidratos nas raízes.

Apenas a variedade C90-178 acumulou em 191% os aminoácidos solúveis totais nas folhas de plantas submetidas a 72 h de estresse hídrico (Tabela 2). Já para o acúmulo desse soluto nas raízes, as variedades RB98710 e RB962962 mostraram aumentos significativos de 271% e 439%, respectivamente, após 72 h da suspensão da rega, além da RB72454 que já apresentou acúmulo (217%) nas plantas após 24 h de estresse, em relação às controles. Esses resultados indicam que essas variedades, que aumentaram o teor de aminoácidos sob estresse hídrico, podem estar com degradação ativa de proteínas, já que o déficit hídrico pode aumentar a proteólise (FAROOQ et al., 2009). Contudo, essas variedades apresentaram os menores potenciais hídricos nas plantas sob estresse, onde se sugere que essas parecem investir na manutenção do metabolismo, devido ao acúmulo desse soluto compatível (TAIZ & ZEIGER, 2008; VERSLUES et al., 2006).

Quanto à concentração de prolina livre nas folhas, após 24 h de estresse hídrico, não foram encontradas diferenças estatísticas para a maioria das variedades, exceto para a RB962962 que sofreu redução de 54% e para RB92579 que sofreu acúmulo de 136%, ambas em condição de estresse, se comparadas às plantas do tratamento controle (Tabela 2). Da mesma forma, após 72 h de estresse, não foram encontradas variações estatísticas para a maioria das variedades, porém a RB98710 e a C90-178 apresentaram valores 100% e 75% maiores nas plantas estressadas,

respectivamente. Já para as raízes de plantas submetidas a déficit hídrico essa variável foi acumulada nas variedades C90-176 (32%), após 24 h e nas variedades RB98710 (50%) e RB72454 (54%) após 72 h de estresse por supressão hídrica. Apenas as plantas da variedade RB962962 sofreram redução na concentração desses iminoácidos nas raízes após 24 h de estresse hídrico, porém apresentou recuperação com o prolongamento do estresse, após 72 h.

O ajuste osmótico é uma das principais respostas das plantas ao déficit hídrico e está correlacionado ao grau de tolerância, quanto à prolina, esta exerce um papel bastante importante na proteção contra as espécies reativas de oxigênio (WILLADINO & CÂMARA, 2010). Portanto, as variedades RB92579 e C90-176 que acumularam esse osmólito no início do estresse por supressão hídrica, em folhas e raízes, respectivamente, parecem que apresentaram maior tolerância em relação às demais variedades estudadas, visto que essas se destacaram na maioria das respostas das plantas sob déficit hídrico.

3.5 Ficha de descritores fisiológicos das variedades de cana-de-açúcar após 24 h e 72 h da suspensão de rega para seleção promissora de tolerância à seca

Resumidamente, as trocas gasosas foram bastante afetadas nas variedades de cana-de-açúcar em estudo, principalmente nas plantas após 72 h de estresse por suspensão de rega, exceto na variedade C90-176, embora tenha apresentado os menores valores médios das variáveis analisadas em comparação as demais variedades. Já as plantas das variedades RB98710, RB962962 e RB72454 foram as mais afetadas, visto que apresentaram reduções na fotossíntese logo após 24 h de indisponibilidade de água no solo (Figura 5).

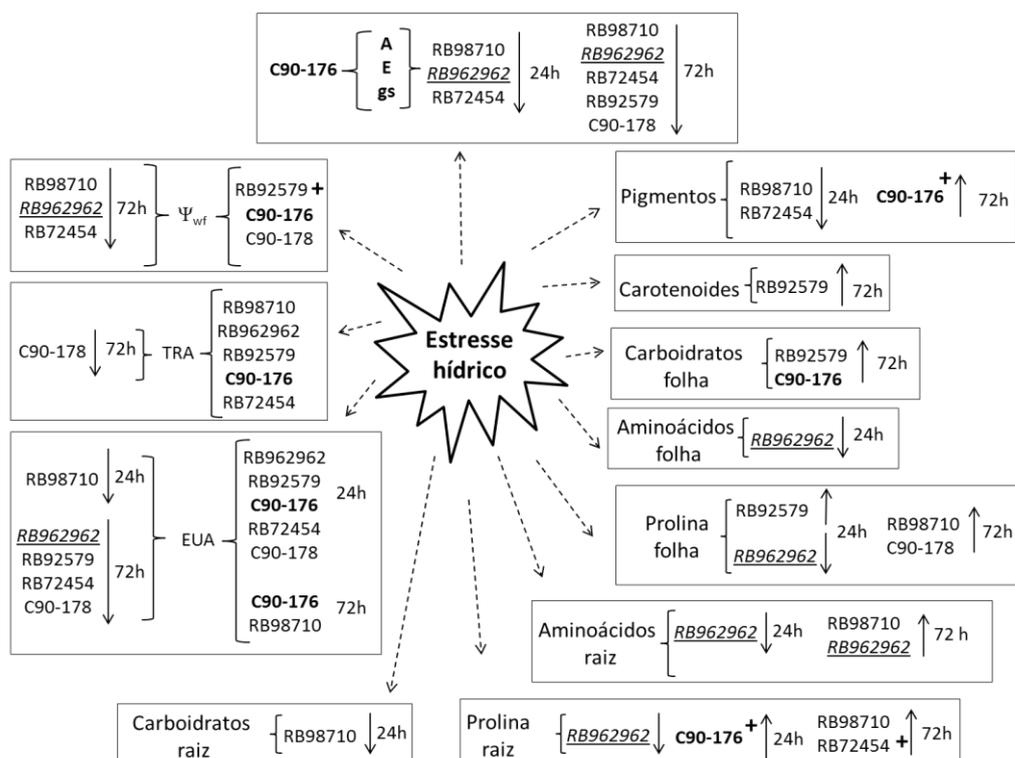


Figura 5: Ficha de descritores fisiológicos das respostas de seis variedades de cana-de-açúcar, após 24 h e 72 h da suspensão de rega, cultivadas em casa de vegetação. Setas cheias para baixo representam reduções significativas; Setas cheias para cima representam aumentos significativos; + maior valor dentre as variedades em estudo; Fonte em negrito representa tolerância e em itálico e sublinhado a sensibilidade à seca.

Nas relações hídricas, as variedades RB92579 e C90-176 se destacaram por manter seu *status* hídrico e conteúdo relativo de água mesmo nas plantas sob estresse hídrico, além disso, a variedade RB92579 apresentou maior valor médio do potencial hídrico foliar em relação às demais variedades em estudo (Figura 5).

Quanto ao teor de dos pigmentos fotossintéticos pelo método destrutivo ou não, as variedades RB98710 e RB72454 sofreram reduções significativas podendo ser ocasionadas por degradação desses pigmentos na fase inicial do estresse, após 24 h, resultado esse que pode ter provocado redução significativa na fotossíntese líquida nessa mesma avaliação. Já a variedade RB92579 se destacou por acumular carotenoides após 72 h de supressão hídrica indicando o investimento em fotoproteção, portanto, quedas na fotossíntese podem ser atribuídas ao fechamento estomático para manutenção do *status* e conteúdo hídrico da planta mesmo em condições de estresse (Figura 5).

Uma das variedades mais afetadas, em relação aos solutos compatíveis, foi a RB98710, por reduzir o teor de carboidratos nas raízes não promovendo assim seu crescimento em busca de solos com água disponível para absorção, e com o acúmulo na concentração de aminoácidos também nas raízes, após 72 h de estresse, sugerindo o aumento da proteólise. A variedade RB962962, além de apresentar o mesmo comportamento em relação ao acúmulo de aminoácidos, ainda reduziu inicialmente o teor de prolina nas folhas e raízes de plantas sob estresse, que pareceu atribuir tolerância às plantas da variedade C90-176 que se destacou nas respostas das variáveis realizadas nesse trabalho em comparação com as demais nesse estudo (Figura 5).

4. CONCLUSÕES

A variedade C90-176 se mostrou mais tolerante ao déficit hídrico, pela mesma não afetar suas trocas gasosas e relações hídricas e por utilizar a água de forma eficiente nas plantas sob estresse. Além de apresentar acúmulos no teor de carboidratos nas folhas após 72 h de supressão hídrica, sugerindo que esta variedade continua investindo em crescimento ou reserva de fotoassimilados para uma maior exposição ao estresse, e ainda por apresentar acúmulo de prolina nas raízes na fase inicial ao estresse, após 24 h, protegendo as plantas contra danos ocasionados por estresse oxidativo secundário.

A variedade RB962962 foi considerada a mais sensível ao déficit hídrico por reduzir as trocas gasosas logo no início do estresse, além de apresentar redução no potencial hídrico foliar após 72 h e assim não conseguir usar a água de forma eficiente. Em adição, o único acúmulo no teor dos solutos compatíveis foi de aminoácidos nas raízes de plantas em condições de estresse, indicando o aumento da proteólise, porém o resultado mais evidenciado de suscetibilidade a supressão hídrica pode ter sido atribuído à redução do teor de prolina nas folhas e raízes, após 24 h de

suspensão da rega, podendo levar as plantas a um dano oxidativo numa maior exposição ao estresse.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao CNPq pelo apoio financeiro e a Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina pelo material vegetal e solo cedidos.

6. REFERÊNCIAS

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short Barrs HD, Weatherley PE (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Science* 15:413-428.

Bates LS (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207.

Bhargava S, Sawant K (2013) Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breeding* 132:21–32.

Bray E A, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000) Responses to abiotic stress. In: Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiology, 158-1203.

Colom MR, Vazzana C (2003) Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany* 49:135-144.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-açúcar safra 2014/2015. Primeiro levantamento. Brasília: Conab, 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/cana.pdf>> Acesso em: 27.jul. 2014.

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.

Easterling W, Aggarwal P, Batima P, Brander K, Erda L, Howden M, Kirilenko A, Morton J, Soussana J-F, Schmidhuber S & Tubiello F (2007) Food, fibre and forest products. In: *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Parry ML, Canziani OF, Palutikof JP, van der Linden PJ & Hanson CE. Eds. Cambridge University Press, pp. 273-313.

Endres L, Silva JV, Ferreira VM, Barbosa GVS (2010) Photosynthesis and water relations in Brazilian sugarcane. *The Open Agriculture Journal*, Bussum 4:31-37.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra S.M.A (2009) *Plant drought stress: effects, mechanisms and management*. Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag 29:185-212.

Ghannoum O (2009) C4 photosynthesis and water stress. *Annals of Botany* 103:635-644.

Gonçalves ER, Ferreira VM, Silva JV, Endres L, Barbosa TP, Duarte WG (2010) Gas exchange and chlorophyll a fluorescence of sugarcane varieties submitted to water stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 14:378-386.

Graça JP, Godrigues FA, Farias JRB, Oliveira MCN, Hoffmann-Campo CB, Zingaretti SM (2010) Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 22:189-197.

Inman-Bamber NG, Smith DM (2005) Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research* 92:185-202.

Lichtenthaler HK, Buschmann C (2001) Chlorophylls and carotenoids – Measurement and characterisation by UV-VIS. In: *Current protocols in food analytical chemistry*. Madison: John Wiley & Sons. F4.3.1–F4.3.8.

Machado RS, Ribeiro RV, Marchiori PER, Machado DFSP; Machado EC, Landell, MGA (2009) Biometric and physiological responses to water stress in sugarcane in different phenological phases. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44:1575-1582.

Medeiros, D. B.; Silva E.C.; Nogueira R.J.M.C. Teixeira M.M.; Buckeridge M.S. (2013) Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25: 213-222.

Nogueira RJMC, Silva EC, Silva MA, Santos HRB, Pacheco CM, Teixeira MM, Simões Neto DE (2008) Use of physiological indicators to assess drought tolerance in sugarcane in the initial state of development: water relations and stomatal behavior. *Congresso Nacional da STAB* 9:692-698.

NOVACANA. Novacana.com. 2015. Disponível em: <http://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/vez-biotecnologia-biomassa-240915/>. Acesso em: 03. Nov. 2015.

Pacheco CM, Pestana-Calsa MC, Gozzo FC, Nogueira RJMC, Menossi M, Calsa T Jr. (2013) Differentially delayed root proteome responses to salt stress in sugar cane varieties. *Journal of Proteome Research* 12:5681–5695.

Pincelli RP, SILVA MA (2012) Leaf morphological changes in sugarcane cultivars in response to water stress. *Bioscience Journal* 28:546-556.

Rodrigues FA, Laia ML, Zingaretti SM (2009) Analysis of gene expression profiles under water stress in tolerant and sensitive sugarcane plants. *Plant Science* 176:286-302.

Sales CRG, Ribeiro RV, Machado DFSP, Machado RS, Dóvis VL, Lagôa AMMA (2012) Gas exchange and balance of carbohydrates in sugarcane plants under conditions of root stress. *Bragantia* 71:319-327.

Santos JR, Oliveira Jr LFG, Sousa JPS, Silva Junior CD, Sarmiento CR (2014) Performance of promising sugar cane genotypes using physiological and biometrical tools. *Bioscience Journal* 30:380-389.

Silva, FAS Azevedo, CAV (2002) Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. Campina Grande, 4: 71-78.

Scholander PF, Hammel HT, Hemingsen EA, Bradstreet ED (1964) Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceeding of the National Academy of Science* 52:119-125.

Silva MA, Silva MA, Jifonll JL, Santos CM, Jadoski CJ, Silva JAG (2013a) Photosynthetic Capacity and Water Use Efficiency in Sugarcane Genotypes Subject to Water Deficit During Early Growth Phase. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 56:735-748.

Silva MA, Santos CM, Arantes MT, Brunelli MC, Holanda LA (2013b) Physiological responses of sugarcane cultivars submitted to water stress and rehydration. *Revista Caatinga* 26:28-35.

Silva MA, Santos CM, Vitorino HS, Rhein AFL (2014a) Photosynthetic pigments and SPAD index as descriptors of water deficit stress intensity in sugar cane. *Bioscience Journal* 30:173-181.

Silva MA, Jifon JL, SILVA JAG, Santos CM, SHARMA V (2014b) Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. *The Journal of Agricultural Science* 152:104-118.

Smit M A, Singels A (2006) The response of sugarcane canopy development to water stress. *Field Crops Research* 98:91-97.

Souza CC, Oliveira FA, Silva IF, Amorim Neto MS (2000) Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in 'terra roxa' under cotton crop. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 4:338-342.

Taiz L, Zeiger E (2009) *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: E.Atmed, 819 p.

Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu J, Zhu JK (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal* 45:523-539.

Vianello R L, Alves AR (1991) *Meteorologia básica e aplicações*. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 449 p.

Vinocur B, ALTMAN A (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion Biotechnology, Review* 16:123-132.

Willadino L, Camara TR (2010) Plant tolerance to salinity: physiological and biochemical aspects. *Enciclopédia Biosfera* 6:1-23.

Yemm EW, Cocking EC (1955) The determination of aminoacids by ninhydrin. *Analyst* 80:209-213.

Yordanov I, Velikova V, Tsonev T (2003) Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, special issue*, p.187-206.

CAPÍTULO III

SELEÇÃO DE VARIEDADES PROMISSORAS DE CANA-DE- AÇÚCAR PARA O CULTIVO NO CAMPO EM REGIME DE SEQUEIRO

Artigo a ser submetido para a revista Field Crops Research

Seleção de variedades promissoras de cana-de-açúcar para o cultivo no campo em regime de sequeiro

Cinthy Mirella Pacheco^{1*}, Cibele Alves dos Santos², Natalia Vaz da Silva³, Elaine Cristina Alves da Silva⁴, Djalma Euzébio Simões Neto⁵, Rejane J. Mansur C. Nogueira⁶

¹Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. cinthya.m.pacheco@gmail.com

²Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. cibealves.ufrpe@gmail.com

³Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. natavs08@gmail.com

⁴Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.elaineufrpe@oi.com.br

⁵Estação Experimental de cana-de-açúcar do Carpina, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. desn@oi.com.br

⁶Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. rjmansur1@gmail.com

*corresponding author: cinthya.m.pacheco@gmail.com

Seleção de variedades promissoras de cana-de-açúcar para o cultivo no campo regime de sequeiro

Resumo - Devido à importância econômica da cultura de cana-de-açúcar para o Brasil, e uma vez que a maior parte do seu cultivo ocorre em regime de sequeiro o objetivo desse trabalho foi selecionar variedades promissoras para o déficit hídrico com base em parâmetros fisiológicos, bioquímicos e de produtividade. Para tal, foi realizado um experimento em condições de campo, com oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176), cultivadas em condições de irrigação de salvamento e de sequeiro. Foram realizadas coletas para as análises fisiológicas e bioquímicas aos 3, 6 e 10 meses após o plantio, além da coleta para a produtividade, aos 11 meses. De uma forma geral, as variáveis de crescimento, trocas gasosas e relações hídricas foram afetadas na maioria das variedades cultivadas no regime de sequeiro, principalmente aos 3 e 10 meses, devido ao período de chuvas. Com o acúmulo de aminoácidos e prolina, foi observado um possível ajustamento osmótico das variedades RB92579, RB867515, RB962962 e RB972631, que atrelado ao fechamento parcial dos estômatos, indicou a variedade RB92579 como a mais tolerante a seca, visto que mesmo com todas as variedades apresentando redução em sua produtividade, essa variedade apresentou menor redução (20%) em comparação a RB972631 que não apresentou fechamento estomático e reduziu a sua produtividade em 38%, sendo considerada, portanto, a mais sensível. O contraste das respostas ao cultivo de sequeiro apresentado nas duas variedades indicadas como tolerante e sensível à seca é bastante promissor para auxiliar nos programas de melhoramento genético e pode contribuir para a identificação de genótipos adaptados à seca com alto potencial para recomendação em cultivos regionais.

Palavras-chave: biocombustível; ajustamento osmótico; fechamento estomático; produtividade; tolerância à seca;

Abstract - Due to the economic importance of sugarcane crop in Brazil, and since most of the cultivation occurs in upland regime the objective of this work was to select promising varieties to water stress based on physiological parameters, Biochemical and productivity. To do this, an experiment was conducted under field conditions, with eight varieties (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 and C90-176), grown in conditions of rescue and rainfed irrigation. Samples were collected for the physiological and biochemical analyzes at 3, 6 and 10 months after planting, in addition to collection for productivity, to 11 months. In general, the growth variables, gas exchange and water relations were affected in most varieties grown in rainfed conditions, especially at 3 and 10 months, due to the rainy season. With the accumulation of amino acids and proline, it was observed a possible osmotic adjustment of RB92579 varieties, RB867515, RB962962 and RB972631 that linked to the partial closing of the stomata indicated RB92579 variety as the most tolerant to drought, since even with all varieties been declining in productivity, this variety showed lower reduction (20%) compared to RB972631 that did not show stomatal closure and reduced their productivity by 38% and is considered, therefore, the most sensitive. The contrast of the responses to dryland farming presented in two varieties indicated as tolerant and sensitive to drought is promising to assist in breeding programs and may contribute to the identification of genotypes adapted to drought recommended for regional crops.

Key-words: biofuel; drought; osmotic adjustment; stomatal closure; productivity; tolerance;

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial dos derivados de cana-de-açúcar (açúcar e etanol), seguido da Índia e da China. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2014), 9.004,5 milhões de hectares (safra 2014/2015) do território brasileiro foram destinados ao cultivo da mesma, tendo como principal destino o setor sucroalcooleiro (CONAB, 2014; JADOSKI et al., 2010).

A crescente demanda mundial por biocombustíveis faz favorecer a expansão do setor canavieiro, exigindo maior produtividade da cultura (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2010). O aumento da preocupação com a disponibilidade e preço dos combustíveis fósseis, as inquietações com o meio-ambiente e o aquecimento global têm tornado o etanol uma alternativa de combustível renovável.

A necessidade de aumentar a produtividade do cultivo da cana-de-açúcar representa um grande desafio, principalmente para os programas de melhoramento genético, já que para atender a demanda é imprescindível a obtenção de variedades produtivas e adaptadas aos diversos problemas ambientais (WACLAWOVSKY et al., 2010).

Em muitas partes do mundo, o rendimento da safra é limitado pela escassez de água e o potencial de produção de plantas cultivadas pode ser reduzido em até 70% (ZINGARETTI et al., 2012), provocando um impacto negativo sobre o crescimento e desenvolvimento da cultura, comprometendo a sua produtividade, especialmente, se a duração do tempo de exposição à seca for maior que a capacidade da cultura em tolerá-lo (INMAN-BAMBER, 2004; SMIT; SINGLES, 2006).

As plantas, em geral, desenvolveram diferentes mecanismos para reduzir seu consumo de água e ajustar o seu crescimento para se adaptar a condições de déficit hídrico. Além dos processos fisiológicos, vários processos bioquímicos e moleculares, em nível celular ou de planta inteira, também são alterados em resposta à seca. Os processos fisiológicos geralmente alterados pelo estresse hídrico são a captura de radiação solar, temperatura foliar, condutância estomática, transpiração, transporte de

elétrons e concentração dos pigmentos fotossintéticos que acabam por determinar o rendimento de uma cultura (SILVA et al., 2007).

Na cana-de-açúcar, o déficit hídrico na fase inicial de seu desenvolvimento afeta o seu rendimento, reduzindo algumas variáveis como a produção de perfilhos; número, altura, diâmetro e peso individual dos colmos industrializáveis; área foliar e altura da planta, além de acelerar a senescência foliar (ROBERTSON et al., 1999; RAO; KUMAR; REDDY, 2005; GONÇALVES et al., 2010; INMAN-BAMBER, 2004). A redução no potencial de água no solo afeta tanto a divisão celular quanto o alongamento celular (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; GONÇALVES et al., 2010).

Outras características fisiológicas verificadas em cana-de-açúcar é o enrolamento foliar, aumento na densidade estomática (PINCELLI; SILVA, 2012), redução na condutância estomática, na máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II, conteúdo de clorofila *a*, além de reduções nas relações hídricas (NOGUEIRA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2013). Sabe-se que os efeitos do estresse abiótico não variam apenas entre espécies, mas também há diferenças de respostas fisiológicas entre genótipos (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000) e em cana-de-açúcar já é sabido que há grande variação genotípica (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005).

Genótipos que diferem na tolerância à seca são importantes para o estudo de respostas ao estresse hídrico em culturas. No Brasil, as variedades RB (RIDESA Brasil – Rede Interuniversitária de Desenvolvimento para o setor sucroalcooleiro) respondem por cerca de 60% de área de plantio, e a exploração da variação genética para respostas relacionadas com a seca nessas variedades resulta em um melhor desempenho da cana-de-açúcar para o país (BHARGAVA; SAWANT, 2013; NOVACANA, 2015).

A avaliação de parâmetros fisiológicos podem indicar os genótipos tolerantes e sensíveis ao estresse abiótico, pois fornecem informações sobre os mecanismos envolvidos na tolerância à seca, além de mostrar a estratégia útil para tal tolerância. Assim, o objetivo desse trabalho foi selecionar variedades de cana-de-açúcar

promissoras para o cultivo em regime de sequeiro com base em parâmetros fisiológicos, bioquímicos e de produtividade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Plantio e condições experimentais

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina da Universidade Federal Rural de Pernambuco (EECAC/UFRPE) localizada no município de Carpina a 56 km de Recife (7°51'04" de Latitude Sul e 35°14'27" de Longitude Oeste e altitude de 178 m), numa área de 500 m².

De posse dos resultados da análise química do solo foram aplicados 1,5 T de calagem por hectare, a fim de corrigi-lo. Após 30 dias da incorporação da calagem no solo, foi realizada a marcação com trena e estacas de madeira, dos dois campos experimentais, irrigado e sequeiro. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, compostos por oito parcelas. Cada parcela continha cinco linhas com 8 m de comprimento, espaçadas por 1,10 m, totalizando quatro repetições por campo experimental.

Foi realizado o plantio de oito variedades, onde sete dessas foram da RIDESA BRASIL - RB (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504 e RB992506) e uma variedade cubana (C90-176), essa última por apresentar maior produção de biomassa e resistência às principais doenças que atacam a cultura. As variedades foram cultivadas em condições de irrigação de salvamento (com bomba) e de sequeiro (com uma irrigação inicial, somente para garantir a semeadura), para isso foram separadas em dois campos experimentais, por um plantio de variedades comerciais, com 15 m de comprimento.

Foram realizadas coletas de amostras para as análises fisiológicas e bioquímicas, das variedades de cana-de-açúcar, com 3, 6 e 10 meses após o plantio em ambas as

condições experimentais, nas folhas +1 de três plantas das três linhas centrais de cada parcela, totalizando em 12 repetições.

A precipitação mensal foi calculada pela soma da precipitação diária, onde foram obtidos os valores de 34,4 mm, 109,0 mm e 44,6 mm aos 3, 6 e 10 meses de plantio, respectivamente.

2.2 Análises fisiológicas

2.2.1 Análises biométricas de crescimento

O diâmetro do colmo foi medido no terceiro nó (de baixo para cima) com um paquímetro digital e altura da planta com trena, do terceiro nó até a folha +1. O número de folhas e de nós foram contados manualmente de baixo para cima, sendo que, para as folhas, foram consideradas para a contagem aquelas completamente expandidas e que apresentavam mais de 10% de área verde. A área foliar foi estimada através de medidas, com trena, do comprimento e largura da folha +3, segundo metodologia de Hermann e Câmara (1999).

2.2.2 Avaliação das trocas gasosas

As trocas gasosas foram medidas entre 10-13 horas, horário definido por um curso diário realizado anteriormente (dados não mostrados), com um analisador portátil de CO₂ a infravermelho (IRGA), ADC, modelo Lci (Hoddesdon, UK). Foram avaliadas a taxa de fotossíntese líquida (A), a transpiração (E) e a condutância estomática (gs). De posse dos valores de A e E, foi calculada a eficiência do uso da água, definida pela razão A/E.

2.2.3 Avaliação das relações hídricas

As folhas foram destacadas, envolvidas em filme plástico e armazenadas em recipiente refrigerado para a determinação do potencial hídrico foliar (Ψ_w), utilizando-se a câmara de pressão de Scholander, em concordância com Scholander et al., (1965). O Teor Relativo de Água (TRA) foi determinado nas mesmas folhas utilizadas para a determinação das concentrações dos pigmentos fotossintéticos onde foram

retiradas seis amostras de área conhecida (1 cm x 0,5 cm) do limbo foliar sem a nervura central para a obtenção dos pesos da matéria fresca (PF), túrgida (PT) e seca (PS). De posse desses dados, o TRA foi calculado utilizando-se a fórmula descrita em Barrs e Weatherley (1962), como segue: $TRA = (PF-PS)/(PT-PS) \times 100$.

2.2.4 Medições dos pigmentos fotossintéticos

O teor de clorofila total das folhas foi estimado por um aparelho portátil, SPAD-502 (Minolta, Japão), onde foram realizadas dez leituras nas folhas +1. Em adição, foram determinadas as concentrações dos pigmentos fotossintéticos, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides, pelo método destrutivo, utilizando 0,1 g de matéria fresca do limbo foliar, seguindo a metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001).

2.2.5 Determinação dos solutos orgânicos

Para as análises bioquímicas, foram coletados aproximadamente 1 g de matéria fresca do limbo foliar, que foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente conservados em ultrafreezer a -80 °C. Para o preparo dos extratos, as amostras foram maceradas com nitrogênio líquido com solução tampão de fosfato de potássio a 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. Os carboidratos solúveis foram determinados pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), os aminoácidos solúveis totais foram analisados pelo método da ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), o conteúdo de prolina livre foi avaliado pelo método da ninhidrina ácida (BATES, 1973) e as proteínas solúveis totais foram determinadas segundo BRADFORD (1986).

2.2.6 Produtividade de colmos

A produtividade de colmos, expressa em tonelada de colmos por hectare (TCH), foi calculada por meio da massa, em kg, dos colmos das plantas da área útil das parcelas, em m², com o auxílio de uma balança.

2.3 Análise estatística

Os dados fisiológicos e bioquímicos obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade, em arranjo fatorial 8 x 2 (variedades de cana-de-açúcar x condições experimentais) utilizando o programa estatístico Assistat 7.7 Beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises biométricas de crescimento

Todas as variedades cultivadas no campo de sequeiro apresentaram reduções significativas na altura da planta em comparação com as variedades cultivadas no campo irrigado nas três épocas de avaliação (Figura 1A, 1B e 1C). Aos 10 meses as plantas do campo sequeiro das variedades RB867515 e RB992506 apresentaram a menor redução significativa (9%) e as plantas da variedade RB962962 apresentaram a maior redução (23%), denotando maior sensibilidade para essa variável. As plantas da variedade RB002504 apresentaram as menores alturas, com 27 cm, 132 cm e 239 cm aos 3, 6 e 10 meses de cultivo no sequeiro, respectivamente.

O regime de sequeiro, em geral, não influenciou no diâmetro do colmo das plantas das variedades estudadas e na última avaliação, todas elas igualaram seus valores com as plantas das variedades cultivadas no regime irrigado (Figura 1D, 1E e 1F). No entanto, as plantas da variedade C90-176 apresentaram o menor diâmetro do colmo (21 mm) e a RB867515 e RB972631 os maiores diâmetro, com 30 mm, nas plantas cultivadas em sequeiro.

A área foliar foi reduzida nas plantas do campo sequeiro, com variação de 40% a 62% aos 3 meses de cultivo e de 13% a 37% aos 6 meses, porém aos 10 meses, somente as plantas da variedade RB002504 reduziram significativamente em 9% em comparação com as plantas do campo irrigado (Figura 1G, 1H e 1I). Semelhante ao observado para o diâmetro do colmo, esse resultado mostra que as plantas cultivadas

no regime de sequeiro recuperaram sua área foliar, a fim de continuar com fotossíntese ativa. Assim como no diâmetro do colmo, as plantas da variedade C90-176 apresentaram menor área foliar (377 cm^2) e a variedade RB972631 a maior, com 734 cm^2 , após 10 meses de cultivo no sequeiro.

Quanto ao número de folhas, aos 3 e 6 meses de avaliação, as plantas das variedades RB972631 e RB002504 no regime de sequeiro apresentaram reduções significativas em relação às plantas do regime irrigado (Figura 1J e 1L). No entanto, aos 10 meses, todas as variedades cultivadas no campo sequeiro apresentaram reduções significativas que variaram de 15% a 27% (Figura 1M). O número de nós foi bastante reduzido nas plantas de todas as variedades submetidas ao regime de sequeiro aos 6 meses de cultivo, porém aos 10 meses, a maioria das variedades se igualaram as plantas do regime irrigado, onde foram observadas diferenças estatísticas apenas nas variedades RB962962 com redução de 13% (Figura 1N e 1O).

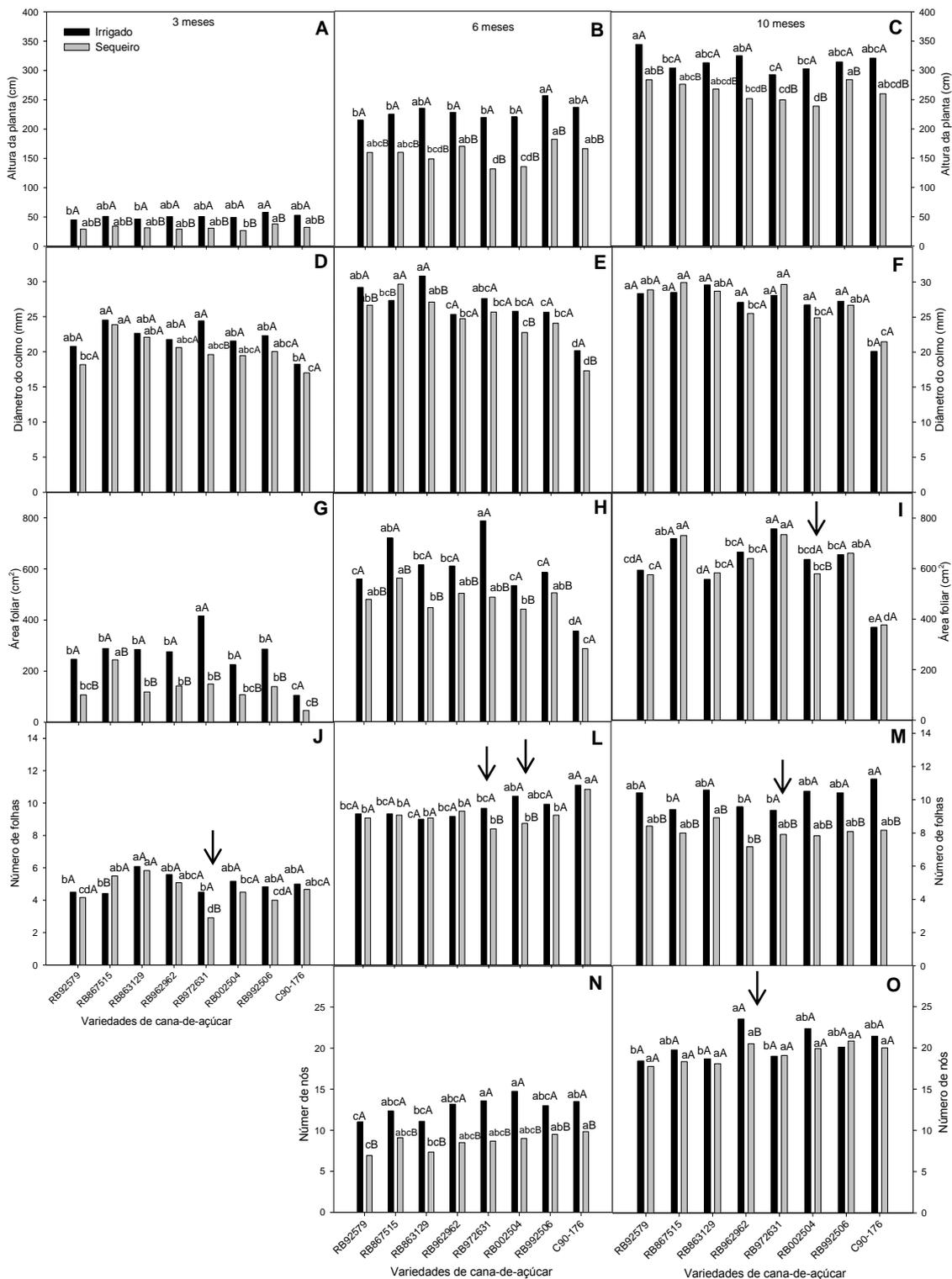


Figura 1: Análise biométrica do crescimento de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A, B e C) Altura da planta (cm) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; D, E, e F) Diâmetro do colmo (mm) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; G, H e I) Área foliar (cm²) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; J, L e M) Número de folhas após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; N e O) Número de nós (após 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas indicam reduções significativas.

O crescimento celular é um dos processos fisiológicos mais sensível à seca, devido à redução na pressão de turgescência (FAROOQ et al., 2009). Segundo Machado et al. (2009), as alterações morfofisiológicas no crescimento, são para evitar os efeitos negativos da deficiência hídrica, e estudos realizados com variedades de cana-de-açúcar apontam reduções significativas na produção de fitomassa (DANTAS NETO et al., 2006, SILVA et al., 2008; ABREU et al., 2013). Silva et al. (2008) descrevem que a variação na altura da planta é um indicativo de tolerância ou sensibilidade da cana-de-açúcar ao déficit hídrico, e, se a senescência foliar for responsiva ao estresse hídrico em diferentes genótipos de cana-de-açúcar também pode ser usado como indicador de tolerância (INMAN-BAMBER, 2004; SMIT; SINGELS, 2006). Wahid (2004) acrescenta que em condições de estresse hídrico, genótipos sensíveis seriam mais prejudicados por maior redução do número de folhas e sua área foliar.

Como todas as variedades em estudo reduziram sua altura sob seca, aos 3, 6 e 10 meses de cultivo, essa variável não seria indicativa de tolerância. O número de folhas também foi reduzido em todas as variedades aos 10 meses de cultivo sob seca, somente a RB972631 apresentou redução nas três avaliações. Para a área foliar, a maioria das variedades se recuperou e se igualou estatisticamente às plantas do regime irrigado aos 10 meses de cultivo. Dentre as variedades estudadas, portanto, a RB867515 apresentou-se mais destacada na falta de irrigação devido a menor redução na altura das plantas, maior valor de diâmetro do colmo e área foliar, mesmo cultivada após 10 meses em regime de sequeiro.

3.2 Trocas gasosas

Com relação à fotossíntese líquida, houve redução significativa na maioria das variedades cultivadas no campo de sequeiro em relação às plantas do campo irrigado, aos 3 meses de seca, com maior redução (72%) observada na variedade C90-176 (Figura 2A). Ao contrário da avaliação anterior, aos 6 meses de seca, somente as

variedades RB92579 e RB972631 reduziram em 13% e 11%, respectivamente, nas plantas sob sequeiro (Figura 2B). Aos 10 meses, a fotossíntese foi reduzida em seis das oito variedades em estudo, não havendo diferenças estatísticas entre as plantas do sequeiro e irrigado nas variedades RB972631 e RB002504 e com maior redução observada novamente na variedade C90-176 (64%) (Figura 2C). Essa variedade, além de apresentar maiores reduções nas plantas sob o regime de sequeiro, também mostrou as menores médias ($5,15 \pm 1,4 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $14,39 \pm 0,91 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ e $5,25 \pm 1,18 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) quando comparadas às outras variedades, nas três épocas de avaliação, respectivamente.

As plantas sob seca de todas as variedades em estudo apresentaram reduções significativas na transpiração em relação às plantas cultivadas no campo irrigado, após 3 meses de cultivo (Figura 2D). Já aos 6 meses, não foram observadas diferenças estatísticas das plantas de sequeiro, para a maioria das variedades, exceto para as plantas da RB002504 e RB992506 que aumentaram a transpiração em 50% e 21% (Figura 2E). Aos dez meses de cultivo, as plantas da variedade RB972631 também aumentaram a transpiração em 41% em regime de sequeiro e a variedade C90-176 apresentou a maior redução significativa (49%) (Figura 2F), além de menor valor nessa variável, assim como observado na fotossíntese (Figura 2C).

Reduções significativas que variaram de 23% a 70% também foram observadas na condutância estomática em plantas sob regime de sequeiro em relação às plantas do regime irrigado, e somente a variedade RB863129 não diferiu estatisticamente aos 3 meses de cultivo (Figura 2G). Aos 6 meses, somente a variedade RB867515 apresentou aumento significativo de 40% nas plantas sob sequeiro, as demais variedades não apresentaram diferenças estatísticas (Figura 2H). Aos 10 meses de cultivo, apenas a variedade RB972631 não apresentou diferença estatística, enquanto as demais apresentaram reduções que variaram de 32% a 69%, com a maior redução observada na variedade C90-176, que novamente apresentou os menores valores

médios pra essa variável dentre as variedades estudadas em todas as épocas de avaliação (Figura 2I).

Quanto à eficiência do uso da água, apenas as plantas da variedade C90-176 apresentaram maior redução (5,4), aos 3 meses de cultivo sob sequeiro, em comparação com as plantas irrigadas (9,4) (Figura 2J). Já as variedades RB92579 e RB002504 apresentaram maior redução (25% e 37%) aos 6 meses de cultivo sob seca (Figura 2L), no entanto aos 10 meses essa última variedade juntamente com a RB867515, foram às únicas que não apresentaram diferenças estatísticas (Figura 2M). As demais variedades apresentaram reduções significativas, com o maior percentual (44%) observado na variedade RB863129, indicando que essas variedades não conseguem usar a água de forma eficiente em regime de sequeiro.

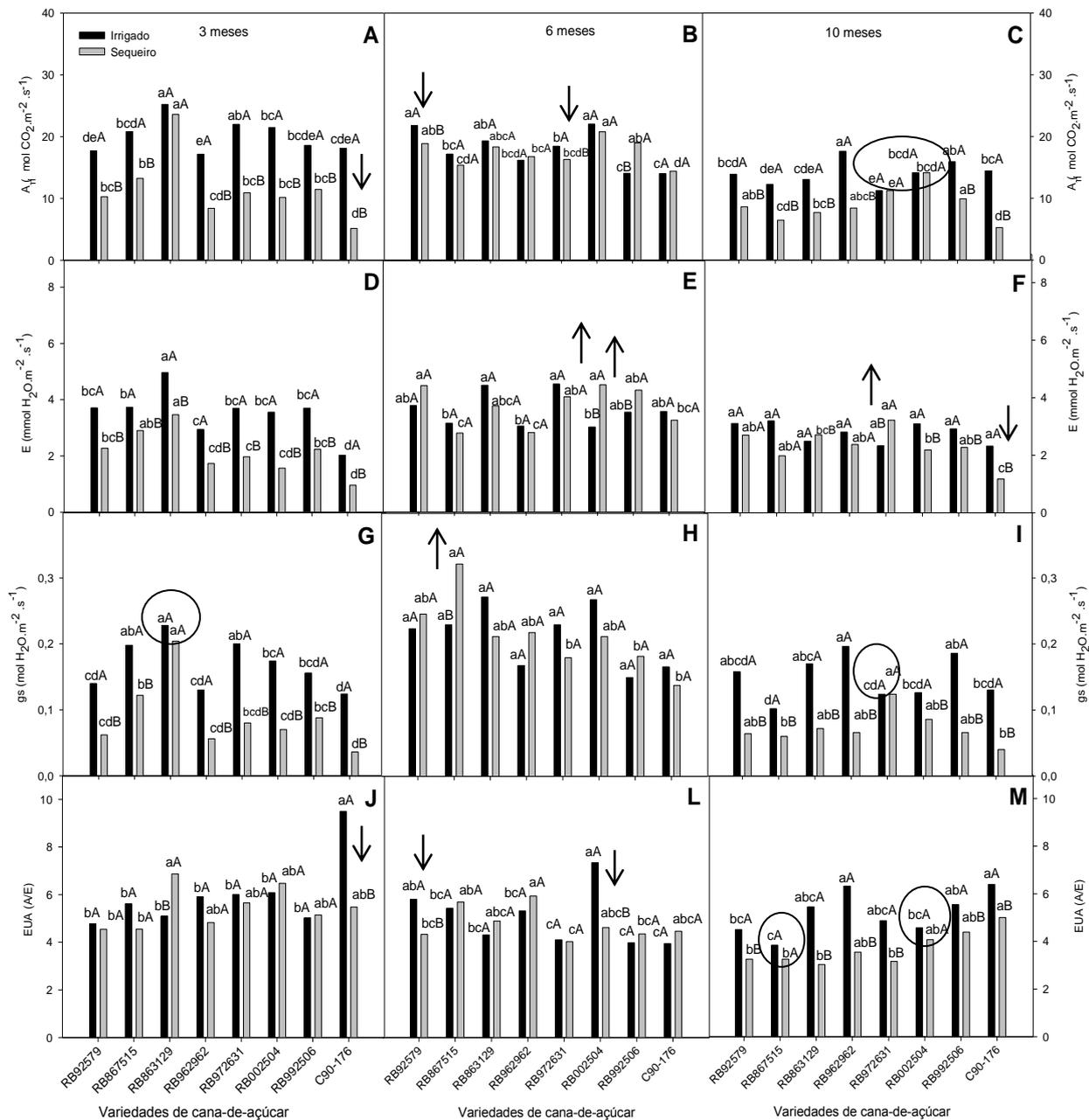


Figura 2: Trocas gasosas de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A, B e C) Fotossíntese líquida (A_L) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; D, E, e F) Transpiração (E) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; G, H e I) Condutância estomática (gs) após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; J, L e M) Eficiência do uso da água (EUA), após 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As setas para baixo indicam reduções significativas, setas para cima indicam aumentos significativos e os círculos que não houve diferença estatística.

As trocas gasosas foram afetadas nas variedades em estudo, já que foram verificadas reduções significativas nas variáveis de g_s e A após 3 e 10 meses de cultivo sob seca, mostrando uma linha de defesa inicial à baixa umidade no solo. Aos 6 meses de cultivo, período com maior precipitação pluviométrica, no geral, as plantas das variedades sob seca não diferiram das cultivadas no campo irrigado denotando que as respostas estomáticas são frequentemente mais ligadas à umidade do solo do que ao estado de conteúdo da água na folha (FAROOQ et al., 2009).

Durante muito tempo, o fechamento dos estômatos foi aceito como o principal determinante para a diminuição da fotossíntese em plantas sob seca leve a moderada. Isto diminui o fluxo de CO_2 nas folhas e a quantidade de elétrons para a formação de espécies reativas de oxigênio que causa dano no aparato fotossintético, apresentando uma vantagem. Já com relação à redução da taxa de transpiração, há um aumento na quantidade de calor que pode ser dissipada, mostrando-se como uma desvantagem. Por outro lado, os estômatos abertos em plantas sob seca, ativa a fotossíntese e fornece nutrientes para a planta arriscando a perda de turgor, que pode ser contornado por um ajustamento osmótico, reduzindo o potencial hídrico foliar e permitindo uma maior absorção de água pelas raízes (BHARGAVA; SAWANT, 2013; SADE et al., 2012; FAROOQ et al., 2009; CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; YOKOTA et al., 2002).

Enquanto as plantas do regime de sequeiro da maioria das variedades em estudo mostraram mecanismos de fechamento estomático em resposta à seca do solo, as plantas da variedade RB972631 apresentaram uma resposta contrária, já que não foram observadas reduções na g_s e A , além de aumento significativo na E , após 10 meses de cultivo. Dessa forma, foi observado duas vertentes nesse estudo, já que essa última variedade apresenta um mecanismo diferenciado em relação às outras. Além disso, em conjunto com as outras variáveis, pode mostrar maior tolerância ou sensibilidade à seca, já que a mesma também reduziu o número de folhas desde o início do estresse por seca.

Outros autores mostram que as espécies/variedades tolerantes à seca são capazes de diminuir a perda de água através de uma redução da área foliar, ou redução da abertura dos estômatos, ou de ambos, simultaneamente, com menos efeito sobre a produção de biomassa, além de manter a eficiência do uso da água (FAROOQ et al., 2009).

As variedades RB867515 e RB002504 apresentaram algumas dessas respostas buscando a tolerância, porém cada uma de forma diferenciada. Enquanto que a RB002504 apresentou uma redução na área foliar, fechamento estomático e manutenção da EUA aos 10 meses de cultivo em sequeiro, a RB867515 apresentou fechamento estomático e manutenção da EUA nas três épocas de avaliação, além de se destacar nas variáveis de crescimento mesmo sob seca. Todas as outras variedades em estudo apresentaram redução na EUA aos 10 meses de cultivo no sequeiro, muitas vezes correlacionado com o aumento ou manutenção da transpiração, mesmo com o fechamento parcial dos estômatos.

3.3 Relações hídricas

Com relação às relações hídricas, ao meio-dia, a maioria das variedades reduziu significativamente seu *status* hídrico nas plantas em regime de sequeiro com o menor valor (- 2,4 MPa) observado na variedade C90-176 aos 3 meses de cultivo (Figura 3A). Aos 6 meses, devido às chuvas, todas as variedades conseguiram recuperar o Ψ_w (Figura 3B), e ao final do experimento, nenhuma das variedades mantiveram seu *status* hídrico, apresentando reduções significativas que variaram de 6% (RB962962) a 34% (RB992506) (Figura 3C). As plantas da variedade C90-176 cultivadas no campo sequeiro apresentaram os menores potenciais nas três coletas realizadas quando comparadas as outras variedades em estudo, denotando que esta variedade sofre maiores consequências com a falta de irrigação (Figura 3).

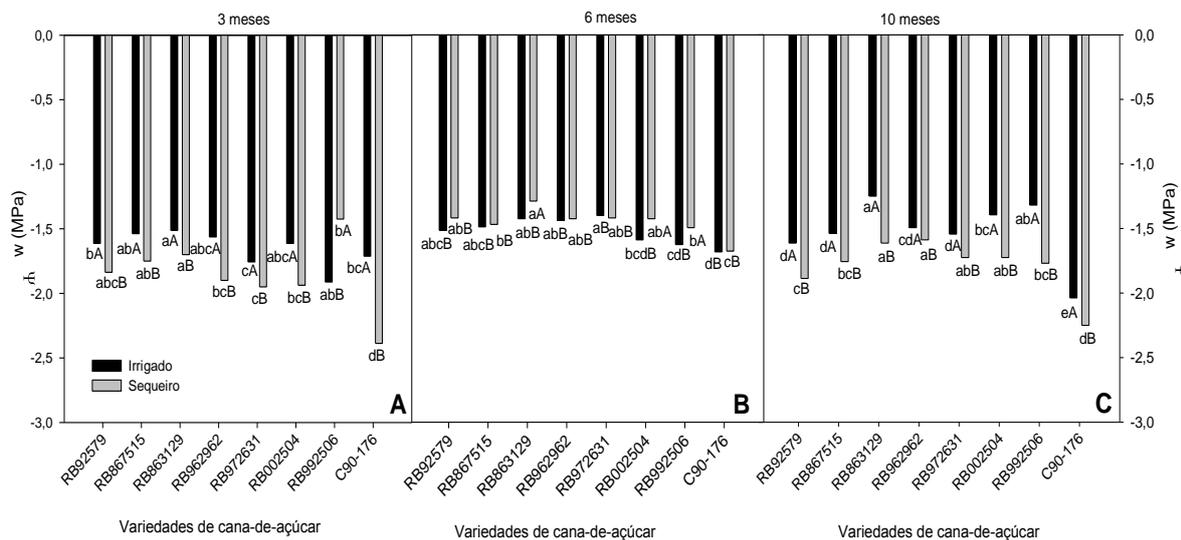


Figura 3: Potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}), realizado ao meio-dia, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Já em relação ao TRA, ao meio-dia, todas as variedades tiveram seu conteúdo de água reduzido aos 3 meses de cultivo em sequeiro, com percentuais que variaram de 4% a 12% (Figura 4A). Aos 10 meses as reduções foram observadas nas variedades RB92579, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176, com menores valores (79%) para as duas últimas variedades (Figura 4C).

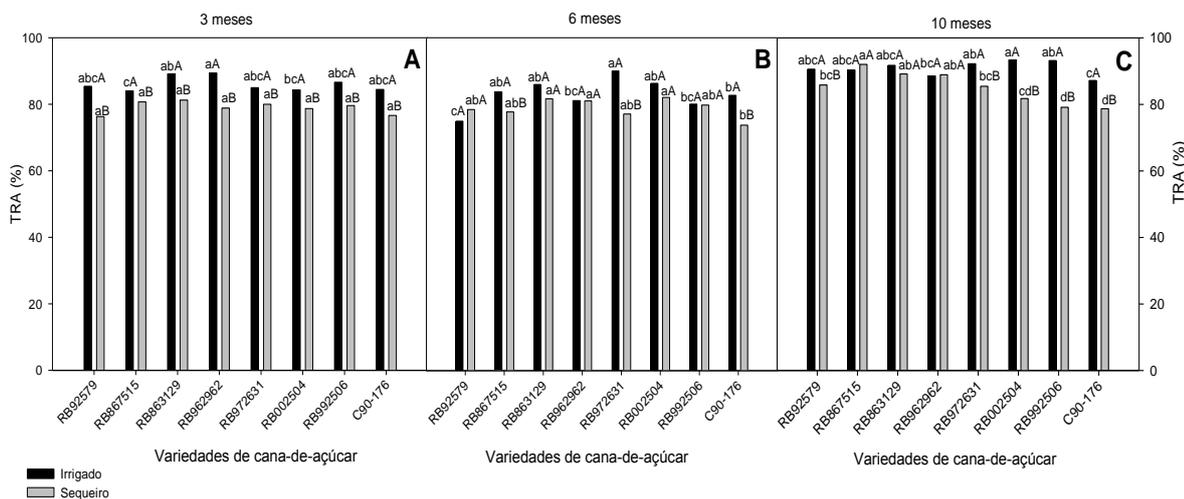


Figura 4: Teor relativo de água (TRA), realizado ao meio-dia, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As variáveis de Ψ_{wf} , TRA, g_s e EUA correlacionadas com o fechamento estomático, a fim de reduzir a taxa de transpiração, são características muito importantes que influenciam nas relações hídricas das plantas, além de serem bastante sensíveis ao estresse hídrico correlacionando-se bem com a tolerância à seca (MONCLUS et al., 2005; FAROOQ et al., 2009).

As variedades RB867515, RB002504, RB992506 e C90-176 apresentaram redução na condutância estomática (Figura 2I), reduzindo a transpiração após 10 meses de seca (Figura 2F), apresentando, portanto um fechamento estomático nas plantas sob sequeiro. Dessas variedades, somente a variedade RB867515, não mostrou reduções no TRA (Figura 4C), já para o Ψ_{wf} todas reduziram significativamente (Figura 3C), o que pode estar atrelado a um ajustamento osmótico. Ao contrário, a variedade RB972631 não apresentou fechamento estomático nas plantas sob sequeiro, pois não houve reduções nas variáveis de g_s e E (Figuras 2I e 2F), e em adição, apresentou redução no Ψ_{wf} (Figura 3C) e no TRA, sendo que nesse último nas três coletas (Figura 4A, 4B e 4C).

As avaliações de TRA e Ψ_w foliar têm sido bem responsivos e correlacionados com tolerância à deficiência hídrica e podem ser usadas para identificar e distinguir genótipos de cana-de-açúcar tolerantes à seca (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2013). Novamente a RB867515 se destaca nessa variável, já que não diferiu das plantas do campo irrigado em nenhuma das avaliações, e em conjunto com as outras variáveis já mencionadas apresentou bom desempenho. Provavelmente, a RB972631 que apresentou as respostas mais diferenciadas das variáveis até o momento, pode não ter realizado os mecanismos mais eficientes para se tolerar a seca, já que seu TRA foi bastante afetado.

3.4 Pigmentos fotossintéticos

O teor de verde das variedades em estudo foi mais afetado no início do estresse, onde foram verificadas reduções significativas que variaram de 8% (C90-176) a 15% (RB962962) (Figura 5A). Após 10 meses de cultivo em regime de seca, apenas as plantas da variedade RB002504 reduziram em 7% essa variável quando comparada às plantas irrigadas (Figura 5C).

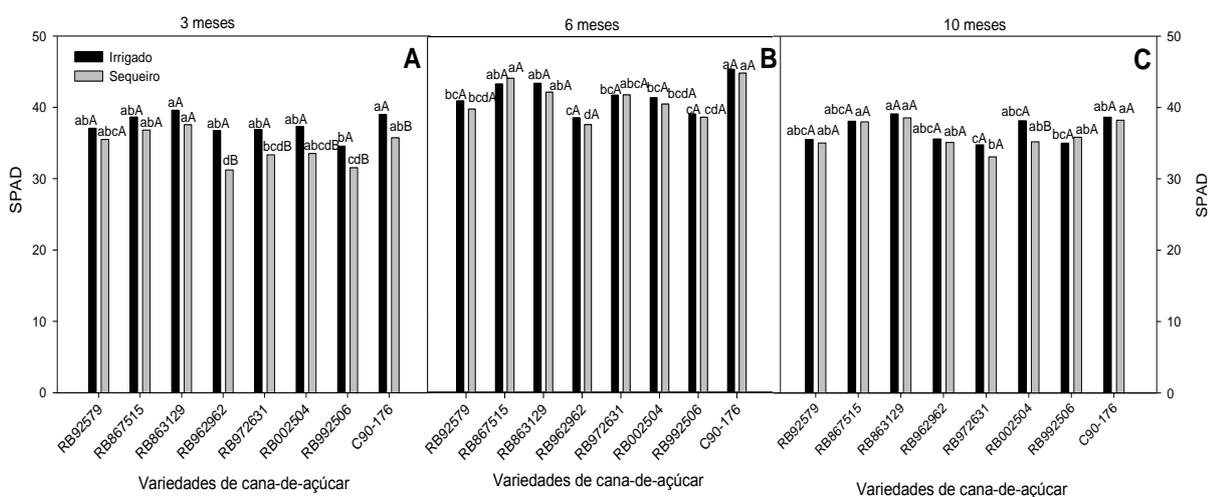


Figura 5: Índice de clorofila total pelo clorofilômetro SPAD, de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. A) Coleta realizada após 3 meses de cultivo; B) Coleta realizada após 6 meses de cultivo; C) Coleta realizada após 10 meses de cultivo; Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os pigmentos fotossintéticos, o teor de clorofila *a* foi afetado inicialmente, aos 3 meses, com reduções que variaram de 20% a 48% na maioria das variedades em regime de sequeiro, apenas as plantas da variedade RB867515 não apresentaram diferenças significativas em comparação com as plantas do regime irrigado. Aos 6 meses de cultivo, semelhante às outras variáveis, não foram observadas reduções estatísticas entre os tratamentos para as variedades estudadas. No entanto, aos 10 meses, houve reduções significativas na maioria das variedades no regime sequeiro com maior redução observada na variedade RB867515 (38%) (Tabela 1). O teor de clorofila *b* aos 3 meses de cultivo, somente foi reduzido estatisticamente nas plantas das variedades RB92579 (35%) e RB962962 (19%) sob regime de sequeiro. Aos 6 meses, novamente não foram observadas diferenças estatísticas e aos 10 meses verificaram-se reduções significativas de 44% nas plantas das variedades RB867515 e RB002504 (Tabela 1). Comportamento semelhante ao da clorofila *a* foi observado para a clorofila total nas três épocas de avaliação, com maior redução (39%) para as plantas da variedade RB867515 aos 10 meses de cultivo sob seca (Tabela 1). Já para os carotenoides, somente foi afetada a sua concentração aos 3 meses de cultivo, na maioria das variedades cultivadas no regime de sequeiro, exceto nas variedades RB867515, RB002504 e C90-176. Aos 10 meses não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, mostrando que esse pigmento não foi alterado pelo estresse por seca (Tabela 1). Dentre as variedades estudadas, as plantas da RB972631 apresentaram os valores mais baixos inicialmente, aos 3 meses de cultivo no sequeiro, para os pigmentos avaliados, exceto para a clorofila *b*, no entanto aos 10 meses, menores concentrações foram observadas nas variedades RB867515, RB863129, para a clorofila *a* e juntamente com a C90-176 pra a clorofila total.

Tabela 1: Teores de pigmentos fotossintéticos de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.

Variedades de cana-de-açúcar	Clorofila a (mg.g FM ⁻¹)						Clorofila b (mg.g FM ⁻¹)					
	3 meses		6 meses		10 meses		3 meses		6 meses		10 meses	
	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro
RB92579	0,86 aA	0,59bcB	1,19 abA	1,37 aA	1,64 aA	1,36 aB	0,20 aA	0,13 aB	0,70 aA	0,73 aA	0,66 abA	0,56 aA
RB867515	0,92 aA	0,87 aA	1,58 abA	1,80 aA	1,64 aA	1,02 bB	0,19 aA	0,17 aA	0,97 aA	0,84 aA	0,56 aA	0,39 aB
RB863129	0,79 abcA	0,63 bB	1,07 bA	1,33 aA	1,37 abA	1,00 bB	0,15 aA	0,15 aA	0,85 aA	0,85 aA	0,51 abcA	0,36 aA
RB962962	0,79 abcA	0,41 cdB	1,17 abB	1,59 aA	1,14 bA	1,22 abA	0,15 aA	0,12 aB	0,95 aA	0,86 aA	0,45 bcA	0,42 aA
RB972631	0,63 cA	0,38 dB	1,41 abA	1,56 aA	1,18 bA	1,07 abA	0,13 aA	0,11 aA	0,79 aA	0,71 aA	0,36 cA	0,42 aA
RB002504	0,66 bcA	0,51 bcdB	1,53 abA	1,42 aA	1,42 abA	1,03 abB	0,16 aA	0,16 aA	0,86 aA	0,87 aA	0,70 aA	0,40 aB
RB992506	0,76 abcA	0,47 bcdB	1,71 aA	1,74 aA	1,41 abA	1,33 abA	0,15 aA	0,11 aA	0,88 aA	0,85 aA	0,54 abcA	0,55 aA
C90-176	0,83 abA	0,65 bB	1,38 abA	1,69 aA	1,22 bA	1,14 abA	0,16 aA	0,12 aA	0,70 aA	0,84 aA	0,37 cA	0,42 aA

Variedades de cana-de-açúcar	Clorofila total (mg.g FM ⁻¹)						Carotenoides (mg.g FM ⁻¹)					
	3 meses		6 meses		10 meses		3 meses		6 meses		10 meses	
	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro
RB92579	1,06 aA	0,72 bcB	1,70 bA	2,10 aA	2,30 abA	1,92 aB	0,23 aA	0,18 abB	0,33 aA	0,18 aB	0,25 aA	0,22 aA
RB867515	1,11 aA	1,04 aA	2,55 aA	2,64 aA	1,92 aB	1,41 cB	0,22 aA	0,20 aA	0,25 abA	0,23 aA	0,21 aA	0,19 aA
RB863129	0,94 abcA	0,79 bB	1,92 abA	2,16 aA	1,88 bcA	1,36 cB	0,19 abcA	0,14 bcdB	0,14 bA	0,17 aA	0,21 aA	0,15 aA
RB962962	0,97 abcA	0,54 cdB	2,11 abA	2,45 aA	1,59 cA	1,64 abcA	0,21 abA	0,12 cdB	0,19 abA	0,21 aA	0,18 aA	0,22 aA
RB972631	0,76 cA	0,49 dB	2,21 abA	2,27 aA	1,53 cA	1,49 abcA	0,16 bcA	0,10 dB	0,24 abA	0,21 aA	0,19 aA	0,14 aA
RB002504	0,81 bcA	0,67 bcdB	2,39 abA	2,29 aA	2,12 abA	1,43 bcB	0,14 cA	0,11 cdA	0,25 abA	0,19 aA	0,16 aA	0,15 aA
RB992506	0,91 abcA	0,58 bcdB	2,58 aA	2,59 aA	1,95 abcA	1,88 abA	0,19 abcA	0,14 bcdB	0,30 abA	0,23 aA	0,22 aA	0,19 aA
C90-176	0,99 abA	0,76 bB	2,08 abA	2,52 aA	1,60 cA	1,39 cA	0,19 abcA	0,17 abcA	0,24 abA	0,22 aA	0,22 aA	0,28 aA

O estresse hídrico induz a mudanças nos pigmentos fotossintéticos e danifica componentes do aparato fotossintético (ANJUM et al., 2003), além de diminuir as atividades das enzimas do ciclo de Calvin, que são causas importantes da redução da produtividade da cultura (MONAKHOVA; CHERNYADÈV, 2002). A seca geralmente reduz o teor das clorofilas, porém as plantas sintetizam antioxidantes (carotenoides, flavonoides, entre outros) para proteção contra os danos oxidativos causados pela degradação dos pigmentos fotossintéticos (JALEEL et al., 2009; MEDEIROS et al., 2013). O teor de verde total estimado pelo SPAD e dos pigmentos fotossintéticos, podem ser tão eficazes como as trocas gasosas e reveladores sobre genótipos tolerantes e sensíveis à seca (SILVA et al., 2007).

As plantas da variedade RB867515, RB002504 e C90-176 se destacam dentre as outras variedades em estudo por não apresentarem reduções nos teores de carotenoides nas três avaliações, mostrando que mesmo reduzindo concentrações das clorofilas *a* e total, aos 3 ou 6 meses de seca, sugerindo que não foram causados danos oxidativos em maior proporção (Tabela 1). No entanto, as demais variedades apresentaram reduções nos carotenoides no início do estresse, aos 3 meses, que pode não ter sido a melhor estratégia para tolerar a seca, visto que os danos causados no início, sem proteção, pode ocasionar maiores consequências ao maior tempo de cultivo no regime de sequeiro (Tabela 1). Embora, aos 10 meses de cultivo, as plantas da variedade RB92579 não apresentaram diferenças estatísticas no teor de carotenoides, esse resultado foi visto aos 3 e 6 meses de cultivo no sequeiro (Tabela 1), que pode ter causado reduções drásticas na fotossíntese, nas três avaliações (Figura 2A, 2B e 2C), até mesmo quando a gs estava semelhante a das plantas do campo irrigado.

3.5 Solutos orgânicos

Já para os teores de solutos compatíveis, somente as variedades RB863129 e RB002504 não apresentaram diferença entre as plantas do campo irrigado e sequeiro, nas três avaliações para a concentração de carboidratos, além da RB992506 que ainda apresentou acúmulo de 29% nas plantas cultivadas após 3 meses no regime sequeiro (Tabela 2). A variedade RB92579 foi a mais afetada para essa variável, já que reduziu significativamente em 22%, 16% e 39% aos 3, 6 e 10 meses de cultivo, respectivamente, seguidas da RB972631 com 45% e 20% e C90-176 com 25% e 36% aos 6 e 10 meses de cultivo no sequeiro, respectivamente.

A maioria das variedades apresentou acúmulo de aminoácidos aos 10 meses de cultivo no campo sequeiro, que variou de 31% (RB867515) a 95% (RB863129) (Tabela 2). Já as plantas das variedades RB002504, RB992506 e C90-176 não utilizaram esse mesmo mecanismo de resposta, e embora não apresentaram diferenças estatísticas aos 10 meses de cultivo no regime sequeiro, mostraram reduções significativas desses solutos aos 3 e 6 meses.

Nenhuma das variedades estudadas apresentou o teor de prolina reduzido com a seca (Tabela 2). As plantas das variedades RB92579 e RB972631 investiram no acúmulo desse soluto aos 3 e 6 meses de cultivo no sequeiro, e as variedades RB863129, RB992506 e C90-176 acumularam esse soluto em 15%, 15% e 25%, respectivamente, aos 10 meses.

A concentração das proteínas solúveis totais foi reduzida apenas nas plantas da variedade RB992506 cultivadas no campo sequeiro por 10 meses ($1860,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ MF) em comparação com as plantas do regime irrigado ($3094,56 \mu\text{g.g}^{-1}$ MF), e somente foi acumulada, nessa mesma avaliação, na variedade RB972631 cultivada em sequeiro ($2205,32 \mu\text{g.g}^{-1}$ MF) em relação às irrigadas ($1408,05 \mu\text{g.g}^{-1}$ MF), que já havia apresentado redução aos 3 e 6 meses (Tabela 2).

Tabela 2: Concentrações de solutos compatíveis (carboidratos solúveis totais, prolina livre, aminoácidos livre totais e proteínas solúveis totais), de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte em negrito, nos resultados, indica diferenças significativas.

Variedades de cana-de-açúcar	Carboidratos (mmol.g ⁻¹ MF)						Aminoácidos (mmol.g ⁻¹ MF)					
	3 meses		6 meses		10 meses		3 meses		6 meses		10 meses	
	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro
RB92579	174,30 aA	136,13 cB	160,79 abA	135,62 bcB	148,26 abcA	90,64 dB	9,30 dB	11,48 bcA	5,13 bcdB	7,75 aA	4,47 abB	7,49 aA
RB867515	194,76 aA	171,15 bcB	155,91 abA	135,04 bcB	137,71 bcdA	155,10 abA	10,69 cdA	6,43 dB	4,49 dB	5,57 bcA	3,56 bB	4,68 cA
RB863129	187,68 aA	193,58 bA	169,32 aA	177,57 aA	154,01 abcA	167,03 aA	12,49 bcA	10,76 bcB	7,08 aA	6,59 abA	3,78 bB	7,38 abA
RB962962	183,18 aA	140,26 cB	155,79 abA	160,58 abA	112,14 dA	85,16 dB	15,08 aA	15,93 aA	5,07 cdB	6,20 abcA	2,84 bB	4,90 cA
RB972631	185,12 aA	171,15 bcA	175,26 aA	96,14 dB	175,28 aA	140,27 abB	13,72 abA	13,07 bA	6,22 abcA	6,60 abA	3,22 bB	5,36 cA
RB002504	176,36 aA	183,46 bA	116,13 cA	122,67 cdA	134,82 cdA	135,14 bcA	12,46 bcA	10,13 cB	6,68 abA	6,17 bcA	3,90 bA	4,80 cA
RB992506	179,64 aB	254,77 aA	115,11 cA	103,07 cdA	155,05 abcA	156,96 abA	12,91 abcA	10,65 bcB	6,95 aA	5,91 bcB	5,69 aA	4,87 cA
C90-176	93,54 bB	186,10 bA	133,60 bcA	100,22 dB	165,99 abA	106,64 cdB	13,96 abA	10,41 cB	7,65 aA	4,90 cB	5,71 aA	5,72 bcA
Variedades de cana-de-açúcar	Prolina (mmol.g ⁻¹ MF)						Proteínas (µg.g ⁻¹ MF)					
	3 meses		6 meses		10 meses		3 meses		6 meses		10 meses	
	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro	Irrigado	Sequeiro
RB92579	0,53 bcB	0,78 aA	0,31 cdB	0,43 abA	0,26 aA	0,30 aA	1361,28 cA	1721,00 bA	2302,70 aA	1563,93 abcB	1724,85 bcA	2069,97 aA
RB867515	0,55 bcA	0,50 cA	0,26 dB	0,35 dA	0,27 aA	0,26 aA	2276,59 bA	1512,78 bB	1025,52 cA	1034,65 cdA	1578,16 cA	1613,06 aA
RB863129	0,67 aA	0,68 abA	0,38 abA	0,41 bcA	0,27 aB	0,31 aA	1714,78 bcA	1878,90 bA	758,83 cB	1499,29 bcA	2221,36 abcA	1852,36 aA
RB962962	0,61 abA	0,67 bA	0,33 bcB	0,48 aA	0,29 aA	0,29 aA	3762,13 aA	2245,03 abB	1038,38 cB	2252,00 aA	2656,91 abA	2013,90 aA
RB972631	0,49 cB	0,60 bcA	0,37 abcB	0,42 bcA	0,24 aA	0,25 aA	2440,71 bA	1714,78 bB	1334,48 bcA	658,13 dB	1408,05 cB	2205,32 aA
RB002504	0,58 abcB	0,67 bA	0,37 abA	0,40 bcdA	0,26 aA	0,26 aA	1853,65 bcA	1771,59 bA	2023,68 abA	1515,70 bcB	1711,54 bcA	1674,76 aA
RB992506	0,54 bcB	0,63 bA	0,38 abA	0,38 bcdA	0,26 aB	0,30 aA	2282,90 bA	2649,03 aA	2229,92 aA	2044,15 abA	3094,56 aA	1860,03 aB
C90-176	0,60 abA	0,63 bA	0,39 aA	0,36 cdA	0,24 aB	0,30 aA	2024,09 bcA	1487,53 bB	1086,25 cA	1291,08 cdA	1798,40 bcA	1976,24 aA

A função primária dos solutos compatíveis é evitar a perda de água para manter a turgescência das células e para manter o gradiente de absorção. Além disso, esses osmólitos atuam protegendo as enzimas, a integridade das membranas e mantêm a conformação das proteínas a potenciais hídricos baixos (LISAR et al., 2012). As concentrações dos aminoácidos e carboidratos são afetadas pela seca, e o acúmulo desses solutos pode estar relacionado com o ajustamento osmótico (MEDEIROS et al., 2012). A prolina, além de auxiliar no ajustamento osmótico, também apresenta a função de depósito de energia e reserva de carbono e nitrogênio, utilizado no restabelecimento da planta após o estresse hídrico (QUEIROZ et al., 2008). No entanto, o acúmulo de solutos orgânicos, embora necessário para manter a turgescência, pode ser um resultado da redução do teor relativo de água no tecido, quando concentrado no conteúdo celular (MEDEIROS et al., 2013).

Diante dos resultados dos teores de solutos compatíveis foi observado que as plantas de sequeiro das variedades RB92579, RB867515, RB962962 e RB972631 tenderam para o ajustamento osmótico com o acúmulo de aminoácidos e prolina, no entanto, os teores de carboidratos e proteínas foram afetados, principalmente aos 3 e 6 meses de cultivo. A variedade RB863129 possivelmente também respondeu a seca com o ajuste osmótico, porém mais tardiamente, aos 6 e 10 meses, todavia, os teores de carboidratos e proteínas não foram afetados com o estresse. As plantas das variedades RB992506 e C90-176, embora tenham apresentado acúmulo de prolina no regime de sequeiro, parece não estar associado ao ajustamento osmótico, já que houve redução dos aminoácidos, proteínas e carboidratos, indicando que a prolina está mais associada a proteção dos danos causados pela seca. Por fim, a variedade RB002504 possivelmente também não está realizando o ajustamento osmótico, visto que não houve diferenças estatísticas dos solutos aos 10 meses de cultivo no campo sequeiro, além de apresentar redução nos teores de aminoácidos e proteínas, no entanto, assim como na RB863129, o teor de carboidrato não foi afetado pela seca, que pode ser atribuído à manutenção da fotossíntese nas plantas cultivadas em sequeiro.

3.6 Produtividade

Todas as variedades em estudo apresentaram reduções significativas na produtividade quando cultivadas no regime de sequeiro. Essas reduções variaram de 20% a 38%, observadas nas variedades RB92579 e RB972631, respectivamente (Figura 6).

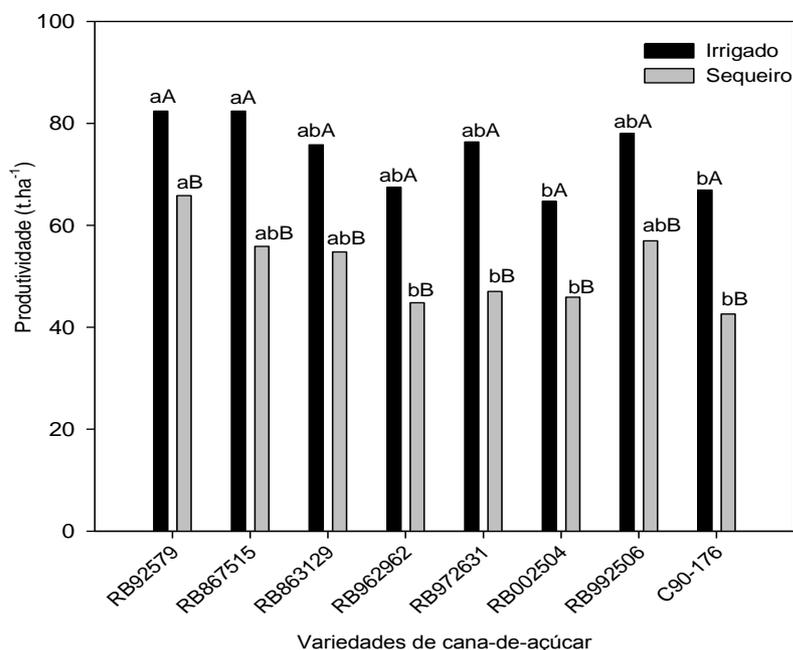


Figura 6: Produtividade de oito variedades de cana-de-açúcar (RB92579, RB867515, RB863129, RB962962, RB972631, RB002504, RB992506 e C90-176) submetidas ao regime de sequeiro, por 11 meses, em condições de campo. Letras iguais, minúsculas entre variedades e maiúsculas entre tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cultura de cana-de-açúcar no Brasil está sujeita à ocorrência de déficit hídrico em determinadas fases de seu desenvolvimento, uma vez que a maior parte do seu cultivo ocorre em regime de sequeiro, devido principalmente à irregular distribuição sazonal das chuvas nas regiões produtoras (BATISTA et al., 2015). Diante disso é importante destacar as variedades que conseguem realizar mecanismos de respostas que não afetam drasticamente a sua produtividade quando cultivadas em regime de sequeiro, visto que essa variável é fundamental para os produtores.

O regime de sequeiro, por 11 meses, foi danoso para todas as variedades em estudo denotando que a disponibilidade de água é essencial para o crescimento e a produtividade da cana-de-açúcar. A menor redução (20%) observada na variedade RB92579 aponta que a

mesma realiza mecanismos de resposta mais adequados para se tolerar a seca durante seu ciclo, seguida das variedades RB992506, RB863129 e RB002504 com 27%, 28% e 29% de redução, respectivamente, embora com mecanismos de respostas diferentes. Já a maior redução (38%) verificada na variedade RB972631 denota sua sensibilidade a seca e que seus mecanismos não são apropriados para tolerância. A variedade RB962962 e RB867515 que se destacaram em algumas variáveis fisiológicas, como crescimento, EUA e TRA também não mostraram eficientes quanto à produtividade, já que apresentaram reduções de 34% e 32%, respectivamente, assemelhando-se inclusive a variedade cubana (32%) que já apresentava mecanismos de sensibilidade ao longo do cultivo em sequeiro.

4. CONCLUSÕES

O possível ajustamento osmótico por acúmulo de aminoácidos e prolina livres realizado pelas plantas da variedade RB92579, parece conferir maior tolerância quando cultivadas sob regime de sequeiro, visto que a sua produtividade foi menos afetada dentre as outras variedades no presente estudo. Esse acúmulo dos solutos pode ter acarretado a redução do seu Ψ_{wf} , já que o fechamento parcial dos estômatos só causou a redução da fotossíntese e conseqüentemente no acúmulo de carboidratos, pois as plantas continuaram com a transpiração ativa, para possível resfriamento, corroborada por diminuição na EUA e no TRA.

Embora a variedade RB972631 possivelmente também tenha realizado o ajustamento osmótico com o acúmulo de prolina aos 3 e 6 meses de cultivo no sequeiro, teria que ser atrelado ao fechamento parcial dos estômatos, visto que a fotossíntese e a transpiração continuaram ativas, acarretando redução no TRA e EUA para a última e danos oxidativos pela primeira, que está atrelado a redução da concentração de proteínas e redução de carboidratos por demanda energética.

5. REFERÊNCIAS

- ABREU, M. L.; SILVA M.A.; HOLANDA L. A. SAMPAIO NETO G.D. (2013) Crescimento e produtividade de cana-de-açúcar em função da disponibilidade hídrica dos Tabuleiros Costeiros de Alagoas. **Bragantia**, Campinas, 72: 262-270.
- ANJUM, F.; YASEEN, M.; RASUL, E.; WAHID, A.; ANJUM, S. (2003) Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents". **Pakistan Journal Agricultural Sciences**, 40: 45–49.
- BARRS, H. D. & P. E. WEATHERLEY (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian journal of Biological Science**, 15:413-428.
- BATES LS (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant Soil** 39:205-207.
- BATISTA E. L.S.; ZOLNIER S.; RIBEIRO A.; LYRA G. B.; SILVA T.G.F.; BOEHRINGER D. (2015) Avaliação do efeito do estresse hídrico no crescimento de cultivares de cana-de-açúcar usando um sistema automático de irrigação. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, 35:215-229.
- BHARGAVA, S.; SAWANT K. (2013) Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, 132: 21–32.
- BRADFORD, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72: 248-254.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. (2000) Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (ed.) **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiology, p.158-1203.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, W.D.; SOUZA, A.P. (2010) As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In: Luís Augusto Barbosa Cortez. (Org.) **Bioetanol da cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Edgard Blucher, p.365-380.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS J.; PINHEIRO C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Ann. Bot.** 103: 551–560.
- CONAB, **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-açúcar safra 2014/2015. Primeiro levantamento. Brasília: Conab, 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/cana.pdf>> Acesso em: 27.jul. 2014.
- DANTAS NETO J.; FIGUEREDO J.L.C.; FARIAS C.H.A.; AZEVEDO H.M.; AZEVEDO C.A.V. (2006) Resposta da cana-de-açúcar, primeira soca, a níveis de irrigação e adubação de cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 10: 283–288.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. (1956) **Colorimetric method for determination of sugars and related substances**. Analytical Chemistry, 28: 350-356.
- FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, FUJITA D, BASRA SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development** 29:185-212.

GONÇALVES ER, FERREIRA VM, SILVA JV, ENDRES L, BARBOSA TP, DUARTE WG (2010) Gas exchange and chlorophyll a fluorescence of sugarcane varieties submitted to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 14:378-386.

HERMANN, E.R.; CÂMARA, G.M.S. (1999) Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista STAB**, Piracicaba, 17: 32-34.

INMAN-BAMBER, N.G. (2004) Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research** 89: 107-122.

INMAN-BAMBER, N.G., SMITH, D.M. (2005) Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, 92: 185-202.

JADOSKI C. J.; TOPPA E.V.B.; JULIANETTI A.; HULSHOF T.; ONO E.O.; RODRIGUES J.D. (2010) Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, 3: 169-176.

JALEEL CA, MANIVANNAN P, WAHID A, FAROOQ M, SOMASUNDARAM R, PANNEERSELVAM R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture and Biology** 11:100-105.

LICHTENTHALER HK, BUSCHMANN C (2001) Chlorophylls and carotenoids – Measurement and characterisation by UV-VIS. In: **Current protocols in food analytical chemistry**. Madison: John Wiley & Sons. F4.3.1–F4.3.8.

LISAR, S.Y.S. MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M.M.; RAHMAN, I.M.M. (2012) Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman (Ed.), **InTech**, p.1-14.

MACHADO, R.S.; RIBEIRO, R.V.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, D.F.S.P.; MACHADO, E.C.; LANDELL, M.G.A. (2009) Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44: 1575-1582.

MEDEIROS DB, SILVA EC, SANTOS HRB, PACHECO CM, MUSSER RS, NOGUEIRA RJMC (2012) Physiological and biochemical response to drought stress in the Barbados cherry. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 24:181-192.

MEDEIROS, D. B.; SILVA E.C.; NOGUEIRA R.J.M.C. TEIXEIRA M.M.; BUCKERIDGE M.S. (2013) Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 25: 213-222.

MONAKHOVA O.F., CHERNYADÉV I.I. (2002) Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought, *Appl. Biochem. Micro+* 38, 373–380.

MONCLUS R., DREYER E., VILLAR M., DELMOTTE F.M., DELAY D., PETIT J.M., BARBAROUX C., THIEC D.L., BRÉCHET C., BRIGNOLAS F. (2006) Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoids* × *Populus nigra*, **New Phytol.** 169, 765–777.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; SILVA, E.C; SILVA, M.A.; SANTOS, H.R.B.; PACHECO, C.M.; TEIXEIRA, M.M.; SIMÕES NETO, D.E. (2008) **Uso de indicadores fisiológicos para avaliar tolerância à seca em cana-de-açúcar no estado inicial do desenvolvimento: relações**

hídricas e comportamento estomático. Maceió - AL: 9º Congresso Nacional da STAB, p. 692-698.

OSAKABE Y. OSAKABE K, SHINOZAKI K, TRAN L-SP (2015) Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**. 5: 86, 2014.

PINCELLI R.P.; SILVA M. A. (2012) Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience journal**, Uberlândia, 28: 546-556.

QUEIROZ RJB, SANTOS DMM, CARLIN SD, MARIN A, BANZATTO DA, CAZETTA JO (2008) Effects of osmoprotectors on sugarcane plants growing under different water deficit levels. **Científica** 36:107-115.

RAO, C. M.; KUMAR, M. V.; REDDY, L. K. (2005) Management of sugarcane clones under limited moisture situations (drought) at formative stage. **Indian Sugar**, Indian, p. 949- 953.

ROBERTSON, M. J.; INMAN-BAMBER, N.G.; MUCHOWA, R.C.; WOODC, A.W. (1999) Physiology and productivity of sugarcane with early and midseason water deficit. **Field Crops Research**, Australia, 64: 211-227.

SADE, N.; ALEM, G.; MOSHELION, M. (2012) Risk-taking plants. Anisohydric behavior as a stress-resistance trait. **Plant Signal**. Behav. 7: 1-4.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMINGSEN,E.A.; BRADSTREET, E.D. (1965) **Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants.** Proceedings of National Academy Science, 51: 119-125.

SILVA, FAS AZEVEDO, CAV (2002) Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, 4: 71-78.

SILVA MA, SANTOS CM, ARANTES MT, BRUNELLI MC, HOLANDA LA (2013) Physiological responses of sugarcane cultivars submitted to water stress and rehydration. **Revista Caatinga**, 26:28-35.

SILVA, M.A.; SOARES, R.A.B.; LANDELL M.G.A.; CAMPANA M.P. (2008) Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, Campinas, 67: 655-661.

SILVA MA, JIFON JL, SILVA JAG, SHARMA V (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 19:193-201.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. (2006) The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Amsterdam, 98: 91-97.

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

WAHID, A. (2004) Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and economic yield of sugarcane. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, 45: 133-141.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. (1955) **Determination of amino acids with ninhydrin.** Analyst, 80: 209-213.

YOKOTA A.; KAWASAKI S.; IWANO M.; NAKAMURA C.; MIYAKE C.; AKASHI K. (2002) Citrulline and DRIP-1 Protein (ArgE Homologue) in Drought Tolerance of Wild Watermelon, **Ann. Bot.** 89, 825–832.

ZINGARETTI, S.M.; RODRIGUES, F.A.; GRAÇA, J.P.; PEREIRA, L.M.; LOURENÇO, M.V. (2012) Sugarcane Responses at Water Deficit Conditions. In: Ismail Md. Mofizur Rahman and Hiroshi Hasegawa (Ed.). **Water Stress.** InTech: 255-276.