



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MELHORAMENTO
GENÉTICO DE PLANTAS

Caracterização de cultivares de algodão tolerantes ao estresse hídrico baseada em variáveis de crescimento e na atividade das enzimas antioxidativas

JÉSSICA DAMASCENO RODRIGUES

Recife - PE

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MELHORAMENTO
GENÉTICO DE PLANTAS**

JÉSSICA DAMASCENO RODRIGUES

Caracterização de cultivares de algodão tolerantes ao estresse hídrico baseada em variáveis de crescimento e na atividade das enzimas antioxidativas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Melhoramento Genético de Plantas

Orientação: Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho

Co-orientação: Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos

Recife - PE

2016

JÉSSICA DAMASCENO RODRIGUES

Caracterização de cultivares de algodão tolerantes ao estresse hídrico baseada em variáveis de crescimento e na atividade das enzimas antioxidativas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Melhoramento Genético Vegetal

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: ____/____/2016

Orientador:

Prof. Dr. ***Péricles de Albuquerque Melo Filho***

Departamento de Agronomia - UFRPE

Examinadores:

Prof. Dr. ***José Luiz Sandes de Carvalho***

Departamento de Agronomia - UFRPE

Prof. Dra. ***Carlíane Rebeca Coelho Silva***

Departamento de Ciências Biológicas - UFPB

DEDICATÓRIA

“Nenhum obstáculo é grande demais quando confiamos em Deus”

A minha mãe, *Vania Maria Damasceno Silva*, por se fazer presente em minha vida em todos os momentos, pelo amor incondicional, pelos esforços em prol da minha criação, do meu bem-estar e educação, pelo exemplo de força de vontade e luta.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a *Deus*, por me conceder a oportunidade de vivenciar mais essa conquista.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), particularmente ao Programa de Melhoramento Genético de Plantas, Departamento de Agronomia, seus professores, funcionários e apoio ao curso de pós-graduação.

A CAPES pelo apoio financeiro concedido para o desenvolvimento deste trabalho.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pela estrutura e recursos cedidos, que foram imprescindíveis na conclusão desse trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho pela confiança e pelos conhecimentos.

A minha co-orientadora, Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos, por todos os ensinamentos, pela confiança, por ter me cedido parte do seu tempo e dos seus conhecimentos, pela amizade e por todo o apoio necessário para a realização deste trabalho.

A Dra Carliane Coelho pelos ensinamentos, contribuições, paciência e pela amizade.

Ao Dr. José Luiz Sandes pelos ensinamentos e contribuições.

Aos pesquisadores da Embrapa-Algodão Dr José Jaime Vanconcelos, Dra Rosa Freire, Dra Liziane de Lima e Dr Francisco Farias, pelos conhecimentos que me foram passados, pela ajuda e pela amizade.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa, especialmente Marília, Jean, Fátima, Vandrê, Taíza, Terezinha, Daniela, Samara, Rennan, Welison, Valesca e Fábila pelo suporte, amizade construída, paciência, momentos de descontração e conhecimentos compartilhados.

Aos colegas do Laboratório de Expressão Gênica (LABEG) da UFRPE, especialmente Jacqueline Pereira e Yrlânia Guerra pela ajuda e conhecimentos compartilhados.

As minhas amigas, em especial Carisa, Débora, Jaci, Herla e Meriam, pela compreensão do meu afastamento nessa fase, pelas palavras de incentivo, pela amizade e ajuda.

A Roberto Barros, pela paciência, apoio, incentivo, ajuda, amor e companheirismo.

A minha mãe, Vania Damasceno, pela força que sempre me deu, apoio, dedicação, pela minha educação, compreensão, amor, cuidado, por tudo que sou.

Ao meu padrasto, Eduardo Macedo, a mãe dele, Maria do Carmo e sua tia, Lúcia, por acreditar em mim, pelo incentivo e ajuda.

Ao meu pai, Wilson Rodrigues, pela ajuda, incentivo e apoio.

A todos os meus familiares, pela torcida e pelo carinho.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, seja diretamente ou indiretamente.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	x
ABSTRACT	1
RESUMO	2
1. INTRODUÇÃO	3
Capítulo I - Revisão Bibliográfica	6
2.1 Alterações orgânicas em plantas geradas por mudanças ambientais	7
2.2 O efeito dos estresses abióticos na lavoura algodoeira	11
2.3 Análise de divergência genética e métodos multivariados	14
3. REFERÊNCIAS	16
Capítulo II - Caracterização de cultivares de algodão tolerantes ao estresse hídrico baseada em variáveis de crescimento e na atividade das enzimas entoxidativas	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODOS	32
Recursos genéticos e condução experimental	32
Análises bioquímicas	34
Análise estatística e modelos multivariados adotados	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
CONCLUSÃO	43
CONFLITO DE INTERESSES	44
REFERÊNCIAS	44

Lista de Figuras

- Figura 1.** Atividade enzimática da SOD (A), CAT (B) e APX (C) em cultivares de algodão submetidas a sete dias de supressão hídrica, no início do ciclo reprodutivo.....39
- Figura 2.** Dispersão gráfica para nove genótipos de algodão submetidos a sete dias de estresse hídrico a partir de variáveis canônicas.....42
- Figura 3.** Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, a partir da matriz de dissimilaridade gerada entre nove genótipos de algodão submetidos a estresse hídrico.....43

Lista de Tabelas

Tabela 1. Características dos genótipos usados no trabalho	33
Tabela 2. Quadrados médios obtidos pelas análises de variância das variáveis agronômicas registradas em genótipos de algodão submetidos à supressão hídrica	36
Tabela 3. Médias da altura da planta (AP), número de folhas (NF) e comprimento da raiz (CR) em plantas de algodão submetidas à supressão hídrica de sete dias	36
Tabela 4. Quadrados médios (QM) para as enzimas antioxidativas em cultivares de algodão submetidos à supressão hídrica	38
Tabela 5. Autovalores (variâncias), percentuais de variância isolada e acumulada das variáveis canônicas obtidas a partir da matriz formada pelas variáveis agronômicas e bioquímicas em genótipos de algodão submetidos ao estresse hídrico	41

LISTA DE ABREVIATURAS

SOD	superóxido dismutase
APX	ascorbato peroxidase
CAT	catalase
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
NBT	nitroazul de tetrazólio
ROS	espécies reativas de oxigênio
$^1\text{O}_2$	oxigênio singleto
$\text{O}_2\bullet$	superóxido
$\text{OH}\bullet$	radical hidroxila
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
O_2	oxigênio molecular
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
MF	massa fresca

ABSTRACT

Because of climate change is increasingly frequent on the planet, agriculture is suffering various impacts due to dependence on environmental factors. The drought has been one of the abiotic factors that have most contributed to reduction in crops production. The cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is one of the most cultivated species worldwide, exerting an important socio-economic role, particularly for the use of fiber in the textile industry. In order to identify materials with the ability to tolerate water stress conditions, this study evaluated cotton cultivars based on growth and biochemistry variables. At 45 days after emergence, nine cotton genotypes (FMT 705, FM 966, BRS Rubi, BRS 286, FMT 701, CNPA ITA 90, CNPA 5M, CNPA 7MH, BRS Seridó), herbaceous and arboreal sizes, underwent water stress for a period of seven days in a greenhouse at Embrapa-Algodão. The cultivation was performed in 5 liter pots containing sandy soil previously fertilized according to the recommendations of the culture. The experimental design was completely randomized, with bi-factorial 9 x 2 (9 genotypes x 2 water treatment), with four replications. The analyzed growth variables were plant height, stem diameter, number of leaves, length and weight of the roots. The assessed biochemical variables were the antioxidative activity of enzymes: SOD, CAT and APX, estimated by spectrophotometry. The cultivars were classified adopting multivariate methods, through the canonical variables and cluster analysis via UPGMA. It was observed that the stress imposed affected all genotypes, although shown different responses. However, the most suitable materials have the ability to grow even in the face of drought that have been submitted and also included best performance of antioxidant enzymes to prevent cellular damage. Under these conditions, the most adapted genotypes were BRS 286, CNPA 7MH and CNPA 5M, considered as the best candidates for hybridizations aiming tolerance to semiarid environments.

Keywords: cotton, water stress, antioxidant enzyme

RESUMO

Em virtude das mudanças climáticas cada vez mais frequentes no planeta, a agricultura está sofrendo vários impactos, devido à dependência dos fatores ambientais. A seca tem sido um dos fatores abióticos que mais tem contribuído para redução na produção das lavouras. O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das espécies mais cultivadas mundialmente, exercendo um importante papel socioeconômico, principalmente pela utilização das fibras na indústria têxtil. Com o intuito de identificar materiais com habilidade de tolerar condições de estresse hídrico, o presente trabalho avaliou cultivares de algodoeiro baseado em variáveis de crescimento e bioquímicas. Aos 45 dias após a emergência, nove genótipos de algodoeiro (FMT 705, FM 966, BRS Rubi, BRS 286, FMT 701, CNPA ITA 90, CNPA 5M, CNPA 7MH, BRS Seridó), de portes herbáceos e arbóreos, foram submetidos a estresse hídrico por um período de 7 dias em casa de vegetação, na Embrapa-Algodão. O plantio foi realizado em vasos de 5 litros, contendo solo arenoso, previamente fertilizado de acordo com as recomendações da cultura. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com esquema bi-fatorial 9 x 2 (9 genótipos x 2 tratamentos hídricos), com quatro repetições. As variáveis de crescimento analisadas foram: altura da planta, diâmetro da haste, número de folhas, comprimento e peso das raízes. As variáveis bioquímicas avaliadas foram a atividades antioxidativas das enzimas: SOD, CAT e APX, estimadas por espectrofotometria. As cultivares foram classificadas adotando-se métodos multivariados, por meio das variáveis canônicas e análise de agrupamento via UPGMA. Observou-se que o estresse imposto afetou todos os genótipos, embora tenham demonstrado respostas distintas. Contudo, os materiais mais adaptados têm a habilidade de crescer mesmo diante do déficit hídrico a que foram submetidos e, ainda, constam melhor atuação das enzimas antioxidantes para evitar os danos celulares. Nessas condições, os genótipos que melhor se adaptaram foram BRS 286, CNPA 7MH e CNPA 5M, sendo os melhores candidatos para hibridações visando tolerância a ambientes semiáridos.

Palavras chave: algodoeiro, déficit hídrico, enzimas antioxidativas

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas no planeta têm sido observadas cada vez mais frequentemente ao longo das décadas. Em decorrência disso, lavouras das mais diversas culturas estão sendo afetadas em todo o mundo, já que o cultivo é dependente de fatores ambientais. Dentre essas alterações, a seca constitui um dos principais fatores que limitam a produtividade das culturas, sendo um fenômeno cada vez mais comum, até mesmo em regiões as quais a ocorrência não havia sido anteriormente observada. Desse modo, a agricultura está sofrendo grandes impactos pela escassez pluvial que vem acometendo as áreas produtoras (MORAES et al., 2011).

A água é um componente de grande importância para os vegetais, sendo necessária para a manutenção das atividades fisiológicas e metabólicas vitais para a planta. Durante a seca, a baixa disponibilidade hídrica no solo prejudica o crescimento e desenvolvimento vegetal (VERSLUES et al., 2006).

De modo geral, sob condições de estresse hídrico, as respostas das plantas envolvem principalmente, fechamento estomático, reduzindo a transpiração, redução no transporte de assimilados, da fotossíntese, na divisão e expansão celular, provocando diminuição no crescimento de estruturas como folhas e caule, redução da respiração, condutância estomática, entre outros (FERRARI et al., 2015). Os efeitos na planta dependem da intensidade e duração do estresse hídrico, da fase de desenvolvimento e do genótipo (WILLADINO e CAMARA, 2010).

Ao mesmo tempo, as plantas desenvolvem mecanismos morfológicos, fisiológicos e moleculares a fim de se adaptarem as condições de déficit hídrico. Sendo assim, a capacidade de tolerância de uma planta depende dessas respostas (BHARGAVA e SAWANT, 2013; BRAY, 2001).

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) é uma planta que pertence à família Malvaceae que possui mais de 50 espécies descritas na literatura. Constitui uma das principais culturas de valor econômico do mundo, sendo a fibra o seu principal produto e bastante utilizada na indústria têxtil. O Brasil é o quinto maior produtor mundial e concentra a produção, sobretudo, na região de cerrado do Centro Oeste e do cerrado e semiárido da Bahia dada à sua tolerância ao déficit hídrico (CARVALHO et al., 2015; CONAB, 2015; SOUZA, 2000; ROSENOW et al., 1983).

As plantas de algodão demandam maior quantidade de água principalmente no período pouco antes e durante a floração (REICHARDT, 1990). Na fase vegetativa, ocorre redução do crescimento da raiz e da parte aérea, sendo a última, normalmente mais afetada, resultando no decréscimo da relação do peso parte aérea/raiz (PACE et al., 1999; BALL et al., 1994). Durante a frutificação, a escassez hídrica afeta as estruturas reprodutivas, prejudicando a produção e a qualidade das fibras (LUZ et al., 1997).

Do ponto de vista celular, o estresse hídrico promove o aumento da produção, gerando acúmulo das espécies reativas de oxigênio (ERO), como o oxigênio singlete (1O_2), o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^{\bullet}), causando danos oxidativos em organelas, membranas, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Visando equilibrar a produção das EROs, as células dispõem de sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos. (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; BARBOSA et al., 2010; SCANDALIOS et al., 2000; D'AUTRÉAUX e TOLEDANO, 2007).

O sistema antioxidante enzimático incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD) - a primeira via de neutralização, que dismuta o superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), catalase (CAT) – converte o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2) e ascorbato peroxidase (APX) – que decompõe o peróxido de hidrogênio, utilizando o ascorbato como doador de elétrons para formação de água mais um substrato oxidado denominado monodihidroascorbato. As respostas das plantas em relação a esse sistema variam de acordo com cada genótipo, sendo o mais adaptado ao estresse aquele que tem a biossíntese das enzimas mais ajustada (MONTAVON et al., 2006; ALSCHER et al., 2002; SHIGEOKA et al., 2002).

Em virtude da ocorrência cada vez mais frequente da seca em regiões produtoras de algodão, empresas de pesquisa têm desenvolvido estudos visando à identificação de materiais com capacidade de tolerar o estresse hídrico. Deste modo, se faz necessária a busca por genótipos de algodoeiro tolerantes as condições de baixa disponibilidade hídrica (FIEGENBAUM et al., 1991).

Portanto, no presente trabalho, foram utilizados métodos multivariáveis, adotando-se as variáveis canônicas e agrupamento hierárquico UPGMA para a análise da similaridade genética entre nove genótipos de algodão, com base em descritores agronômicos e bioquímicos, com intuito de selecionar genótipos de

algodão com capacidade de tolerar estresse hídrico na fase inicial do ciclo reprodutivo.

Capítulo I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alterações orgânicas em plantas geradas por mudanças ambientais

Mudanças climáticas sempre foram comuns no planeta ao longo de décadas. Essas alterações são advindas de vários processos, tanto geológicos como tecnológicos, todos gerando desequilíbrio na sazonalidade (VAZ, 2010). No aspecto tecnológico, os vários benefícios que foram gerados a partir do desenvolvimento de novos processos biotecnológicos, favorecendo o desenvolvimento industrial e agropecuário, capitalizaram, de certo modo, negativamente para o desequilíbrio ambiental da fauna e flora. As práticas agropecuárias intensivas, o uso massivo de combustíveis fósseis, o desmatamento e queima de biomassa, entre outros, contribuíram para elevação da emissão de gases na atmosfera, alterando concentrações, e como consequência, causando o aumento do “efeito estufa” (CONTI, 2005). Tal evento causa um crescente aumento na temperatura do ar, devido ao impedimento na dissipação de calor. Como consequência, tal alteração promove mudanças associadas, como, por exemplo, nos padrões de distribuição e intensidade de chuvas, de ventos e elevação dos níveis dos oceanos (BEYRUTH, 2008).

A agricultura é um dos segmentos mais afetados pelas mudanças climáticas, porque a produção das lavouras é altamente dependente de diversos fatores ambientais e mudanças drásticas, especialmente em germoplasma não adaptado, representam risco para a agricultura ou preservação da espécie (MARTINS et al., 2010; WILLADINO e CÂMARA, 2010). No aspecto orgânico, a planta se apresenta sob estresse quando determinados fatores externos provocam uma tensão que resulta em alterações nas suas atividades normais de equilíbrio (SOARES e MACHADO, 2007). Isso porque, ao serem submetidas a algum tipo de estresse, as plantas desenvolvem diversos mecanismos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares de defesa, os quais foram adquiridos naturalmente ao longo da sua evolução, para se adaptar as novas condições (ANJUM et al., 2011; WILLADINO e CÂMARA, 2010).

Focalizando no estresse hídrico, a fase vegetativa é a mais crítica, pois durante esse período, a planta intensifica as atividades metabólicas e o requerimento de energia para formação de novas células e tecidos, que antecedem a fase reprodutiva (LAWLOR e LEACH, 1985). A supressão hídrica durante a fase vegetativa provoca alterações na divisão e expansão celular, no crescimento das folhas e hastes, redução nas taxas de fotossíntese e respiração, retardo na

absorção e assimilação de nutrientes, perda de turgidez, da condutância estomática, aceleração da senescência e da abscisão foliar. Na fase reprodutiva, a deficiência hídrica provoca acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que resultam em distúrbios na formação das estruturas reprodutivas, alteração no fluxo de floração, abscisão das flores e frutos, entre outros (DUARTE, 2012; FAROOQ et al., 2009; SANTOS e CARLESSO, 1998; LAWLOR e LEACH, 1985).

No geral, as respostas das plantas ao estresse hídrico dependem do genótipo, da intensidade e duração do estresse e da fase fenológica em que se encontra (WILLADINO e CÂMARA, 2010; CALBO e MORAES, 2000; SANTOS e CARLESSO, 1998). Os níveis de tolerância da planta são determinados em função dos mecanismos que ela utiliza para lidar com esta condição. A literatura reporta uma série deles, tais como fechamento estomático, crescimento da raiz em profundidade, ajustamento osmótico, ativação do sistema antioxidante de defesa, entre outros (DUARTE, 2012; SILVA et al., 2012; BARBOSA et al., 2010; CALBO e MORAES, 2000).

De 95-98% do oxigênio absorvido pelos organismos aeróbicos sofre uma reação química de redução para formar água, por meio do processo respiratório, na mitocôndria. Nesta reação, são fornecidos quatro elétrons para o oxigênio e formam-se duas moléculas de água. O restante do oxigênio é reduzido univalentemente, ou seja, recebe somente um elétron durante a reação, gerando espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species*, ROS), que podem constituir os radicais livres. Estes radicais livres tem grande capacidade reativa, pois têm um ou mais elétrons livres na sua órbita externa, possibilitando a captação de elétrons de compostos próximos, no qual desencadeia reações na célula que podem causar danos, sendo deste modo, denominadas substâncias oxidantes. Portanto, a formação dessas substâncias durante a respiração é um fenômeno natural (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989).

O fechamento dos estômatos é um processo fisiológico que acontece nas plantas sob estresse hídrico, em função do aumento dos teores de ácido abscísico (ABA) no xilema, a fim de evitar perdas de água pela transpiração (DAVIES e ZHANG, 1991). Em consequência disso, há redução na absorção de CO₂, que além de reduzir a fotossíntese, causa o direcionamento dos elétrons para a formação das ROS, geradas, sobretudo, nos cloroplastos, nas mitocôndrias e nos peroxissomos, a partir dos processos de fotossíntese e respiração (FAROOQ,

2009). Essas espécies são formadas pela redução incompleta do O_2 por elétrons e incluem o oxigênio singleto (1O_2), o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o qual apresenta baixa capacidade oxidativa, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode romper a membrana nuclear e causar danos a molécula de DNA e radical hidroxila (OH^{\bullet}), que apresenta alta reatividade (BARBOSA et al., 2010; D'AUTRÉAUX e TOLEDANO, 2007).

Embora os ROS sejam produzidos naturalmente para atuar no metabolismo normal das células, ao serem submetidas a algum estresse ambiental, as plantas respondem produzindo ROS em excesso, que se acumulam nas células, originando um estresse oxidativo (CHENG et al., 2015; SOARES e MACHADO, 2007). Segundo Karuppanapandian et al. (2011), as ROS podem causar morte celular em plantas devido a inativação de enzimas fundamentais no metabolismo, além de danos nas organelas celulares e destruição das membranas pela degradação de pigmentos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos.

A célula possui um sistema eficiente de compostos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos capazes de equilibrar os níveis de ROS nas células, promovendo um balanceamento entre a produção de ROS e a atividade antioxidante, de modo a neutralizar a citotoxicidade (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; BARBOSA et al., 2010). Esse sistema é genótipo dependente, de modo que plantas mais tolerantes possuem uma biossíntese mais ajustada. Nesta rota, estão envolvidas enzimas como: a) superóxido dismutase (SOD) - que inicia o processo de neutralização e atua como catalisadora da dismutação do superóxido ($O_2^{\bullet-}$) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). Esta enzima pode ocorrer em três formas moleculares, apresentando os metais Mn, Fe ou Cu/Zn, sendo a CuZn-SOD a mais abundante nos vegetais (BARBOSA, et al., 2014; ALSCHER et al., 2002; MALLICK e MOHN, 2000); b) catalase (CAT) - é encontrada sobretudo nos peroxissomos, embora esteja presente também nas mitocôndrias e no citoplasma e promove a inativação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é formado principalmente durante o processo de fotorrespiração, convertendo-o a água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2) (MONTAVON et al., 2006; HELDT e HELDT, 2005) e c) ascorbato peroxidase (APX) é uma oxidoredutase cuja reação de decomposição do peróxido é feita com o ascorbato, que atua como redutor, doando elétrons, para formação de água mais um substrato oxidado denominado monodihidroascorbato (SHIGEOKA et al., 2002).

O ajustamento osmótico é o mecanismo pelo qual a planta reduz o potencial osmótico a fim de manter a turgescência celular através do acúmulo intracelular de diversos solutos, que conseqüentemente auxilia na manutenção da fotossíntese e da abertura estomática e outras atividades fisiológicas de grande importância, ainda que sejam inevitavelmente reduzidas, em condições de solos com baixo potencial hídrico (CALBO e MORAES, 2000; LAWLOR e LEACH, 1985).

No aspecto de crescimento, a deficiência hídrica afeta toda morfologia da planta durante sua fenologia sendo os efeitos mais visíveis na altura das plantas, na cobertura vegetal e nas raízes, que são as primeiras receptoras do estresse. Como resposta ao evento, a massa e volume radicular se alteram de modo a se ajustarem a deficiência hídrica, reduzindo o volume radial e aprofundando-se no solo em busca de umidade. Essa habilidade é mais expressiva em plantas tolerantes (SILVA et al., 2011; BALL et al., 1994).

Baldo et al. (2009) realizaram um experimento com algodoeiro da cultivar Delta Opal, no qual impuseram estresse hídrico nas plantas com durações de 15, 30 e 45 dias, aos 69 dias após a semeadura. O tratamento com deficiência hídrica constituiu de 25% do volume total dos poros preenchidos de água. Foi observado que houve reduções na altura da planta, diâmetro da haste, número de folhas, área foliar e massa fresca da parte aérea, demonstrando que o déficit hídrico afetou o crescimento da parte aérea. Em resposta à deficiência hídrica, ocorre abscisão foliar e redução da superfície foliar, decorrente da inibição da expansão celular a fim de reduzir a transpiração e conservar maior quantidade de água por mais tempo.

Em um estudo realizado por Pace et al. (1999) com duas cultivares de algodão, submetidas a 13 dias de supressão hídrica, iniciado aos 36 dias, foi observado que as plantas estressadas exibiram raízes primárias mais alongadas em relação as plantas irrigadas, embora os pesos das raízes não tenham diferido estatisticamente, indicando que a matéria seca das raízes foi preferencialmente direcionada pra aumentar o comprimento das raízes em ambos os genótipos submetidos ao estresse hídrico. Esses resultados demonstram outro tipo de resposta comum em plantas sob condições de seca, o aprofundamento do sistema radicular em busca de água no solo, sendo constantemente relacionado com tolerância ao estresse hídrico.

Ao submeterem a cultivar de algodoeiro Acala SJ-2 a cinco regimes de umidade do solo (20, 40, 60, 80 e 100% da capacidade do vaso), Plaut et al. (1996) observaram que o crescimento da raiz foi mantido até 40% de umidade do solo, sendo menos sensível em condições de déficit hídrico do que o crescimento da parte aérea.

Geralmente, o estresse hídrico causa um aumento na relação raiz/parte aérea, ou seja, o crescimento da parte aérea da planta é mais afetado que o crescimento radicular, como forma de reduzir a superfície transpirante e, conseqüentemente, diminuir as perdas de água (PACE et al., 1999; PLAUT et al., 1996).

2.2 O efeito dos estresses abióticos na lavoura algodoeira

O algodoeiro é uma lavoura de grande valor na economia brasileira. Trata-se de uma malvácea, do gênero *Gossypium*, com mais de 50 espécies já descritas, sendo *G. barbadense* e *G. hirsutum* as de maior valor comercial (CARVALHO et al., 2015; ZHANG, 2008). A planta é de crescimento indeterminado, com ciclo variando entre 120 e 180 dias e com larga plasticidade genética para adaptar-se à ambientes com baixa disponibilidade hídrica (OLIVEIRA et al., 2009).

O algodoeiro tem como principal produto a fibra, sendo utilizada como matéria prima para a indústria têxtil (CARVALHO et al., 2015). A maior produção está concentrada na região dos cerrados do Centro Oeste e na Bahia, que concentram aproximadamente 94% da produção nacional, registrada em 3911,4 mil toneladas (CONAB, 2015).

Os dois principais ecossistemas onde se localiza o algodão no Brasil são compostos por climas de cerrados e semiárido. O cerrado brasileiro é uma savana rica em biodiversidade, vegetação com troncos e ramos retorcidos, cascas espessas e folhas grossas, composta por árvores relativamente baixas, distribuídas entre arbustos e gramíneas. É localizado principalmente no Planalto Central e o clima é tropical chuvoso, classificado como Aw por Köppen, com ocorrência de invernos secos e verões chuvosos (IBGE, 2016; CAMILO et al., 2013).

A região semiárida, por sua vez, é caracterizada principalmente por aridez do clima, pela escassez hídrica com longo período seco e altas temperaturas durante o ano e presença de solos pobres em matéria orgânica. Seu território abrange quase 90% da área total do Nordeste mais a região setentrional de Minas

Gerais. Na área de abrangência do semiárido predomina o bioma da caatinga, com vegetação seca e espinhosa, pela falta de precipitações (IBGE, 2016; SILVA, 2007).

A seca é um sério problema abiótico que acomete as lavouras, independentemente da região de cultivo, constituindo um fator limitante no crescimento e produtividade vegetal (NOGUEIRA et al., 2001). No caso do algodoeiro, o déficit hídrico pode chegar a comprometer o rendimento e a qualidade da fibra (SUN et al., 2015).

As cultivares de algodão cultivadas no Brasil são oriundas das subsp. *G. hirsutum* L. var. *latifolium* Hutch, que é do tipo herbáceo, e *G. hirsutum* L. var. *marie-galante* Hutch, de tipo mais arbustivo, também conhecido como “mocó”, de larga adaptação em alguns locais da Amazônia e na região Nordeste (LERAYER, 2009).

O algodão conhecido como mocó é uma espécie perene, de porte arbóreo e ciclo longo. As fibras são longas e resistentes, de alto valor comercial. Os genótipos dessa subespécie toleram bem ambientes semiáridos, sendo, portanto, bem adaptados ao Nordeste brasileiro (SOUZA E SILVA, 1994; MOREIRA et al., 1989).

A região Nordeste já foi no passado uma das principais produtoras de fibra de algodão, onde o manejo era procedido na estação das chuvas em regime de sequeiro. A partir da década de 80, a cotonicultura da região decresceu gradativamente, devido a problemas de mercado e a entrada do bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) no Brasil, em 1983 (SILVA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 1999; MOREIRA, et al., 1989). Em resposta aos problemas de natureza agronômica, as empresas de pesquisa, especialmente a Embrapa, focalizaram em tecnologias que permitissem o soerguimento do algodão em nível nacional, destacando-se entre elas a geração de cultivares precoces e adaptadas as condições dos cerrados, que seriam, daí por diante, a nova fronteira cotonícola do país (MORELLO et al., 2008).

Com relação à problemática da seca em regiões produtoras de algodão no país, o melhoramento genético do algodoeiro no Brasil busca selecionar genótipos produtivos e adaptados às condições edafoclimáticas locais para posteriormente utiliza-los como fonte genética para o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao estresse hídrico. Nesse sentido, há diversos trabalhos relacionados com os

mecanismos bioquímicos, fisiológicos e moleculares de tolerância a seca do algodoeiro (ECHER et al., 2010). Estes estudos envolvem experimentos conduzidos em ambientes controlados, com suspensão da água das plantas, por períodos semelhantes aos veranicos que ocorrem nos locais onde os genótipos são comumente cultivados (DUARTE et al., 2013).

O programa de melhoramento genético do algodão conduzido pela Embrapa tem focalizado na produtividade das cultivares e na qualidade das fibras de modo a atender as demandas dos mercados têxtil e de beneficiamento. Considerando as variações ambientais que tem sido registradas nas zonas produtoras de algodão, um enfoque para identificação de materiais com habilidade para tolerar as intempéries hídricas tem sido acentuado, de modo aumentar o lastro de adaptação ambiental das cultivares desenvolvidas (FREIRE et al., 2008).

Alguns autores relacionam o caráter de tolerância do algodoeiro ao estresse hídrico às características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares como taxa de crescimento, fotossíntese, ajustamento osmótico, condutância estomática, conteúdo de prolina, atividade das enzimas antioxidantes (HAFEEZ et al., 2015; SEKMAN et al., 2014; ZHANG et al., 2014; PETTIGREW, 2004; KUMAR et al., 2001; LEIDI et al., 1993), utilizando-as como parâmetros na seleção dos genótipos tolerantes.

Hafeez et al. (2015) realizaram um estudo comparativo entre duas variedades, de *G. arboreum* e *G. hirsutum*, avaliando parâmetros fisiológicos, morfológicos, bioquímicos e moleculares sob diferentes níveis de estresse hídrico, iniciados aos 45 dias após a germinação. Nesse estudo, foi observada redução de altura e da biomassa vegetal em ambas as variedades, contudo, as plantas que tiveram os maiores percentuais de altura e biomassa, foram menos afetadas. Essa queda da biomassa foi atribuída à redução na atividade fotossintética e outras reações metabólicas provocadas pelo estresse hídrico.

Os níveis de MDA nos tecidos vegetais estão relacionados com a peroxidação de lipídeos que causa danos as membranas celulares, decorrente da supressão hídrica. Nesse caso, a variedade com maiores níveis de MDA e juntamente com maior dispersão de íons, demonstraram maiores níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), sofrendo maiores danos pelo estresse. Com base nestes e nos demais parâmetros avaliados, a variedade de algodão da espécie *Gossypium arboreum* foi mais tolerante à seca (HAFEEZ et al., 2015).

Sekmen et al. (2014) conduziram um experimento com algodoeiro no qual avaliaram as respostas fisiológicas e bioquímicas de duas cultivares, sendo uma tolerante e a outra sensível, ao serem submetidas à dez dias de déficit hídrico iniciado aos 21 dias após a germinação. Em relação à taxa de crescimento, os autores verificaram que a cultivar tolerante foi menos afetada pelo estresse hídrico, com um menor decréscimo no crescimento em relação a sensível. A peroxidação de lipídeos, bem como o conteúdo de peróxido, aumentou nas plantas estressadas, mas a cultivar sensível foi mais afetada que a tolerante. Quanto às atividades das enzimas antioxidativas analisadas nesse estudo, verificou-se que a atividade das enzimas SOD, CAT e APX nas plantas sob estresse hídrico aumentou no genótipo tolerante quando comparadas com as plantas irrigadas, indicando que as atividades antioxidantes das enzimas foram eficientes em eliminar as espécies reativas de oxigênio na cultivar tolerante, utilizadas como um eficiente mecanismo de tolerância.

Pelo fato da tolerância à seca tratar-se de uma característica quantitativa, ou seja, controlada por diversos genes, sofre grande influência ambiental, apresentando uma complexa herança e por isso requer estudos aprofundados, além de grande demanda de tempo para a obtenção de cultivares tolerantes e produtivas (QUISENBERRY et al., 1981). Deste modo, embora haja alguns trabalhos nesse sentido, é necessário que seja feita uma busca constante pela identificação genótipos de algodoeiro tanto arbóreo como herbáceo, que apresentem características favoráveis para o produtor mesmo em ambientes com baixa disponibilidade hídrica e que possam ser utilizados como fonte de recurso genético para os programas de melhoramento nesse segmento (PEREIRA et al., 2013).

2.3 Análise de divergência genética e métodos multivariados

A análise da divergência genética consiste na estimativa da distância genética entre genótipos, a fim de selecionar progenitores geneticamente divergentes e com características agrônomicas complementares, de modo que, ao serem cruzados, possa ser obtido maior efeito de heterose na progênie, ampliando a variabilidade genética e possibilitando a obtenção de genótipos superiores na população segregante (SUDRÉ et al., 2005; VIDIGAL et al., 1997).

Na predição da divergência genética, normalmente são empregados métodos multivariáveis, pois possibilita que a escolha dos genitores seja feita considerando um grande número de características simultaneamente, contribuindo efetivamente para identificação de genótipos para serem utilizados nos programas de melhoramento. Dentre esses métodos, pode ser utilizada a análise por componentes principais, variáveis canônicas ou métodos aglomerativos (SUDRÉ et al., 2007; SUNDRÉ et al., 2005; VIDIGAL et al., 1997).

Os agrupamentos destacam-se como uma das técnicas de predição da divergência genética, na qual os acessos são reunidos de acordo com a similaridade no padrão de comportamento baseando-se num conjunto de variáveis. Os materiais são divididos em grupos de modo que haja homogeneidade dentro deles e heterogeneidade entre eles. O agrupamento por métodos hierárquicos visa a obtenção de um dendograma, sendo o mais utilizado o UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), que baseia-se na ligação média não ponderada entre os grupos. A distância generalizada de Mahalanobis (D^2) é uma medida de dissimilaridade que considera as correlações entre as variáveis e tem a necessidade que haja repetições das variáveis avaliadas nos experimentos, podendo servir de base para o agrupamento hierárquico UPGMA (CRUZ et al., 2012; RESENDE, 2007; CRUZ, 2006).

Na predição da divergência genética pode ser adotado também o método de dispersão gráfica, que avalia a similaridade entre os genótipos em um plano cartesiano. Nesse método, podem ser empregadas variáveis canônicas, que possibilita que seja considerada tanto a matriz de covariância residual quanto a de covariância fenotípica entre os caracteres avaliados, de forma semelhante da distância de Mahalanobis (RESENDE, 2007; CRUZ et al., 2012).

A análise da divergência genética, tomando por base técnicas de análise multivariada, tem auxiliado efetivamente os melhoristas, tornando-se de grande importância nos programas de melhoramento, tendo contribuído na classificação dos genótipos em grupos e na escolha de progenitores com características desejáveis para hibridação e contribuído para a conservação e utilização dos recursos genéticos disponíveis (VIEIRA et al., 2007; SHIMOYA et al., 2002; NASCIMENTO FILHO et al., 2001; MALUF e FERREIRA, 1983).

3. REFERÊNCIAS

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331-1341, 2002.

ANJUM, S. A.; XIE, X.; WANG, L.; SALEEM, M. F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

BALDO, R.; SCALON, S. P. Q.; ROSA, Y. B. C. J.; MUSSURY, R. M.; BETONI, R.; BARRETO, W. S. Comportamento do algodoeiro cultivar Delta Opal sob estresse hídrico com e sem aplicação de bioestimulante. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 33, p. 1804-1812, 2009.

BALL, R. A.; OOSTERHUIS, D. M.; MAUROMOUSTAKOS, A. Growth dynamics of the cotton plant during water-deficit stress. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 788-795, 1994.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BEYRUTH, Z. Água, agricultura e as alterações climáticas globais. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**. São Paulo, v. 1, n. 1, p. 74-89, 2008.

BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, v. 132, p. 21-32, 2013.

BRAY, E. A. Plant response to water-deficit stress. **Encyclopedia of Life Sciences**. p. 1-5, 2001.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleraceae* (açai). **Revista Brasileira Botânica**, v. 23, n. 3, p. 225-230, 2000.

CAMILO, Y. M. V.; SOUZA, E. R. B.; VERA, R.; NAVES, R. V. Fenologia, produção e precocidade de plantas de *Eugenia dysenterica* visando melhoramento genético. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 36, n. 2, p. 192-198, 2013.

CARVALHO, L. P.; SALGADO, C. C.; FARIAS, F. J. C.; CARNEIRO, V. Q. Estabilidade e adaptabilidade de genótipos de algodão de fibra colorida quanto aos caracteres de fibra. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 45, n. 4, 2015.

CHENG, X.; GAO, D.; SONG, J.; REN, F.; MAO, X. Casein glycomacropeptide hydrolysate exerts cytoprotection against H₂O₂-induced oxidative stress in RAW 264.7 macrophages via ROS- dependent heme oxygenase-1 expression. **The Royal Society of Chemistry**. v. 5, p. 4511-4523, 2015.

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas de Área plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras de 2014/2015 de Grãos.** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>. Acesso em: 20 de dezembro de 2015.

CONTI, J. B. Considerações sobre as mudanças climáticas globais. **Revista do Departamento de Geografia**, n. 16, p. 81-88, 2005.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: análise multivariada e simulação.** Viçosa-MG, Ed. UFV, 175 p., 2006.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 4^o ed. Viçosa: UFV, 514 p., 2012.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, p.813-824, 2007.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 42, p. 55-76, 1991.

DUARTE, A. L. M. Efeito da água sobre o crescimento e o valor nutritivo das plantas forrageiras. **Pesquisa & Tecnologia.** v. 9, n. 2, 2012.

DUARTE, E. A. A.; MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. Características agrônômicas e índice de colheita de diferentes genótipos de amendoim submetidos

a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande. v. 17, n. 8, 2013.

ECHER, R. F.; CUSTÓDIO, C. C.; HOSSOMI, S. T.; DOMINATO, J. C.; MACHADO NETO N. B. Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 638-645, 2010.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S.M.A. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable and Development**. v. 29, p. 185-212, 2009.

FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Nativa**, v. 3, n. 1, p. 67-77, 2015.

FIEGENBAUM, V.; SANTOS, D. S. B.; MELLO, V. D. C.; SANTOS FILHO, B. G.; TILLMANN, M. A. A.; SILVA, J. B. Influência do déficit hídrico sobre os componentes de rendimento de três cultivares de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.2, p.275-280, 1991.

FREIRE, E. C.; MORELLO, C. L.; FARIAS, F. J. C.; SILVA FILHO, J. L.; VIDAL NETO, F. C.; PEDROSA, M. B.; SUINAGA, F. A.; COSTA, J. N.; ANDRADE, F. P. Objetivos e métodos usados nos programas de melhoramento do algodão. In Beltrão, N.E.M.; Azevedo, D.M.P. (eds.) **O agronegócio do algodão no Brasil**. 2nd ed., Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 299-323, 2008.

HAFEEZ, M. N.; SADIQUE, S.; HASSAN, S.; SARWAR, M. B.; RASHID, B.; ALI, Q.; HUSNAIN, T. Physiological, morphological, biochemical and molecular basis of drought tolerance in cotton. **International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 1091-1112, 2015.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1989, 543 p.

HELDT, H. W.; HELDT, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry**. San Diego: Academic, p. 435-454, 2005.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Disponível em: <http://7a12.ibge.gov.br/vamos-conhecer-o-brasil/nosso-territorio/biomas.html>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2016.

KARUPPANAPANDIAN, T.; JUN-CHEOL, M.; CHANGSOO, K.; KUMARIAH, M.; WOOK, K. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

KUMAR, B.; PANDEY, D. M.; GOSWAMI, C. L.; JAIN, S. Effect of growth regulators on photosynthesis, transpiration and related parameters in water stressed cotton. **Biologia Plantarum**, v. 44, n. 3, p. 475-478, 2001.

LAWLOR, D. W.; LEACH, J. E. **Leaf growth and water deficits: Biochemistry in relation to biophysics**. In Society for Experimental Biology (Baker, N.R., Davies, W.J. e Ong, C.K., eds.), Cambridge University Press, Cambridge, p. 267-294, 1985.

LEIDI, E. O.; LOPEZ, J. M.; LOPEZ, M.;GUTIERREZ, J. C. Searching for tolerance to water stress in cotton genotypes: photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. **Photosynthetica**, v. 28, p. 383-390, 1993.

LERAYER, A. et al. Guia do algodão - Tecnologia no campo para uma industria de qualidade, 2009. Disponível em: http://www.cib.org.br/pdf/guia_algodao.pdf. Acesso em: 29 de agosto de 2015.

LUZ, M. J. S.; BEZERRA, J. R. C.; BARRETO, A. N.; SANTOS, J. W.; AMORIM NETO, M. S. Efeito da deficiência hídrica sobre o rendimento e a qualidade da fibra do algodoeiro. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**. Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 125-133, 1997.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of alga cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, p. 183-193, 2000.

MALUF, W. R.; FERREIRA, P. E. Análise multivariada da divergência genética em feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Horticultura Brasileira**, v. 1, p. 31-34, 1983.

MARTINS, S. R.; SCHLINDWEIN, S. L.; D'AGOSTINI, L. R.; BONATTI, M.; VASCONCELOS, A. C. F.; HOFFMANN, A. F.; FANTINI, A. C. Mudanças climáticas e vulnerabilidade na agricultura: desafios para desenvolvimento de estratégias de mitigação e adaptação. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**. n. 17, p. 17- 27, 2010.

MONTAVON, P.; KUKIC, K. R.; BORTILIK, K. A simple method to measure effective catalase activities: Optimization, validation, and application in green coffee. **Analytical Biochemistry**, v. 360, p. 207-215, 2006.

MORAES, W. B.; JÚNIOR, J. W. C.; MORAES, W. B.; CECÍLIO, R. A. Potenciais impactos das mudanças climáticas globais sobre a agricultura. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 3-14, 2011.

MOREIRA, J. A. N.; FREIRE, E. C.; SANTOS, R. F.; NETO BARREIRO, M. **Algodoeiro mocó: uma lavoura ameaçada de extinção**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 20 p., 1989.

MORELLO, C. L.; DUARTE, J. B.; SILVA FILHO, J. L.; FREIRE, E. C.; SUASSUNA, N. D. Interação genótipo x ambiente em linhagens de algodoeiro desenvolvidas para condições de cerrado. **Revista brasileira de oleaginosas e fibrosas**, Campina Grande, v. 12, n. 2, p. 89-95, 2008.

NASCIMENTO FILHO, F. J.; ATROCH, A. L.; SOUSA, N. R.; GARCIA, T. B.; CRAVO, M. S.; COUTINHO, E. F. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 501-506, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleira submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 75-87, 2001.

OLIVEIRA, F. A. de; BEZERRA, J. R. C.; OLIVEIRA, B. C. Efeito do manejo da irrigação e de populações de plantas sobre o rendimento do algodoeiro herbáceo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 12, p. 2185-2191, 1999.

OLIVEIRA, T. S.; BONATTI, F. K. Q.; SILVA, C. J.; ABREU, C. L.; AGUIAR, E. F.; PEREIRA, C. M. C. Subprodutos do algodão na alimentação de bovinos. **PUBVET**, Londrina, v. 3, n. 6, art 509, 2009.

PACE, P. F.; CRALLE, H. T.; EL-HALAWANY, S. H. M.; COTHREN, J. T.; SENSEMAN, S. A. Drought-induced changes in shoot and root growth of young cotton plants. **The Journal of Cotton Science**. v.3, p. 183-187, 1999.

PEREIRA, H. S.; COSTA, A. F.; MELO, L. C.; PELOSO, M. J. D. FARIA, L. C.; WENDLAND, A. Interação entre genótipos de feijoeiro e ambientes no Estado de Pernambuco: estabilidade, estratificação ambiental e decomposição da interação. **Ciências Agrárias**. Londrina, v. 34, n. 6, p. 2603-2614, 2013.

PETTIGREW, W.T. Physiological Consequences of Moisture Deficit Stress in Cotton. **Crop Science**, v. 44, n. 4, p. 1265-1272, 2004.

PLAUT, Z.; CARMI, A.; GRAVA, A. Cotton root and shoot responses to subsurface drip irrigation and partial wetting of the upper soil profile. **Irrigation Science**, v. 16, n. 3, p. 107-113, 1996.

QUISENBERRY, J. E.; JORDAN, W. R.; ROARK, B. A.; FRYREAR, D. W. Exotic cottons as genetic sources for drought resistance. **Crop Science**, v. 21, n. 6, p. 889-895, 1981.

REICHARDT, K. **A água em sistemas agrícolas**. São Paulo, 186 p., 1990.

RESENDE, M. D. V. de. **Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no Melhoramento Genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 561 p., 2007.

ROSENOW, D. T.; QUISENBERRY, J. E.; WENDT, C. W.; CLARK, L. E. Drought tolerant sorghum and cotton germplasm. **Agricultural Water Management**, v. 7, n. 1, p. 207-222, 1983.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SCANDALIOS, J. G.; ACEVEDO, A.; RUZSA, S. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. **Plant Science**, v. 156, n. 1, p. 103-110, 2000.

SEKMEN, A. H.; OZGUR, R.; UZILDAY, B.; TURKAN, I. Reactive oxygen species scavenging capacities of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars under combined drought and heat induced oxidative stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 141-149, 2014.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAW, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1305–1319, 2002.

SHIMOYA, A.; CRUZ, C. D.; FERREIRA, R. P.; PEREIRA, A. V.; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética entre acessos de um banco de germoplasma de capim-efefante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 37, n. 7, 2002.

SILVA, H. A. P.; GALISA, P. S.; OLIVEIRA, R. S. S.; VIDAL, M. S.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L. Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijao-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 6, p. 797-807, 2012.

SILVA, I. P. F.; JUNIOR, J. F. S.; ARALDI, R.; TANAKA, A. A.; GIROTTO, M.; BOSQUÊ, G. G.; LIMA, F. C. C. Estudo das fases fenológicas do algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Eletrônica em Agronomia**, v. 10, n. 20, p. 1-10, 2011.

SILVA, M. N. B.; BELTRÃO, N. E de M.; CARDOSO, G. D. Adubação do algodão BRS em sistema orgânico no Seridó Paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 9, n. 2, p. 222-228, 2005.

SILVA, R. M. A. Entre o combate à seca e a convivência com o semi-Árido: políticas públicas e transição paradigmática. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 38, n. 3, p. 466-485, 2007.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 1, n. 1, p. 9-19, 2007.

SOUZA, J. G.; SILVA, J. V. Fenologia e fisiologia do algodoeiro arbóreo após a seleção para o acúmulo de amido nas raízes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 6, n. 2, p. 145-148, 1994.

SOUZA, M. C. M. A PRODUÇÃO DE TÊXTEIS DE ALGODÃO ORGÂNICO: uma análise comparativa entre o subsistema orgânico e o sistema agroindustrial convencional. **Agricultura em São Paulo**, v. 47, n. 2, p. 83-104, 2000.

SUDRÉ, C. P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MOURA, M. C. L.; GONÇALVES, L. S. A. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 496-503, 2007.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2005.

SUN, Y; NIU, G.; ZHANG, J.; VALLE, P. D. Growth Responses of an Interspecific Cotton Breeding Line and Its Parents to Controlled Drought Using an Automated Irrigation System. **The Journal of Cotton Science**, v. 19, n. 2, p. 290-297, 2015.

VAZ, D. S. Breves considerações sobre alterações climáticas, riscos ambientais e problemas de saúde. **Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 6, n. 10, p. 60-66, 2010.

VERSLUES, P. E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, v. 45, n. 4, p. 523-539, 2006.

VIDIGAL, M. C. G.; VIDIGAL FILHO, P. S.; VIDIGAL, M. C. G.; VIDIGAL FILHO, P. S.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; BRACCINI, A. L. Divergência genética entre cultivares de mandioca por meio de estatística multivariada. **Bragantia**, v. 56, p. 263-271, 1997.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, L. F.; BENIN, G.; SILVAS, J. A. G.; KOPP, M. M.; HARTWIG, I.; CARVALHO, M. F.; VALÉRIO, I. P. Associação da distância genética em trigo estimada a partir de caracteres morfológicos, caracteres fenológicos e dos componentes do rendimento de grãos. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 161-168, 2007.

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

ZHANG, H. B. Recent Advances in Cotton Genomics. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2008, p. 1-20, 2008.

ZHANG, L.; PENG, J.; CHEN, T. T.; ZHAO, X. H.; ZHANG, S. P.; LIU, S. D.; DONG, H. L.; FENG, L.; YU, S. X. Effect of drought stress on lipid peroxidation and proline content in cotton roots. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 24, n. 6, p. 1729-1736, 2014.

Capítulo II

CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE ALGODÃO TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO BASEADA EM VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO E NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS

Jessica Damasceno Rodrigues, Carliane Rebeca Coelho da Silva, Rennan Fernandes Pereira,
Jean Pierre Cordeiro Ramos, Péricles de Albuquerque Melo Filho, Jaime Cavalcanti,
Roseane Cavalcanti dos Santos

**Artigo científico submetido ao periódico
African Journal of Agricultural Research**

CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE ALGODÃO TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO BASEADA EM VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO E NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS

Jessica Damasceno Rodrigues¹, Carliane Rebeca Coelho da Silva², Rennan Fernandes Pereira³, Jean Pierre Cordeiro Ramos⁴, Péricles de Albuquerque Melo Filho⁵, Jaime Cavalcanti⁶, Roseane Cavalcanti dos Santos⁷

¹Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil, jedamasceno92@gmail.com.

²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, Brasil, carliane.rebeca@gmail.com.

³Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, Brasil, rennan.fp@gmail.com.

⁴Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, Brasil, jean.jp31@gmail.com.

⁵Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PB, Brasil, periclesmf@gmail.com.

⁶Laboratório de Biotecnologia, Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, Brasil, jaime.cavalcanti@embrapa.br.

⁷Laboratório de Biotecnologia, Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, Brasil, roseane.santos@embrapa.br.

Resumo: No presente trabalho realizou-se uma caracterização em cultivares de algodão baseando-se em dados de crescimento e na atividade das enzimas antioxidativas, a fim de identificar materiais com habilidade de tolerar situações de estresse hídrico. Nove genótipos foram submetidos a 7 dias de supressão hídrica, iniciada aos 45 de emergência (fase R1). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Algodão. O plantio foi em vasos (5 l), contendo solo arenoso, previamente fertilizado de acordo com as recomendações para a cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 9 x 2 (genótipo x regime hídrico), com 4 repetições. A classificação das cultivares foi realizada por meio de métodos multivariados, adotando-se as variáveis canônicas e análise de agrupamento via UPGMA. As variáveis de crescimento registradas foram: altura da planta, diâmetro da haste, número de folhas, comprimento e peso das raízes. As atividades antioxidativas foram estimadas via espectrofotometria, com as enzimas SOD, CAT e APX. Verificou-se que todos os genótipos sofreram influencia devido ao estresse, porém, com níveis de respostas diferenciadas. Os genótipos adaptados ao ambiente semiárido apresentaram melhor habilidade para crescer com a limitação hídrica imposta,

inclusive com melhor desempenho das enzimas oxidativas para evitar os danos celulares. Os mais adaptados foram BRS 286, CNPA 7MH e CNPA 5M, sendo considerados os melhores candidatos para trabalhos de hibridação visando tolerância ao ambiente semiárido.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum* L., seca, estresse hídrico.

CHARACTERIZATION OF COTTON CULTIVARS TOLERANT TO WATER STRESS BASED ON GROWTH VARIABLES AND ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE ENZYMES

Abstract: In the present work, a characterization was made on cotton cultivars based on data growth and activity of antioxydative enzymes in order to identify materials with the ability to tolerate situations of water stress. Nine genotypes were subjected to 7 days of water removal, emergency initiated at 45 of emergency (Step R1). The experiment was conducted in a greenhouse at Embrapa Algodão. The planting was done in pots (5 1), containing sandy soil previously fertilized according to recommendations for the crop. The experimental design was completely randomized with factorial 9 x 2 (Genotype x water regime), with 4 repetitions. The classification of cultivars was carried out by means of multivariate methods, adopting the canonical variables and cluster analysis via UPGMA. The growth variables recorded were plant height, stem diameter, leaf number, length and weight of the roots. The antioxidative activities were estimated via spectrophotometry, with SOD enzymes, CAT and APX. It was found that all genotypes suffered influences due to stress, however, with different levels of responses. The genotypes adapted to semi-arid environment showed better ability to grow with water limitation, including better performance of oxidative enzymes to prevent cellular damage. The most adapted were BRS 286, CNPA 7MH and CNPA 5M. These are considered the best candidates for hybridization work aiming at tolerance to semi-arid environment.

Keywords: *Gossypium hirsutum* L., drought, hydric stress.

INTRODUÇÃO

A seca é uma das principais causas de queda de produção das lavouras em várias partes do mundo. Ao serem submetidas a um determinado estresse, as plantas desencadeiam uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas, a fim de se adaptarem à condição imposta (Jamal et al., 2015). A forma como a deficiência hídrica irá afetar a planta depende da intensidade e duração do período de seca, do genótipo e do estágio fenológico. No aspecto

celular, ao sinal da percepção do estresse, ocorre produção excessiva das ROS, tais como $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e OH^\bullet , que provocam danos oxidativos, de níveis diferenciados em função da maquinaria da planta para tolerá-los (Sekmen et al., 2014; Farooq et al., 2009).

O excesso de ROS pode causar morte celular devido à inativação de enzimas fundamentais no metabolismo de defesa, além de danos nas organelas e membranas em função da degradação de pigmentos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. A ação citotóxica de ROS é controlada pela ação combinada do sistema de defesa da planta, que envolve sistema enzimático e não enzimático. No enzimático, a rota mais descrita é a que envolve a SOD, que inicia o processo de neutralização e atua como catalisadora da dismutação do $\text{O}_2^{\bullet-}$ para H_2O_2 e O_2 , da CAT, que promove a inativação do peróxido de hidrogênio, que é formado principalmente durante o processo de fotorrespiração, convertendo-o a água e O_2 , e APX, que atua na decomposição do H_2O_2 utilizando o ascorbato como redutor, doando elétrons, para formação de água e monodihidroascorbato (Barbosa et al., 2014; Alscher et al., 2002; Shigeoka et al., 2002).

No aspecto de crescimento, o estresse hídrico afeta a planta em qualquer fase do desenvolvimento fenológico, sendo mais expressivo quando ocorre nas fases que precedem a floração e início da frutificação. Os sintomas se tornam perceptíveis fenotipicamente, sendo os mais comuns a redução na altura da planta, na copa foliar e alterações no sistema radicular, uma vez que a expansão celular é inibida, diminuindo o crescimento para que a planta mantenha maior quantidade de água (Baldo et al., 2009; Ball et al., 1994). A relação raiz/parte aérea é afetada como forma de reduzir a superfície transpirante e, conseqüentemente, a perda de água (Plaut et al., 1996). Em nível fisiológico, a supressão hídrica provoca alterações na divisão e expansão celular. Como consequência, outros processos são envolvidos, sendo os mais comuns: redução nas taxas de fotossíntese e respiração, retardo na absorção e assimilação de nutrientes, perda de turgidez, da condutância estomática, aceleração da senescência e da abscisão foliar, entre outros (Farooq et al., 2009). A resposta de tolerância da planta ao estresse hídrico depende não apenas de seu metabolismo fotossintético, mas também da espécie e, muitas vezes, de cada genótipo individualmente.

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L) é uma Malvaceae, com mais de 50 espécies identificadas, muitas das quais com grande plasticidade para tolerância a ambientes semiáridos. As cultivares mais plantadas no Brasil são das subsp. *latifolium* Hutch, que é de porte herbáceo, anual e ciclo curto, e Marie-galante Hutch, de porte arbustivo, perene e ciclo longo (Vidal Neto e Freire, 2013). Os acessos dessa última possuem larga adaptação a

ambientes secos, embora a capacidade para produção de capulhos seja variada. Nos acessos herbáceos, a tolerância a seca é uma herança genótipo-dependente e os sintomas mais comuns nos acessos sensíveis são redução na aérea foliar, na altura, no número de flores e de maçãs. A fase crítica do estresse hídrico no algodoeiro é na fase de floração, com consequências negativas na retenção de frutos, peso das maçãs e qualidade das fibras (Baldo et al., 2009; Ball et al., 1994).

Baldo et al., (2009) estudaram o crescimento de genótipos de algodão submetidos a 45 dias de supressão hídrica e verificaram redução na altura, no diâmetro da haste e no número de folhas, além de restrição na produtividade, na ordem de 25%. Batista et al., (2010) corroboram esses resultados, quando avaliaram genótipos de algodão submetidos a 23 dias de supressão hídrica. Os autores também verificaram perdas na qualidade das fibras, porém, nos genótipos tolerantes, houve alongação do sistema radicular, como resposta de defesa a dissecação.

No Brasil, as principais cultivares comerciais tem limitação a ambientes com irregularidades hídricas. Considerando-se as mudanças climáticas que tem ocorrido em nível mundial, especialmente as relacionadas com escassez hídrica, o desenvolvimento de cultivares com habilidade de tolerar ambientes com limitação hídrica é uma valiosa estratégia adotada em vários programas de melhoramento. A Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária (Embrapa) desenvolve um robusto programa de melhoramento de algodão, desde a década de 70, focalizando no desenvolvimento de cultivares de fibras brancas e coloridas, de larga adaptação ambiental e com propriedades da fibra com alto valor para a indústria têxtil. Para tanto, investe em parentais de ampla base genética nos trabalhos de cruzamentos, como forma de elevar as chances de sucesso na identificação de materiais superiores nos processos seletivos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de tolerância a supressão hídrica em diferentes cultivares de algodão, baseando-se na análise de crescimento e na atividade de enzimas antioxidativas, durante a fase inicial do ciclo reprodutivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Recursos genéticos e condução experimental

Uma população composta por nove cultivares de algodão (Tabela 1), desenvolvidas pela Embrapa e pela Fundação Mato Grosso, foi usada neste estudo, visando identificar materiais com tolerância ao estresse hídrico, baseando-se em caracteres fenotípicos de crescimento e três enzimas antioxidativas. O experimento foi conduzido em casa de

vegetação, em Campina Grande, PB (7°13'50"S, 35°52'52"W, 551 m), no período de julho a setembro de 2015. As plantas foram cultivadas em vasos de 5L, contendo solo arenoso previamente fertilizado de acordo com recomendação sugerida pelo Laboratório de Fertilidade do Solo, da Embrapa Algodão, no qual foram utilizados ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio como fontes de nitrogênio, fósforo e potássio, respectivamente. As doses aplicadas foram 20 Kg ha⁻¹ de N, 60 Kg ha⁻¹ de P e 30 Kg ha⁻¹ de K. A densidade mantida para o ensaio foi 2 plantas/vaso. As plantas foram irrigadas diariamente, mantendo-se a umidade do solo próxima à capacidade de campo, sendo os volumes de água aplicados de acordo com a necessidade hídrica das plantas, calculada através do balanço hídrico: volume de água aplicado menos volume de água drenado na irrigação anterior mais uma fração de lixiviação de 10% (Almeida et al., 2015).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 9 x 2 (genótipo x regime hídrico), com 4 repetições. O regime hídrico foi constituído por dois tratamentos: controle, que constou de plantas regadas diariamente, mantendo-se a capacidade de campo, e estressado, correspondendo a suspensão total de rega por 7 dias, a partir dos 45 dias após a emergência. Essa fase corresponde ao estágio B1, representado pelo início das estruturas reprodutivas (Marur e Ruano, 2001). Os registros de temperatura e umidade relativa do ar foram coletados diariamente durante o período experimental, situando-se entre 27 °C a 30°C e 62% a 72%, respectivamente.

Tabela 1. Características dos genótipos usados no trabalho

Genótipo	Tipo	Indicação	Característica
1- FMT 705	H	Cerrados	FB, AP
2- FM 966	H	Cerrados	FB, P, AP
3- BRS RUBI	H	Semiárido	FM, AP
4- BRS 286	H	Semiárido	FB, AP
5- FMT 701	H	Cerrados	FB, AP
6- CNPA ITA 90	H	Cerrados	FB, TS, AP
7- CNPA 5M	A	Semiárido	FB, RS, AP
8- CNPA 7MH ¹	A	Semiárido	FB, RS, BP
9- BRA Seridó ¹	H	Semiárido	FB, TS, BP

¹ derivado de cruzamento entre mocó e herbáceo. H- herbáceo, A- arbustivo, FB- fibra branca, FM- fibra marrom; P- precocidade, AP- alta produtividade, BP- boa produtividade, TS- tolerância à seca, RS- resistente à seca.

Ao final da supressão hídrica, foram coletadas as seguintes variáveis de crescimento: altura da planta, diâmetro da haste principal, número de folhas totais, comprimento da raiz principal e peso fresco das raízes.

Análises bioquímicas

O extrato bruto das amostras (25%) foi obtido por maceração de folhas completamente expandidas, em tampão fosfato monobásico (100 mM) e EDTA (0,1 mM) (pH 7,0). Esse extrato foi utilizado para estimar a atividade das enzimas antioxidativas SOD, APX e CAT, por meio de espectrofotometria (Thermo Scientific- Biomate).

A atividade da SOD foi determinada seguindo metodologia descrita em Bulbovas (2005), com modificações. A reação (2,0 mL) consistiu de 100 mM de fosfato de potássio monobásico (pH 7,8), 1 mM EDTA, 13 mM metionina, 75 mM de azul p-nitrotriazólio (NBT), 1 mM de riboflavina e 40 uL do extrato bruto das amostras. A reação foi exposta a luz fluorescente (75 W) durante 15 min. A leitura foi feita a 560 nm, sendo uma unidade de atividade de SOD (U) definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da redução do NBT. A APX foi determinada pela metodologia de Nakano e Asada (1981). A reação (1,5 mL) consistiu de 50 mM do tampão fosfato monobásico e 0,1 µM de EDTA (pH 6,0), 0,5 mM de ascorbato, 1 mM de H₂O₂ e 75 µL do extrato. A atividade foi determinada pela oxidação do ascorbato no intervalo de 1 minuto a 290 nm. Para quantificação utilizou-se o coeficiente molar de extinção 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ do ascorbato.

A atividade da CAT foi estimada seguindo metodologia de Beers Júnior e Sizer (1952). A reação (1,5 mL) consistiu de 100 mM de tampão fosfato monobásico e 0,1 M de EDTA (pH 7,0), 20 mM de H₂O₂ e 50 µL do extrato. A atividade foi determinada pela degradação do H₂O₂ no intervalo de 1 minuto, a 240 nm. A quantificação foi feita adotando-se o coeficiente molar de extinção de 36 M⁻¹ cm⁻¹.

Análise estatística e modelos multivariados adotados

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors e posteriormente à análise de variância (ANAVA) pelo teste F até o nível de 5% de probabilidade de erro, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para a análise por meio de métodos multivariados foram utilizados os dados do experimento na condição de estresse hídrico apenas para as variáveis que mostraram diferença significativa na ANAVA individual, que foram elas: altura da planta, número de folhas, comprimento da raiz, APX, CAT e SOD.

As estimativas de dissimilaridade entre os genótipos se basearam no método de Mahalanobis (D^2), o qual possibilitou gerar uma matriz de ordem 9 x 9 (genótipo x genótipo) que serviu de base para a análise de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA, assim como quantificar a contribuição relativa dos caracteres para diferenciação dos genótipos, como descrito por Cruz et al., (2012). A adequação do método hierárquico foi feita com base no coeficiente de correlação cofenética (Sokal e Rohlf, 1962).

A análise de dispersão gráfica com base em variáveis canônicas foi realizada por meio da transformação da matriz de dados originais em uma matriz de dimensão equivalente e não correlacionados, a qual possibilita também levar em consideração tanto a matriz de covariância residual quanto a de covariância fenotípica entre os caracteres avaliados a semelhança da D^2 (Cruz et al., 2012).

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando-se do programa estatístico GENES, versão 2013.5.1 (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nove genótipos de algodão foram submetidos a sete dias de supressão hídrica, na fase que precede o início da floração, e avaliados quanto a caracteres de crescimento e resposta de tolerância baseado na atividade de enzimas antioxidativas. Os sintomas de estresse hídrico foi observado a partir do quarto dia nas cultivares desenvolvidas para o ambiente de cerrados, porém, ao término do sétimo dia, todas as plantas demonstraram acentuadas alterações no crescimento, reveladas especialmente na altura, número de folhas e comprimento da raiz. Os resultados da análise de variância revelaram diferença estatística significativa ($p < 0,01$) para maioria dos caracteres de crescimento entre genótipos e tratamentos. Efeito não significativo de interação G x TH foi observado para diâmetro da haste e peso das raízes, indicando que o comportamento entre os genótipos foi similar nos dois tratamentos hídricos (Tabela 2).

Tabela 2. Quadrados médios obtidos pelas análises de variância das variáveis agrônômicas registradas em genótipos de algodão submetidos à supressão hídrica

FV	GL	QM				
		AP	DH	NF	CR	PR
G	8	109.70**	.31	24.51**	130.45**	1.67*
TH	1	526.01**	5.73**	539.01**	4.33	440.70**
GxTH	8	23.81**	.31	9.39**	138.09**	1.00
Resíduo	54	7.14	.54	2.59	8.15	.79
Média		30.36	6.15	12.49	26.98	4.60
CV(%)		8.80	11.91	12.88	10.58	19.28

*, ** - significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; TH- tratamento hídrico; AP- Altura da planta; DH- Diâmetro da haste principal; NF- Número de folhas; CR: Comprimento da raiz; PR: Peso da raiz.

As médias obtidas para altura de planta (AP), número de folhas (NF) e comprimento das raízes (CR) se encontram na Tabela 3. Verificou-se que as cultivares apresentaram resposta diferenciada quanto à altura e número de folhas durante o período de supressão hídrica que foram submetidas. As menores perdas na altura foram observadas em FMT 701, CNPA 7MH, FMT 705, FMT 966 e BRS 286, todas com redução abaixo de 15%.

Tabela 3. Médias da altura da planta (AP), número de folhas (NF) e comprimento da raiz (CR) em plantas de algodão submetidas a supressão hídrica de sete dias

Genótipo	AP (cm)			NF			CR (cm)		
	C	E	DR (%)	C	E	DR (%)	C	E	DR (%)
FMT 705	28,2 de	25,1 ab	-11,2	16,5 a	10,5 bc	-36,4	36,4 a	20,4 d	-44,0
FM 966	31,3 bcde	27,4 a	-12,5	14,5 a	7,7 c	-46,5	31,9 ab	25,7 bcd	-19,3
BRS Rubi	41,2 a	29,8 a	-27,7	17,0 a	8,8 bc	-48,5	27,7 bc	21,4 cd	-22,8
BRS 286	35,7 abc	30,4 a	-14,8	14,2 a	12,2 ab	-14,0	23,1 cd	26,4 bcd	14,1
FMT 701	29,5cde	29,2 a	-1,0	16,0 a	9,5 bc	-40,6	25,0c	32,2 ab	29,1
CNPA ITA 90	34,9 abcd	25,8 ab	-26,1	14,0 a	7,7 c	-44,6	25,0 c	28,6 bc	14,1
CNPA 5M	26,7e	20,2 b	-24,2	17,0 a	15,2 a	-10,3	29,0 bc	37,6 a	29,6
CNPA 7MH	33,4 bcd	31,1 a	-6,9	13,5 a	7,7 c	-42,6	24,8 c	33,0 ab	32,8
BRS Seridó	36,7 ab	30,0 a	-18,4	14,2 a	8,2 c	-42,1	17,7 d	19,8 d	12,0

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DR- Diferença relativa com relação ao controle

Com relação ao ajuste do sistema radicular, verificou-se que CNPA 7MH, CNPA 5M e FMT 701 foram as mais hábeis uma vez que conseguiram alongar o crescimento em

profundidade em mais de 20%. Como essa característica refere-se a um dos mecanismos de resposta da planta quando enfrenta situações de estresse hídrico, os resultados verificados para as cultivares CNPA 7MH e CNPA 5M eram esperados em função de terem em sua genealogia genitores com resistência a seca e por serem adaptadas a ambientes semiáridos (Carvalho et al., 2013).

O comportamento das FMT 705 e FMT 701, contudo, são inéditos porque ambas foram desenvolvidas para o clima de cerrados, com alto nível tecnológico (Vidal Neto e Freire, 2013), e não há registro sobre a tolerância de ambas para o ambiente semiárido. O impacto do déficit hídrico na planta do algodão não depende apenas da duração, mas também da fase fisiológica em que a planta se encontra, sendo a raiz o órgão de detecção imediata, respondendo prontamente quando a dissecação se estabelece no solo. Na literatura há vários trabalhos que reportam a relação entre sistema radicular e tolerância a seca com cultivares comerciais de algodão. Plaut et al. (1996) submeteram a Acala SJ-2 a 5 regimes de umidade do solo (20, 40, 60, 80 e 100% da capacidade do vaso), aos 42 e 70 dias após a emergência (dae) e reportaram que o crescimento radicular da cultivar foi menos sensível ao déficit hídrico do que a parte aérea. Um aumento significativo no comprimento radicular foi encontrado em todos tratamentos superiores a 20% nas duas camadas do solo (24 e 36 cm do vaso).

O peso seco das raízes diminuiu em função da profundidade do solo, mas não houve relação entre comprimento e massa seca de raízes. Os autores concluíram que mesmo em solo com umidade equivalente a Ψ_m de 0,1 MPa, a taxa de crescimento da raiz foi suficiente para alcançar uma camada mais profunda do solo. Ball et al. (1994) submeteram a cultivar Stoneville 50 a apenas 6 dias de supressão hídrica, iniciada no período de formação das maçãs (55 a 65 dias). Os autores verificaram que a expansão foliar foi mais afetada do que o crescimento das raízes, no tratamento estressado. O sistema radicular das plantas estressadas teve redução de 50%, enquanto que a expansão foliar foi reduzida em 61%. Com a Delta Opal, Baldo et al (2009) submeteram a cultivar a 15, 30 e 45 dias de supressão hídrica, a partir de 69 dias da emergência. De forma geral, os autores constataram que as plantas do tratamento estressado reduziram a massa fresca da parte aérea e das raízes, como forma de reduzir a superfície transpirante e, conseqüentemente, gerar economia de água para períodos posteriores.

O resumo da análise de variância para as enzimas antioxidativas se encontram na Tabela 4. Verificou-se diferença estatística significativa entre genótipos, tratamentos hídricos e efeito de interação G x TH ($p < 0,01$) para as três variáveis avaliadas, indicando

que a maquinaria antioxidativa das cultivares responderam diferencialmente em função do estresse hídrico em que as plantas foram submetidas.

Tabela 4. Quadrados médios (QM) para as enzimas antioxidativas em cultivares de algodão submetidos à supressão hídrica

FV	GL	QM		
		SOD	CAT	APX
G		905.82**	37175.61**	7.14**
TH	1	1688.97**	35173.03**	20.98**
GxTH	8	454.90**	9742.52**	9.71**
Resíduo	54	136.97	1712.00	.30
Média		59.54	232.97	2.97
CV(%)		19.66	17.76	18.55

*, ** - significativo a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste F; FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; TH- tratamento hídrico.

Na Figura 1 se encontra o comportamento individualizado das cultivares, em ambos tratamentos, para os sistemas SOD, CAT e APX. Essas enzimas atuam em cascata de eventos para combater danos celulares provocados pela produção das espécies reativas de oxigênio, em resposta ao estresse em que as plantas estão sendo submetidas.

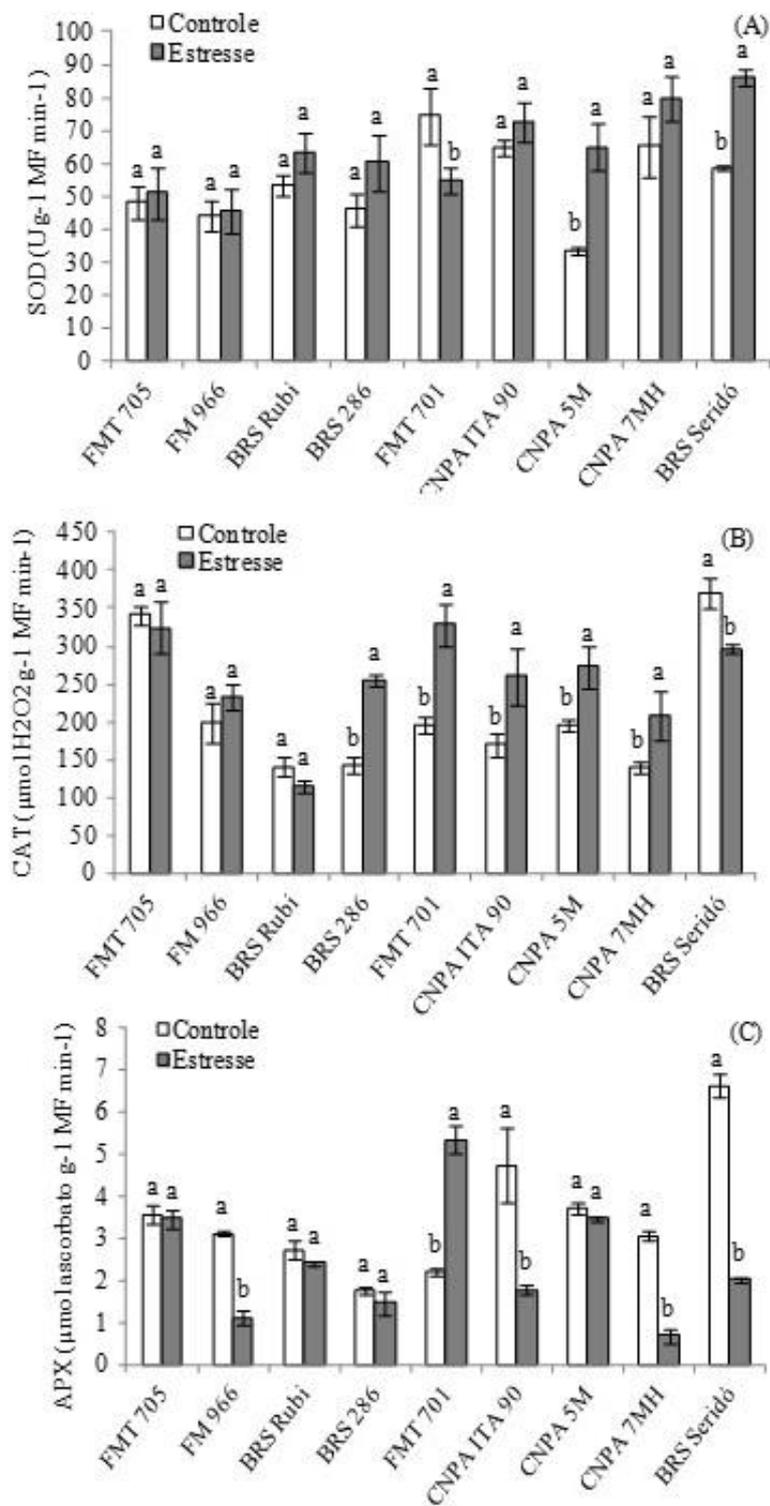


Figura 1. Atividade enzimática da SOD (A), CAT (B) e APX (C) em cultivares de algodão submetidas a sete dias de supressão hídrica, no início do ciclo reprodutivo

Na figura depende-se o desempenho de CNPA 5M, BRS Seridó, BRS 286 e CNPA 7MH que, na situação de estresse hídrico, conseguiram gerar um *input* de 86%, 52%,

30% e 19%, respectivamente, na atividade da SOD. Com a disponibilização de SOD nas células, esses genótipos, especialmente CNPA 5M, BRS 286, CNPA 7MH se ajustaram em termos de custo energético, produzindo quantidades razoáveis de CAT, de modo que, ao final da cadeia do complexo antioxidativo, a produção de APX foi normalizada em ambos os tratamentos, ou demandada em níveis mínimos, como ocorreu com a CNPA 7 MH. Esses materiais, portanto, foram os que melhor responderam ao estresse hídrico imposto, nas condições desse estudo. As cultivares FMT 705, FM 966, BRS Rubi e CNPA ITA 90 não apresentaram o *input* necessário da SOD para desencadear o primeiro processo do complexo antioxidativo, de modo que os passos seguintes, com a CAT e APX, podem ter sido circunstanciais, não diretamente envolvidos com a resposta ao estresse hídrico.

O comportamento da FMT 701 diferiu de todos os demais materiais, com baixa resposta para SOD, na detecção do estresse, e com pico de produção da APX, na ordem de 135%. Isso sugere que a produção de peróxidos na célula, que não foi neutralizada pela CAT, sobrecarregou a maquinaria celular, gerando um *input* expressivo na produção da APX. Por outro lado, como o peróxido é também produzido no processo da fotorrespiração, sugere-se que o aumento de peróxidos possa estar associado também a esse evento, cuja rota metabólica produz naturalmente ROS. Isso pode justificar a superexpressão da CAT e APX nessa cultivar.

A literatura dispõe de vários trabalhos reportando sobre o papel das enzimas antioxidativas em resposta ao estresse hídrico. O aumento da alta atividade da SOD é reportada como resposta de plantas tolerantes, que possuem maior habilidade para eliminar superóxido nas células (Sekmen et al., 2014; Cataneo et al., 2010; Rahman e Mackay, 2004). Como consequência, os níveis celulares de H_2O_2 aumentam, contribuindo para posterior ação de enzimas secundárias de neutralização, como a CAT e a APX, que irão converter H_2O_2 a $H_2O + \frac{1}{2} O_2$ e H_2O_2 a $H_2O + R(O)_2$, respectivamente. A redução do nível de H_2O_2 auxilia na mitigação do dano celular causado pelo estresse.

Sekmen et al. (2014) testaram duas cultivares de algodão, uma tolerante e outra sensível a seca, submetidas a dez dias de supressão hídrica, iniciada aos 21 dias após a emergência. Os autores verificaram elevação da atividade da SOD nas plantas estressadas, com pico de 71% na planta tolerante e 57% na sensível, indicando que a planta tolerante deteve melhor capacidade de eliminação do O_2^- . Quando essa eliminação é limitada pela maquinaria celular, o superóxido pode formar hidroxiperóxidos no interior celular e provocar peroxidação de lipídeos, causando danos à célula resultando em mudanças fisiológicas nas plantas afetadas pelo déficit hídrico.

Baseados nos resultados da ANOVA para o tratamento estressado, realizou-se a análise de variáveis canônicas, por meio da matriz de médias e variâncias e covariâncias residuais, utilizando-se as variáveis que apresentaram diferença significativa para os genótipos. Na Tabela 5 se encontram a estimativa dos autovalores e o percentual acumulado para as seis características que apresentaram diferença estatística significativa entre genótipos no tratamento estressado.

Tabela 5. Autovalores (variâncias), percentuais de variância isolada e acumulada das variáveis canônicas obtidas a partir da matriz formada pelas variáveis agrônômicas e bioquímicas em genótipos de algodão submetidos ao estresse hídrico

Variável Canônica (VC)	Autovalor	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
VC1	23,48	58,72	58,72
VC2	10,91	27,28	86,00
VC3	3,00	7,51	93,51
VC4	1,20	3,00	96,51
VC5	0,84	2,10	98,61
VC6	0,55	1,39	100,0

Verificou-se que os dois primeiros autovalores conseguiram explicar 86% da variação total, permitindo representá-la em um gráfico de dispersão bidimensional (Figura 2), de onde se visualiza a formação de três grupos, sendo o primeiro representado por cinco cultivares herbáceas, sendo duas semitardias (FM 966 e CNPA ITA 90) e três precoces e adaptadas ao Semiárido nordestino (BRS Rubi, BRS Seridó e CNPA 7MH). Sobre esse grupo, ressalta-se que embora FM 966 e CNPA ITA 90 sejam adaptadas a região dos cerrados, ambas tem larga adaptação ambiental, característica herdada pela Deltapine Acala 90, uma cultivar do tipo herbáceo que foi desenvolvida para o Oeste dos Estados Unidos e tem larga adaptação ambiental (Longenberger, 2008). O segundo grupo aglomerou as cultivares FMT 705 e FMT 701, ambas de ciclo tardio e desenvolvidas as condições do cerrado, com alto input tecnológico (Vidal Neto e Freire, 2013; Anselmo et al., 2009). O terceiro grupo conteve apenas a cultivar CNPA 5M, do tipo Moco, ciclo perene e de larga adaptação ao ambiente semiárido (Souza e Silva, 1994).

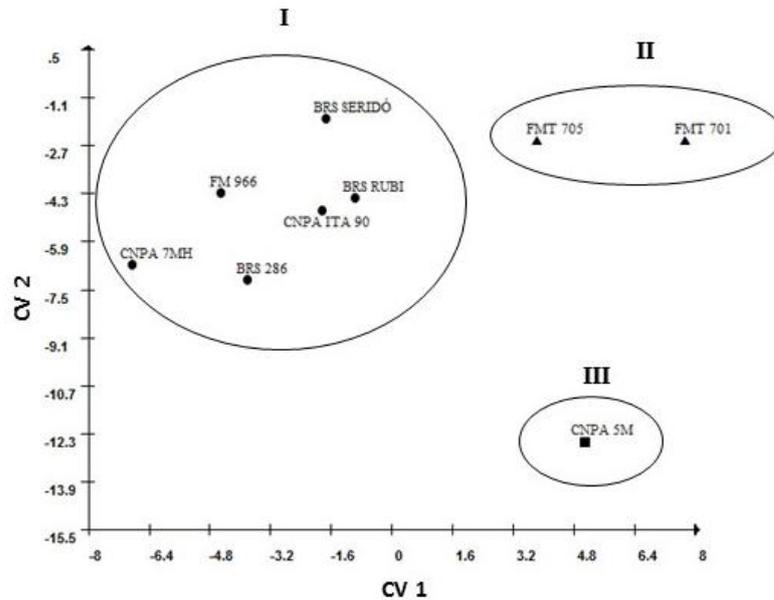


Figura 2. Dispersão gráfica para nove genótipos de algodão submetidos a 7 dias de estresse hídrico a partir de variáveis canônicas

A contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética foi estimada com base na estatística de S.j Singh (1981), sendo os mais contributivos: APX, número de folhas, comprimento da raiz e altura de planta, com peso de 53%, 15%, 13% e 12%, respectivamente.

O método de agrupamento via UPGMA também foi adotado com propósito de atestar a composição dos grupos estabelecidos pelo método de variáveis canônicas. Baseando-se em um índice de dissimilaridade superior a 80%, já estabelecido pelo programa, e correlação cofenética: 0,79 ($p < 0,01$), verificou-se que a composição dos grupos gerados por meio de dendrograma (Figura 3) foi idêntica aos grupos mostrados na dispersão gráfica da Figura 2, demonstrando a consistência dos dados obtidos para conformação dos grupos.

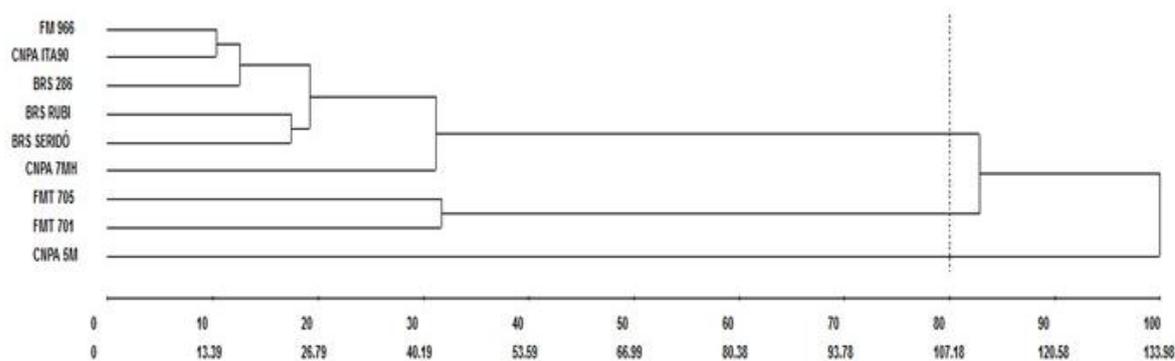


Figura 3. Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, a partir da matriz de dissimilaridade gerada entre nove genótipos de algodão submetidos a estresse hídrico

O melhoramento para tolerância ao estresse hídrico é uma linha de pesquisa adotada em vários programas de melhoramento no mundo. A seca é um fenômeno que tem se estabelecido não apenas em ambientes áridos ou semiáridos. Plantas com habilidade de tolerar intempéries hídricas demonstram ser fortes candidatas para participar de um programa de melhoramento em que se agregue benefícios agronômicos, mas também ambientais.

O algodoeiro é uma espécie fibrosa de larga importância industrial. Trata-se de uma das maiores commodities agrícolas que atende os segmentos têxteis e oleoquímico. Os programas de melhoramento conduzidos em climas tropicais têm envidado esforços para desenvolver cultivares estáveis e com larga plasticidade ambiental. O conhecimento do potencial genético dos parentais já serve como indicador para abreviar os procedimentos da seleção. Os resultados ora apresentados são contributivos para o melhoramento da cultura focalizado em tolerância a estresse hídricos e fornecem informações sobre possíveis candidatos a serem adotados em trabalhos de hibridação visando posterior seleção de cultivares destinadas a ambientes semiárido ou com restrição hídrica.

CONCLUSÃO

1. As variáveis de crescimento, representadas por altura da planta, número de folhas e comprimento da raiz, associadas com a atividade das enzimas antioxidativa foram contributivas para discriminar genótipos de algodoeiro tolerantes ao estresse hídrico, podendo ser adotadas para auxiliar nos processos de seleção, nos trabalhos de melhoramento de algodão para o ambiente semiárido.

2. Para uso em trabalhos de melhoramento visando produtividade e tolerância ao ambiente semiárido, combinações promissoras podem ser conseguidas com as cultivares BRS Seridó, BRS 286 e CNPA 7MH, com FMT 701 e FMT 705, considerando-se que ambas tem elevada capacidade para produção de capulhos e excelentes propriedades das fibras.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declararam não haver qualquer conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

Almeida LLS, Nobre RG, Souza LP, Barbosa JL, Elias JJ (2015). Crescimento do algodoeiro colorido pós-poda em solos com distintas PSTs e doses de esterco. RVADS. 10(4):06-11.

<http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v10i4.3715>

Alscher RG, Erturk N, Heath LS (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot. 53(372):1331-1341.

<http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331> Pmid:11997379

Anselmo JL, Costa DS, Leal JF (2009). Ensaio de competição de cultivares de algodoeiro em Chapadão do Sul - MS. In: Congresso Brasileiro do Algodão, Campina Grande. Anais, Embrapa Algodão. pp.1567-1571.

Baldo R, Scalon SPQ, Rosa YBCJ, Mussury RM, Betoni R, Barreto WS (2009). Comportamento do algodoeiro cultivar delta opal sob estresse hídrico com e sem aplicação de bioestimulante. Cienc. Agrotec. 33:1804-1812.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000700018>

Ball RA, Oosterhuis DM, Mauromoustakos A (1994). Growth dynamics of the cotton plant during water-deficit stress. Agron. J. 86(5):788-795.

<http://dx.doi.org/10.2134/agronj1994.00021962008600050008x>

Barbosa MR, Silva MMA, Willadino L, Ulisses C, Camara TR (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. Cienc. Rural. 44(3):453-460.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>

Batista CH, Aquino LA, Silva TR, Silva HRF (2010). Crescimento e produtividade da cultura do algodão em resposta a aplicação de fósforo e métodos de irrigação. Rev. Bras. Agric. Irrigada. 4(4):197-206.

<http://dx.doi.org/10.7127/rbai.v4n400035>

Beers Junior RF, Sizer IW (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem. 195(2):133-140.

PMid:14938361

Bulbovas P, Rinaldi MCS, Delitti WBC, Domingos M (2005). Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). Rev. Bras. Bot. 28(4):687-696.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042005000400004>

Carvalho LP, Andrade FP, Silva Filho JL (2013). Cultivares de algodão colorido para a região semiárida do Brasil. In: Furtado DA, Baracuhy JG, Francisco PRM. Difusão de tecnologias apropriadas para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro.

Cataneo AC, Chamma KL, Ferreira LC, Déstro GFG, Sousa DCF (2010). Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. Rev. Bras. Herbicidas. 4(2):23-31.

<http://dx.doi.org/10.7824/rbh.v4i2.22>

Cruz CD (2013). GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. Acta Sci. Agron. 35(3):271-276.

<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>

Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro PCS (2012). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 514 p.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 29(1):185-212.

<http://dx.doi.org/10.1051/agro:2008021>

Freire EC and Vidal Neto FC (2013). Melhoramento Genético do Algodoeiro. In: Vidal Neto FC, Cavalcanti JJV. (Ed.) Melhoramento Genético de Plantas no Nordeste - Brasília, DF: Embrapa. p. 49-83.

Longenberger PS (2008). Evaluation of chlorophyll fluorescence as a tool for the identification of drought tolerance in upland cotton (Dissertation). Texas A&M University: Texas. 129p.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10681-008-9820-4>

Marur CJ, Ruano O (2001). A reference system for determination of cotton plant development. Rev. Ol. Fibras. 5(2):313-317.

Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplast. Plant Cell Physiology. 22(5):867-880.

Plaut Z, Carmi A, Grava A (1996). Cotton root and shoot responses to subsurface drip irrigation and partial wetting of the upper soil profile. Irrigation Sci. 16(3):107-113.

<http://dx.doi.org/10.1007/BF02215618>

Rahman SML, Mackay WA (2004). Superoxide dismutase and stress tolerance of four tomato cultivars. HortSci. 39(5):983-986.

<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>

Sekmen AH, Ozgur R, Uzilday B, Turkan I (2014). Reactive oxygen species scavenging capacities of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars under combined drought and heat induced oxidative stress. Environ. Exp. Bot. 99:141-149.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.010>

Singh D (1981). The relative importance of characters affecting genetic divergence. The Indian J of Genet Plant Breed. 41(2):237-245.

Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagaw Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53(372):1305-1319.

<http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1305> PMID: 11997377

Sokal RR, Rohlf FJ (1962). The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon.* 11(1):30-40.

<http://dx.doi.org/10.2307/1217208>

Souza JG, Silva JV (1994). Fenologia e fisiologia do algodoeiro arbóreo após a seleção para acúmulo de amido nas raízes. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 6(2):145-148.

