

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Edjane dos Anjos Ulisses

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR E
CANA ENERGIA SOB DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS NA FASE INICIAL DE
CRESCIMENTO**

**Rio Largo
2016**

Edjane dos Anjos Ulisses

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR E
CANA ENERGIA SOB DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS NA FASE INICIAL DE
CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vilma Marques Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. José Vieira Silva

Rio Largo

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janaina Xisto de Barros Lima

U39r Ulisses, Edjane dos Anjos.
Respostas morfofisiológicas de genótipos de cana-de-açúcar e cana energia sob diferentes regimes hídricos na fase inicial de crescimento / Edjane dos Anjos Ulisses. – 2016.
91 f. : il.

Orientadora: Vilma Marques Ferreira.
Co-orientador: José Vieira Silva.
Dissertação (mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2016.

Bibliografia: f. 75-91.

1. *Saccharum Officinarum*. 2. *Saccharum Spontaneum*. 3. Composição lignocelulósica. 4. Tolerância à seca. I. Título.

CDU: 633.61

TERMO DE APROVAÇÃO

EDJANE DOS ANJOS ULISSES

(Matrícula 14230039)

**"RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR E
CANAS ENERGIA SOB DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS NA FASE INICIAL DE
CRESCIMENTO"**


Dissertação apresentada e avaliada pela banca examinadora em trinta e um de outubro de 2016, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Agronomia "Produção Vegetal" da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.



Profa. Dra. Vilma Marques Ferreira
Presidente



Prof. Dr. Guilherme Bastos Lyra
Membro



Dr. Anderson Carlos Marafon
Membro

RIO LARGO – AL
Outubro/2016

Aos meus pais Gonçalo Ulisses dos Santos e Maria Salete dos Anjos pelo imenso esforço e sacrifício que fizeram por mim em todos os momentos da minha vida, pela confiança que em mim depositaram e pelo incentivo e apoio que foi fundamental para que chegasse a esse momento.

A minha amada esposa Sonaly Costa Silva pelo companheirismo, carinho, amor, dedicação, incentivo, cumplicidade, compreensão e apoio nos momentos que sempre precisei.

A elas, todo o meu amor e reconhecimento.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me concebido a vida, pelas vitórias que me permitiu alcançar, por estar sempre comigo, me fortalecendo e me guiando em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos Edvaldo, Edival, Eraldo, Gonçalo Ulisses Filho, a minha irmã Rosa Ulisses e meu cunhado Miguel Fernandes pelo carinho, apoio, estímulo e incentivo que me alegraram nos momentos de desânimo e me ensinaram a crescer.

A Sebastião Barbosa (*in memoriun*) e Vera Dias, a quem tenho imensa gratidão pela oportunidade que me deram.

À Universidade Federal de Alagoas/UFAL, ao Centro de Ciências Agrárias (CECA), à Coodenação do Curso de Pós-Graduação Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal e a todos funcionários que trabalham atentamente e dedicados ao bom funcionamento deste centro.

À prof.^a Dr.^a Vilma Marques Ferreira (Orientadora) e ao Prof. Dr. José Vieira Silva (coorientador) pela orientação, amizade, compreensão incentivo à pesquisa e ensinamentos muito importante para minha formação.

A todos os amigos do CECA que de alguma forma contribuíram para minha formação, em especial aos amigos do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal: Vicente, Ivanildo, Jonatas, Carol, pelos momentos de descontração e por toda a ajuda na realização deste trabalho.

À Isabela Cardoso pela paciência, atenção, dedicação e ensinamento nas análises bioquímicas realizadas no laboratório de Ecofisiologia vegetal.

À Dr. Claudiana Mourados Santos pelos ensinamentos, auxílio e contribuição no trabalho.

A todos companheiros e colegas de disciplinas e laboratórios pelo aprendizado e convivência durante esses dois anos e pelos grandes momentos que compartilhamos que não serão esquecidos.

A todos meus sinceros e honrosos agradecimentos.

RESUMO

As plantas do gênero *Saccharum* (cana-de-açúcar), foco deste estudo, são as espécies vegetais mais versáteis dentre aquelas domesticadas pelo homem, seja pela grande gama de possibilidades de utilização destas e/ou pela sua capacidade de adaptação, após a sua domesticação e/ou evolução do melhoramento genético. O presente trabalho foi desenvolvido como objetivo de avaliar respostas morfofisiológicas de genótipos de cana-de-açúcar e cana energia submetidas à restrição hídrica na fase inicial de crescimento. O experimento foi conduzido na casa-de-vegetação do setor de Fisiologia Vegetal da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias, Campus Delza Gitaí, da Universidade Federal de Alagoas, localizada no município de Rio Largo (09° 28' S, 35° 49' W e 127 m de altitude), Estado de Alagoas. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizado (DBC), composto por cinco repetições em arranjo fatorial 6 x 2, totalizando 60 parcelas, constituído de seis genótipos de cana, (RB29579, RB867515, RB11999, RB330, IN8484 e IN8272) submetido a dois níveis de estresse hídrico: sem estresse (solo com 100% da capacidade de campo (CC) e com estresse hídrico (50% da CC), imposto aos 78 dias após o plantio (DAP). Foram avaliados o crescimento de plantas, potencial hídrico foliar (Ψ_w) e índice spad. Ao final do experimento (112 DAP) as plantas foram coletadas para determinação da massa seca, taxas de crescimento, índices fisiológicos e análises bioquímicas. Houve variação genotípica nas respostas morfofisiológicas da cana ao déficit hídrico. Os genótipos de cana-de-açúcar e cana energia apresentaram comportamento diferente em resposta à restrição hídrica para altura de plantas e acúmulo de massa seca na parte aérea. A variedade RB867515 apresentou maior tolerância ao estresse oxidativo induzido pelo déficit hídrico em relação as demais.

Palavras-chave: *Saccharum officinarum*. *Saccharum spontaneum*. Composição lignocelulósica. Tolerância à seca.

ABSTRACT

Plants of the genus *Saccharum* (sugarcane), focus of this study, are the most versatile plant species domesticated by man, Is the great possibilities of using these or its adaptability, after its domestication and evolution of genetical enhancement. The present study was to evaluate morphophysiological responses of sugar cane and energy cane genotypes Submitted to water restriction in the initial phase of growth. The experiment was conducted in a greenhouse of Plant Physiology department of the Academic Unit of Agricultural Sciences Center, Campus Delza Gitai, the Federal University of Alagoas, located in Rio Largo city (09 ° 28 'S, 35 ° 49' W and 127 m altitude), State Alagoas. The experimental design consisted of randomized blocks (DBC), composed of five replicates in a factorial arrangement of 6 x 2, totaling 60 installments, consisting of six genotypes of sugarcane (RB29579, RB867515, RB11999, RB330, IN8484, IN8272) subjected to two levels of water stress: no stress (soil with 100% of field capacity (FC)) and water stress (50% DC), tax at 78 days after planting (DAP). We evaluated the growth of plants, leaf water potential (Ψ_w) and spad index. At the end of the experiment (112 DAP) plants were collected to determine the dry mass, growth rates, Physiological indices and biochemical analyzes. There was genotypic variation in the morphophysiological responses of sugarcane to the water deficit. The genotypes of sugarcane and energy cane presented Different behavior in response to water restriction for plant height and accumulation of dry mass in the aerial part. The variety RB867515 presented greater tolerance to the oxidative stress induced by the water deficit in relation to the others.

Keywords: *Saccharum officinarum*. *Saccharum spontaneum*. Lignocellulosic composition. Drought tolerance.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Produção de H_2O_2 pela enzima superóxido dismutase (SOD) por dismutação do ânion superóxido, e ação desintoxicante das enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), convertendo H_2O_2 a H_2O e O_224
- Figura 2** – Dismutação do superóxido catalisada pela SOD.....26
- Figura 3** – Degradação do peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima catalase.....26
- Figura 4** – Degradação do peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima catalase.....27
- Figura 5** – Curva de retenção de umidade do solo determinada pelo método de placas porosas de Richards.....29
- Figura 6** – Crescimento de plantas em altura, de genótipos de cana durante período de estresse hídrico.....42
- Figura 7** – Medidas do diâmetro do colmo de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....46
- Figura 8** – Medidas da largura da folha +3 de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....48
- Figura 9** – Valores da razão de clorofila totais/carotenoides de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....60
- Figura 10** – Valores médios da atividade específica da superóxido dismutase - SOD (A) atividade específica da catalase – CAT (B) e atividade específica da peroxidase do ascorbato – APX (B) em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....63
- Figura 11** – proteína solúveis totais em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....68
- Figura 12** – Peroxidação de lipídios através do conteúdo de malondialdeído (MDA) em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Análise química do substrato utilizado no experimento de cana-de-açúcar.....	29
Tabela 2	– Valores médios da altura de plantas fr genótipos de cana antes e depois da imposição do estresse hídrico	41
Tabela 3	– Valores médios do número de entrenós (NE), comprimento de entrenós (CE) e número de perfilhos (NP) de genótipos de cana-de-açúcar submetida a estresse hídrico.....	43
Tabela 4	– Valores médios do número de folhas (NF) e comprimento da folha +3 (CF+3) de genótipos de cana-de-açúcar submetida a estresse hídrico.....	47
Tabela 5	– Valores médios da massa seca das folhas, do colmo, parte aérea raiz e total de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a restrição hídrica.....	49
Tabela 6	– Valores médios da alocação de biomassa nas Folhas (ABF), no colmo (ABC), na parte aérea (ABPA) e nas raízes (ABR) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico.....	51
Tabela 7	– Valores médios da taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR) e taxa de crescimento da cultura (TCC) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico durante 34 dias.....	52
Tabela 8	– Valores médios da área foliar (AF), área foliar específica (AFE), índice de área foliar (IAF), razão de área foliar (RAF), razão de massa foliar (RMF) e índice de translocação de massa (ITM) de genótipos de cana-de-açúcar imposta a estresse hídrico por 34 dias.....	54
Tabela 9	– Valores médios do potencial hídrico (ψ_w) das folhas na antemanhã (05h) e ao meio dia (12h), teor relativo de água nas folhas (TRA) e extravasamento de eletrólitos (EE) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico.....	57
Tabela 10	– Valores médios da clorofila a, (clor. a) e b (clor. b), clorofila total (clor. t), carotenoides (carot), razão das clorofilas a:b (razão a/b), clorofila a+b (a+b) e índice spad de genótipos de cana de açúcar imposta a restrição hídrica.....	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Classificação botânica	13
2.2	Histórico	13
2.3	Da cana-de-açúcar a cana-energia	14
2.4	Importância sócio economia	16
2.5	Aspectos morfológicos e ecofisiológicos	17
2.6	Estresse Hídrico	18
2.7	Estresse oxidativo	21
2.8	Sistema antioxidante	24
2.8.1	SOD	25
2.8.2	CAT	26
2.8.3	APX	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Localização experimental	28
3.2	Material vegetal	28
3.3	Instalação e condução do experimento	29
3.4	Delineamento experimental	30
3.5	Análise de crescimento	30
3.5	Índices fisiológicos	31
3.5.1	Taxa de crescimento absoluta (TCA)	31
3.5.2	Taxa de crescimento relativo (TCR)	32
3.5.3	Área foliar específica (AFE)	32
3.5.4	Razão de massa foliar (RMF)	32
3.5.5	Índice de Translocação de massa.....	33
3.5.6	Razão de área foliar (RAF)	33
3.5.7	Índice de área foliar (IAF)	33
3.5.8	Taxa de crescimento da cultura (TCC)	33
3.6	Relações hídricas	34
3.6.1	Teor relativo de água (TRA)	34
3.6.2	Potencial da água na folha na antemanhã (Ψ_w)	34
3.7	Extravasamento de eletrólitos	35

3.8	Quantificação dos pigmentos fotossintéticos	35
3.9	Análises bioquímicas	36
3.9.1	Extração e quantificação da atividade de enzimas antioxidantes – SOD, CAT e APX	36
3.9.1.2	Superoxido Dismutase (SOD)	37
3.9.1.3	Catalase (CAT)	38
3.9.1.4	Ascorbato Peroxidase (APX)	39
3.9.2	Quantificação de proteínas solúveis	39
3.9.3	Peroxidação de lipídios (MDA)	41
3.10	Análise estatística	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	Análise de crescimento	41
4.2	Índices fisiológicos	52
4.3	Relações hídricas e extravasamento de eletrólitos	56
4.4	Teor de pigmentos fotossintéticos	59
4.5	Análises bioquímicas	62
4.5.1	Enzimas antioxidantes	62
4.5.2	Proteínas solúveis	63
4.5.3	Peroxidação de lipídios.....	69
5	CONCLUSÕES	74
	REFERENCIAS	

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e dos seus produtos açúcar e etanol. Essa cultura contribui significativamente não só para a economia nacional, como também traz benefícios sociais, gerando empregos diretos e indiretos.

A cultura da cana-de-açúcar destaca-se como uma das melhores opções de fonte de energia renovável, destacando-se como importante cultura no Brasil e no mundo para a produção de biomassa e cogeração de eletricidade, além de centenas de produtos derivados.

A expansão de canaviais no Brasil cresce cada vez mais devido ao aumento da demanda por açúcar e álcool no mundo. A produção prevista para a safra de 2015/2016 é de 658,7 milhões de toneladas numa área de 8.995,5 mil hectares, a produção de açúcar estimada é de 34,61 milhões de toneladas e de etanol estimada em 29,21 bilhões de litros. Mesmo com redução de 9,3% da área plantada na safra 2015/2016, a produção da cana-de-açúcar aumentou 3,8% em relação à safra 2014/15, um incremento de 3,85% na produtividade. (CONAB, 2016).

Durante muito tempo a cana-de-açúcar tem sido utilizada principalmente para produção de açúcar e álcool, no entanto, uma nova expansão está surgindo no setor sucroenergético para otimizar a produção de energia, a partir do reaproveitamento da biomassa da planta.

Atualmente tem se buscado materiais genéticos ricos em fibra (cana-energia) para a utilização na produção de etanol de segunda geração (etanol 2G). Dessa forma, os cruzamentos entre *S. officinarum*, com alto teor de sacarose e baixo teor de fibra, e *S. spontaneum*, com baixo teor de sacarose e elevado teor de fibra, originam materiais com diferentes teores de sacarose e fibra, de acordo com a maior contribuição genética dessas espécies (MING et al., 2006).

A cana-energia é uma denominação dada as variedades que possuem potencial de produção de biomassa para fins energéticos, com maior teor de fibra e elevado potencial produtivo, ideal para fabricação de biocombustíveis e bioquímicos de segunda geração

A deficiência hídrica dos solos é um problema que afeta boa parte das áreas cultivadas com cana-de-açúcar no mundo, principalmente as situadas em regiões

semi-áridas, reduzindo o crescimento e a produção vegetal, provocando prejuízos sócio-econômicos (MUNNS, 2002). Na região nordeste do Brasil, a baixa produtividade dos canaviais é, em grande parte, atribuída aos baixos índices pluviométricos durante a estação seca (outunro - março). Segundo Gonçalves et. al. (2010) o estresse hídrico severo reduz siignitivamente o crescimento e produtividade de cana-de-açúcar independente da variedade.

De modo geral, a tolerância da cana-de-açúcar à deficiência hídrica envolve uma série de adaptações morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores, levando assim as plantas a tentarem atingir a maior estabilidade da produtividade (MACHADO et al., 2009).

As variedades de cana-de-açúcar podem apresentar diferença quanto à tolerância à deficiência hídrica (ENDRES et al., 2010) e o conhecimento da tolerância à seca dos diferentes materiais genéticos é de grande importância na tomada de decisão de cultivo numa determinada área.

Embora, haja vários estudos que avaliam os efeitos do estresse hídrico na fisiologia e crescimento da cana-de-açúcar, ainda não foram encontrados relatos de pesquisas que comparassem materiais genéticos contrastantes em termos de fibra, apesar da expectativa de que materiais genéticos ricos em fibra sejam mais tolerantes a condições adversas do meio.

Com base nesses fatos, objetivou-se no presente trabalho avaliar o crescimento, e estresse oxidativo de genótipos de cana-de-açúcar e cana energia, submetidos ao estresse hídrico na fase inicial de crescimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação botânica

A cana-de-açúcar é uma planta monocotiledônea, alógama e perene e tem sua classificação taxonômica como reino, Plantae, divisão, Magnoliophyta, classe, Liliopsida, ordem Poales, família Poaceae, gênero *Saccharum* (DEER, 1911)

São conhecidas seis espécies que compõem o gênero *Saccharum*: *Saccharum officinarum*, *Saccharum spontaneum*, *Saccharum robustum*, *Saccharum barberi*, *Saccharum sinense* e *Saccharum edule*, sendo a cana-de-açúcar cultivada, um híbrido multiespecífico, recebendo a designação de *Saccharum spp.*

2.2 Histórico

A cana-de-açúcar, possui histórico nativo de climas tropicais e seu cultivo se estende ao longo dos dois hemisférios. Precisamente é originária das ilhas do Arquipélago da Polinésia, e já era cultivada pelos povos hindus para a obtenção de uma forma primitiva de açúcar há 3000 a.C. Na Melanésia a cana-de-açúcar tem sido cultivada desde a pré-história (BANDINELLI, 2010)

No período pré-colonial a cana foi domesticada e disseminada por todo o sudeste asiático e as ilhas de Papua, Nova Guiné e Java, que se tornaram o centro de diversificação da cultura. Durante o Período Colonial, os portugueses trouxeram a cana-de-açúcar do sudeste asiático e a cultivaram na Ilha da Madeira.

A utilização da cana-de-açúcar para a produção de açúcar, vem sendo praticada a milênios. No Brasil, essa atividade iniciou-se em 1532, quando Martim Afonso de Souza plantou na capitania de São Vicente as primeiras mudas de cana-de-açúcar trazidas da Ilha da Madeira. A partir daí vários engenhos foram implantados no Brasil para a produção de açúcar. Estes engenhos foram se modernizando ao longo do tempo, até que no período entre 1973 e 1975, com a criação do Funproçucar, que financiou a modernização dos engenhos e Usinas, e do PROÁLCOOL, Programa de Incentivo à Produção e uso do Álcool como combustível em substituição à gasolina, o que possibilitou o desenvolvimento da tecnologia dos

carros flex, uma tecnologia 100% nacional que trouxe ainda mais consolidação para o setor.

Com estas medidas, em 1975, a agroindústria da cana-de-açúcar se remodelou completamente e o Brasil abriu caminho para uma nova exploração, a produção de etanol combustível em larga escala (NATALE NETTO, 2007; VASCONCELLOS; VIDAL, 1998; MATSUOKA et al., 2012) e a geração de excedente elétrico, além de centenas de outros subprodutos que podem ainda ser desenvolvidos a partir dessa matéria prima (ICIDCA, 1999). Estes incentivos foram essencialmente importantes para o Brasil enfrentar a crise do Petróleo e alavancou o desenvolvimento de novas regiões produtoras.

Com a criação do projeto Genoma da Cana-de-açúcar em 1999, milhares de genes ligados a diferentes características da planta foram identificados e vem-se realizando testes com cana geneticamente modificada para aumento da sacarose, porte, resistência a estresses bióticos e abióticos e resistência a doenças. Atualmente com o advento da biomassa para geração de energia os programas de melhoramento genético da cana encontram-se em um novo marco da história da cultura para atender as necessidades do setor sucroalcooleiro e energético.

2.3 Da cana-de-açúcar a cana-energia

As plantas do gênero *Saccharum* (cana-de-açúcar), foco deste estudo, são as espécies vegetais mais versáteis dentre aquelas domesticadas pelo homem, seja pela grande gama de possibilidades de utilização desta e/ou pela sua capacidade de adaptação, após a sua domesticação e/ou evolução do melhoramento genético. Fato é que esta planta de origem milenar tem contribuído de forma imprescindível para o avanço da agricultura brasileira, e para a produção de energia renovável principalmente no que tange as possibilidades de alteração na composição da matriz energética e a produção de bioenergia, que tem sido motivo de discussões entre as lideranças mundiais desde as últimas décadas do século passado (VIOLANTE, 2012)

A agroindústria da cana-de-açúcar foi milenarmente explorada para a produção de açúcar (sacarose). Desde o início da exploração da cana-de-açúcar, o principal objetivo foi a produção de açúcar nos engenhos, posteriormente, veio a produção do etanol. Devido ao rendimento dos subprodutos está relacionado com o teor de

sacarose, os programas de melhoramento genético da cana vêm buscando melhorar o teor de sacarose. Assim, torna-se claro que até o presente momento o objetivo principal das pesquisas, realizadas nas últimas décadas, sempre foi para aumentar o teor de açúcar no colmo da cana, fato este que limita os ganhos de produção de biomassa (VIOLANTE, 2012).

Durante mais de um século, grande esforço foi realizado no melhoramento genético de cana-de-açúcar buscando aumentar a produtividade de sacarose, através de sucessivos retrocruzamentos para esta característica, de forma a manter o teor de fibra em torno de 10 a 14%, dada as necessidades industriais de processamento da matéria prima (MATSUOKA et al., 2012). Desta forma, acredita-se que se chegou muito próximo de um patamar de produção difícil de ser suplantado se consideradas as atuais condições de manejo agrônômico (MOORE, 2005).

No entanto, um novo paradigma está surgindo para otimizar a produção de energia, fundamentado na produção de biomassa e o novo caminho está indicando que, se a via contrária for tomada, ou seja, aumento de fibra ao invés de sacarose, os benefícios serão maiores, visto que o aumento em produtividade de biomassa será bem maior e com dispêndio menor em esforço e em recursos (MATSUOKA et al., 2010).

Os programas de melhoramento genético voltados para cana-energia, buscam obter variedades com maior teor de fibra no colmo. A fibra da cana-de-açúcar é a parte sólida da planta formada por celulose, hemicelulose, ligninas, pentosanas, pectinas e outros componentes. É responsável pela sustentação da planta, auxiliando na formação de vasos condutores de seiva, além de armazenar o caldo e seus constituintes (FERNANDES, 2000).

A cana-energia é uma denominação dada as variedades desenvolvidas a partir do cruzamento genético de tipos ancestrais e híbridos comerciais de cana-de-açúcar para o cultivo com fins energéticos. O resultado é uma cana mais robusta, com maior teor de fibra e potencial produtivo, ideal para fabricação de biocombustíveis e bioquímicos de segunda geração. Sua rusticidade permite ainda outros ganhos expressivos em diversas modalidades. A planta exige menos água e menos insumos para crescer. Tudo isso, aliado a uma alta produtividade, faz da cana-energia uma das matérias-primas mais competitivas atualmente (BARBOSA, 2014).

A cana-energia possui duas classificações de acordo com a sua composição e finalidade de uso da matéria prima: Cana Energia tipo 1 – acima de 15% de sacarose e acima de 18% de fibra, para empresas que pretendem investir na produção de etanol de segunda geração (etanol celulósico). Cana Energia tipo 2 – sacarose menor que 6% e acima de 28% de fibra, para empresar que pretendem produzir e fornecer biomassa para geração de energia (Barbosa, 2014).

A cana-energia, um híbrido de canas comerciais e silvestres, é uma cultura energética ideal para produção de etanol celulósico, que é produzido a partir da fibra contida na parte aérea da planta (KIM e DAY, 2011). Estes materiais apresentam altos teores percentuais de fibra, baixos teores de açúcar nos colmos e grande número de perfilhos por metro linear.

Castro et al. (2001) e Matsuoka et al. (2012), descrevem as principais características da espécie *S. spontaneum*. Segundo estes autores essa planta cresce nos trópicos e subtropicos, e é a espécie que modernamente tem dado maior contribuição ao melhoramento, com suas características de vigor, rusticidade, perfilhamento e capacidade de rebrota de soqueira, especialmente devido ao vigoroso rizoma e a resistência a estresses, doenças e pragas. São plantas de menor porte, colmos curtos e finos, fibrosos e praticamente sem açúcar. O sistema radicular é bem desenvolvido com grande perfilhamento da touceira, repercutindo em adaptação a condições adversas de solo e clima.

2.4 Importância sócio economia

A expansão de canaviais no Brasil cresce cada vez mais devido ao aumento da demanda por açúcar e álcool no mundo. A produção prevista para a safra de 2015/2016 é de 658,7 milhões de toneladas numa área de 8.995,5 mil hectares, a produção de açúcar estimada é de 34,61 milhões de toneladas e de etanol estimada em 29,21 bilhões de litros. Mesmo com redução de 9,3% da área plantada na safra 2015/2016, a produção da cana-de-açúcar aumentou 3,8% em relação à safra 2014/15, um incremento de 3,85% na produtividade. (CONAB, 2016).

Atualmente 50% da produção de cana-de-açúcar encontra-se dividida em quatro países: Brasil, Cuba, México e EUA. Com à crise de petróleo na década de 70, a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar se intensificou, para sua utilização direta em motores a explosão ou em misturas com a gasolina (Mozambani

et al., 2006)

Existem centenas de produtos derivados da cana-de-açúcar e o setor encontra-se em um momento de possível transformação dos modelos tecnológicos para produção do etanol de segunda geração.

2.5 Aspectos morfológicos e ecofisiológicos

Como a maioria das plantas da família Poaceae (gramíneas), a cana-de-açúcar possui metabolismo fotossintético do tipo C₄, assim denominado por ter como primeiro produto da fotossíntese, compostos orgânicos com quatro átomos de carbono. Esse metabolismo confere alta taxa fotossintética e eficiência na utilização e resgate de CO₂ (gás carbônico) da atmosfera, adaptação a alta intensidade luminosa, altas temperaturas e relativa escassez de água (SEGATO et al., 2006), permitindo que a cana seja muito bem adaptada a produção de biomassa em condições tropicais.

Na forma nativa, a planta é perene, de hábito ereto e levemente decumbente no estágio inicial de desenvolvimento. Nos estágios seguintes, a planta sofre seleção dos perfilhos por autossombreamento. Apresenta as principais características da família Poaceae: inflorescência em forma de espiga, crescimento de caule em colmos, folhas com lâminas de sílica em suas bordas e bainhas abertas (DIOLA; SANTOS, 2010)

A cana-de-açúcar tem seu desenvolvimento em forma de touceiras, com formação de perfilhos. Sua parte aérea é composta de colmos (material de maior interesse econômico), haste sem ramificações, com secção transversal aproximadamente circular, os quais são segmentados em nós e entrenós, onde está localizada a inserção foliar, folhas, inflorescências e frutos, enquanto a subterrânea é formada por raízes e rizomas. A intensidade de perfilhamento é importante para a produtividade do cultivo e a estrutura da touceira pode ser composta por colmos eretos, semi-erectos e decumbentes, características que são determinadas por aspectos genéticos (SCARPARI; BEAUCLAIR, 2008; MOZAMBANI et al., 2006; BLACKBURN, 1984).

Suas raízes são fasciculadas, podendo alcançar até 4 m de profundidade, com 85% destas localizadas nos primeiros 50 cm do solo e 60% entre 20-30 cm (Mozambani et al., 2006). As raízes são compostas por nódios, internódios e gemas,

responsáveis pela formação da touceira. O colmo é responsável pela sustentação das folhas e panículas, podendo ter um porte variável dependendo da idade da planta. As folhas são completas, compostas pela lâmina foliar, bainha e colar. Ligam-se ao colmo, formando fileiras opostas e alternadas, com lâmina foliar alongada e relativamente plana. Podem ter diversos aspectos dependendo das variedades, podendo ser eretas, arqueadas, apresentarem manchas e pelos (JAMES, 2004; SCARPARI; BEAUCLAIR, 2008).

A cana-de-açúcar apresenta uma grande adaptabilidade, podendo ser cultivada tanto em solos arenosos como em solos muito argilosos (KOFLER; DONZELI, 1987). Entretanto, assim como acontece para qualquer cultura, cada solo associado ao seu manejo apresentará vantagens e limitações inerentes às suas propriedades, que devem ser consideradas quando utilizados para a cana-de-açúcar.

De acordo com Argenton (2006) *apud* Violante (2012), o Brasil é um dos países mais apropriados para a produção da cultura e seus derivados, já que possui condições edafoclimáticas propícias em boa parte do país, disponibilidade de terras que não competem com a produção de alimentos, e custos de produção considerados baixos em relação a outros países produtores da cultura.

2.6 Estresse Hídrico

A deficiência hídrica dos solos é um problema que afeta boa parte das áreas cultivadas no mundo, principalmente as situadas em regiões áridas e semiáridas, reduzindo o crescimento e a produção vegetal, provocando prejuízos socioeconômicos (MUNNS, 2002). A ocorrência de déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo. Desde os antigos povos sumérios, o homem tem procurado uma alternativa mais efetiva do aproveitamento da água para superar os efeitos do déficit hídrico às plantas (SANTOS e CARLESSO, 1998).

Não é apenas a precipitação que provoca o déficit hídrico, mas, também, a associação a outros fatores característicos da região, como altas temperaturas associadas à alta intensidade luminosa, que provoca uma alta demanda evaporativa e conseqüentemente dessecação do solo (Trovão et al., 2007), no entanto, dentre os fatores ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a deficiência hídrica constitui uma das mais importantes limitações à produtividade e à

distribuição dos vegetais, apresentando influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS; SUNKAR, 2005), principalmente em lavouras de espécies economicamente importantes como o arroz, o milho, o trigo e a cana-de-açúcar.

O déficit hídrico é uma das limitações ambientais mais comum à produção de muitas culturas que pode apresentar um impacto negativo substancial no crescimento, desenvolvimento e na produtividade das plantas, causando muitas mudanças metabólicas, mecânica e oxidativa (LECOEUR e SINCLAIR, 1996), induzindo um conjunto de respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares em plantas que desenvolvem habilidade para adaptação às circunstâncias ambientais limitantes, dependendo da intensidade e da duração do estresse, dos efeitos interativos de outros tipos de estresse, do estágio de desenvolvimento e do genótipo (MENESES et al., 2006).

Quando submetidas ao estresse hídrico, as plantas desenvolvem alguns mecanismos de resposta a esse tipo de estresse, que se resume em três principais eventos: percepção dos sinais, respostas em nível molecular e respostas morfofisiológicas (MENESES et al., 2006). Segundo Larcher (2004), durante o estresse, o organismo passa por uma sucessão de fases. A fase percepção é o início do distúrbio, ocorrendo perda da estabilidade de proteínas e biomembranas, e inicia como uma resposta ao estresse. Já na fase de recuperação, ocorrem processos de reparo, como a síntese proteica e de substâncias de proteção, levando a fase de tolerância, caracterizada pelo aumento na resistência por parte do organismo. Por fim uma melhora na estabilidade ocorre mesmo sob estresse contínuo, configurando na fase de adaptação, porém se o estresse persistir por muito tempo e/ou a intensidade aumentar, um estado de exaustão pode ocorrer na fase final, resultando na morte da planta

De acordo com Taiz; Zeiger (2013) na maioria dos casos, o estresse é medido em relação a sobrevivência das plantas, produtividade agrícola, crescimento (acumulação de biomassa) ou aos processos primários de assimilação (absorção de CO₂ e minerais), que estão relacionados ao crescimento geral.

A água é uma das substâncias essenciais à vida de um vegetal, estando intrinsecamente relacionadas com várias funções como estrutura, crescimento, transporte e metabolismo. É a substância mais abundante em plantas em crescimento ativo, podendo constituir cerca de 90% do peso fresco de muitos

órgãos, embora possa ter valor inferiores a 15% em sementes e tecidos muito lignificados (MENESES et al., 2006; TAIZ; ZEIGER 2009). De fato, é indiscutível a importância da água para o crescimento vegetal, devido à turgidez celular ocasionada pelo influxo de água no vacúolo, quando os hormônios do crescimento vegetal (auxinas ou giberelinas) estão promovendo o alongamento celular (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A cana-de-açúcar é uma espécie moderadamente sensível ao estresse hídrico (MAAS e HOFFMAN, 1977), Embora adaptada às condições de elevada intensidade luminosa, altas temperaturas e relativa escassez de água, deficiência hídrica durante as fases de perfilhamento e início do alongamento dos colmos pode acarretar reduções expressivas no rendimento de colmos e de açúcar. Entretanto, a restrição hídrica especificamente durante a fase de maturação promove aumento na concentração de sacarose nos colmos (INMAN-BAMBER, 2004; SILVA et al., 2011). Diante disto, verifica-se que, a necessidade hídrica da cana-de-açúcar varia conforme a cultivar e o estágio vegetativo em que a cultura se encontra (AUDE, 1993).

Segundo Castro (2000), a cana-de-açúcar necessita de elevada disponibilidade de água, durante o estágio vegetativo, a fim de apresentar rendimento adequado, sendo necessários 130 a 150 litros de água para a produção de 1 kg de massa seca. Baseado nesses aspectos, uma pequena redução do potencial de água no solo afeta a divisão, o alongamento e expansão celular em cana-de-açúcar (INMAMBAMBER; SMITH, 2005). Tal fato reduz o acúmulo de matéria seca, conseqüentemente, a taxa de crescimento e o índice de área foliar (INMAN-BAMBER, 2004).

A diminuição da disponibilidade hídrica no solo proporciona maior redução na produtividade da cana-planta no período de máximo desenvolvimento e na cana-soca no estágio inicial de crescimento (ROSENFELD; LEME, 1984). Na fase de intenso perfilhamento, a deficiência hídrica prejudica o desenvolvimento dos perfilhos, o que acarreta em redução no número de colmos produtivos no final do ciclo (BARBOSA et al., 2012).

A deficiência hídrica na fase inicial afeta o rendimento da cana-de-açúcar, reduzindo o tamanho das plantas, produção de perfilhos; número, altura e diâmetro de colmos industrializáveis; área foliar e o peso individual dos colmos (ROBERTSON et al., 1999; RAO et al., 2005). Vale ressaltar que, a maior produtividade de cana-de-

açúcar sob deficiência hídrica foi obtida em cultivares que mantiveram os melhores resultados nesses atributos biométricos (SILVA et al., 2008). No entanto, mesmo considerando as alterações morfofisiológicas, para evitar os efeitos negativos da deficiência hídrica, as plantas de cana-de-açúcar apresentam reduções significativas na produção de biomassa (MACHADO et al., 2009).

Inman-Bamber, 2004, constatou redução de 35% na produção de biomassa, em um período de elevada demanda evaporativa das plantas jovens de cana-de-açúcar. O mesmo autor também verificou que o decréscimo na expansão das folhas e do colmo ocorre antes da redução do número de folhas verdes e, posteriormente, influenciam o acúmulo de biomassa e de sólidos solúveis no caldo. Isso implica que quando a planta apresenta as primeiras folhas secas em decorrência do estresse hídrico, seu metabolismo já foi severamente afetado e todo seu potencial produtivo já está comprometido.

A redução da disponibilidade de água também pode promover alterações no número de folhas verdes; no comprimento e na largura das folhas; na área foliar e massa foliar específica; na densidade e condutância estomáticas; na eficiência quântica do fotossistema II; no teor relativo de água, no conteúdo de clorofila total, razão clorofila a/b, bem como dos pigmentos carotenoides e alterações no acúmulo de matéria seca da parte aérea e das raízes (PINCELLI, 2010; SILVA et al., 2007; BEGUM et al., 2012; GONÇALVES, 2010).

Segundo Doorembos e Pruitt (1979) e Thompson (1976), pode ocorrer deficiência hídrica durante todo o ciclo da cultura, porém o efeito sobre a produtividade é variável de acordo com o estágio fenológico, a época do ciclo e, principalmente, a intensidade e duração da deficiência hídrica. Assim sendo, Doorembos e Kassam (1979) afirmam que uma umidade disponível adequada durante o período vegetativo é importante para a obtenção da máxima produtividade, porque esse crescimento da cultura é diretamente proporcional à água transpirada. Assim, existe um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO₂ para produção de carboidratos (TAIZ e ZEIGER, 2009). Segundo Gonçalves (2010), o estresse hídrico severo reduz significativamente a condutância estomática, transpiração, fotossíntese líquida e a eficiência no uso da água da produtividade, independente da variedade.

2.7 Estresse oxidativo

O acúmulo de oxigênio molecular (O_2) na atmosfera da terra, possibilitou a evolução dos processos metabólicos dos organismos aeróbicos que utilizam O_2 comoceptor final de elétrons. A evolução desses processos, tais como a respiração e a fotossíntese, inevitavelmente, leva a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em mitocôndria, cloroplastos e peroxissomos (SCANDÁLIOS 1993; PITZSCHKE et al., 2006). O O_2 é pouco reativo, mas tem capacidade de originar estados excitados reativos como radicais livres e derivados. (SCANDÁLIOS, 1993).

A absorção do excesso de energia resultante do aumento na fração do fluxo de fótons fotossintéticos que não são utilizados na fotossíntese nem dissipados como calor, promove aumentos na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são subprodutos do metabolismo celular regular, mas que podem ser gerados a partir da destruição do sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse. São formadas como consequência da redução do oxigênio, como o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($\bullet OH$), os quais juntamente com o oxigênio singlete (O_2^1) que se forma no processo fotoquímico da fotossíntese, são as formas biológicas mais importantes de radicais livres (SCANDÁLIOS; ACEVEDO; RUZSA, 2000). Nos cloroplastos, a formação de EROs está relacionada com eventos na fotossíntese. A fotorrespiração é outra forma de produção de H_2O_2 nos peroxissomos (BREUSEGEM et al., 2001)

O superóxido ($O_2^{\bullet-}$), é formado devido formação elétrons desemparelhados nas cadeias transportadoras de eletros das mitocôndrias e dos cloroplastos, onde ocorre também a formação do oxigênio singlet a partir da transferência de energia de excitação das clorofilas para o oxigênio. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é produzido através das reações de fotorrespiração dos peroxissomos ou ainda pode ser produto da β -oxidação de ácidos graxos. A hidroxila ($\bullet OH$) tem um grande potencial oxidativo, atacando macromoléculas e levando a danos celulares como peroxidação lipídica, desnaturação proteica e mutação no DNA, o que pode levar a disfunções metabólicas irreparáveis e até morte celular. O oxigênio singlet (O_2^1) é formado a partir da transferência de energia de inúmeras ativações para o O_2 , também produz efeitos deletérios (MOLLER, 2001; BOWER; VAN MONTAGU; INZÉ, 1992; SCANDÁLIOS, 2005).

As formas ativadas de oxigênio são extremamente reativas e citotóxicas para todos os organismos, age inativando enzimas e provocando importantes danos, em nível celular, sendo ainda responsáveis pelo início da peroxidação de lipídios e produzem radicais peroxilipídios, que também é muito reativo, acarretando na peroxidação dos lipídios da plasmalema provoca perda de eletrólitos, rápida dessecação e morte celular (BENSON, 1990). O H_2O_2 , por sua vez, quando em altas concentrações na célula pode inibir a fixação de carbono, atuando em enzimas do ciclo de Calvin (SCANDALIOS, 2005) quando comparados aos demais radicais, o $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 são relativamente pouco reativos, mas quando em presença de íons metálicos a exemplo do Fe, ativam uma sequência de reações que levam a formação de $\bullet OH$. O $\bullet OH$ e o O_2^1 são tão reativos que suas produções devem ser minimizadas rapidamente. (BOWLER; VANMONTAGU; INZÉ, 1992). A ($\bullet OH$) é considerada a ERO mais reativa e danosa por reagir com todas as moléculas biológicas como DNA, lipídios e proteínas, devido a sua facilidade de difusão entre as membranas e pela falta de uma enzima antioxidante específica para sua remoção (LAWLOR, 2001; DESIKAN, 2004; GILL & TUTEJA, 2010).

As moléculas que causam estresse oxidativo têm origem do oxigênio que se torna reativo a partir do fornecimento de energia em sítios de transporte de elétrons e fontes enzimáticas. Segundo Lawlor (2001), os pigmentos excitados doam energia ao O_2 , produzindo o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) estima-se que entre 1% e 2% do O_2 consumido seja desviado para a produção de EROs em diferentes locais subcelulares e entre 1% e 5% do O_2 consumido nas mitocôndrias resulte na produção de EROs (BHATTACHARJEE, 2005; MOLLER, 2001; TAIZ & ZEIGER, 2015). Nos cloroplastos, o FSI e FSII são os locais principais para a produção do oxigênio singlete (O_2^1) e superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Nas mitocôndrias, complexo I, ubiquinona e complexo III da cadeia transportadora de elétrons (CTE) são os principais locais da produção de superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (GILL & TUTEJA, 2010).

A deficiência hídrica é a principal responsável pelo estresse de plantas nas regiões tropicais. Assim como o déficit hídrico, outros fatores, abióticos e/ou bióticos, interferem na fotossíntese e são indutores em potencial do estresse oxidativo. (DESIKAN et al., 2004). A produção EROs é potencializada por vários estresses, como exposição a níveis elevados de irradiância, seca, toxidez por metais pesados, deficiências nutricionais, condições anóxicas, elevada concentração de sais, extremos de temperatura, radiação ultravioleta, poluição do ar, herbicidas, estresses

físico e mecânico e, também, como resposta aos estresses bióticos, como os causados por ataques de patógenos (ASADA, 1999; DESIKAN et al., 2004). Devido ao estresse, a planta apresentará uma redução no uso de energia captada e o estresse oxidativo terá origem no desbalanço entre a oferta de energia obtida dos fótons absorvidos e a quantidade de energia efetivamente utilizada pela fotossíntese (CRUZ de CARVALHO, 2008; CHEESEMAN, 2007).

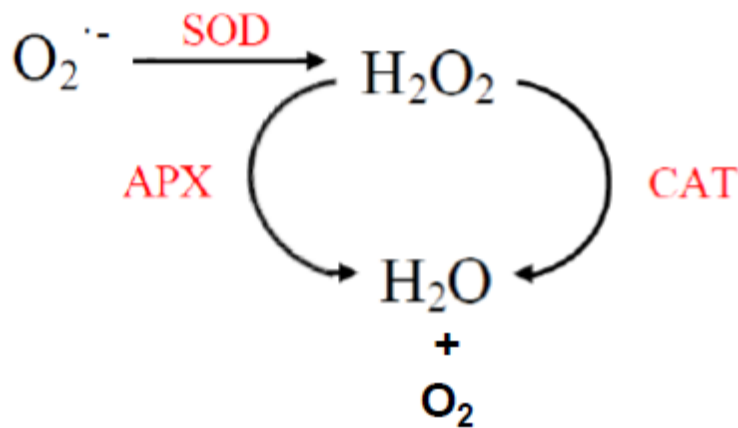
Sob condições adequadas de desenvolvimento, as EROs são produzidas normalmente em várias vias metabólicas das plantas em baixas quantidades nas células ($240 \text{ mM s}^{-1} \text{ O}_2^{\bullet-}$ e em nível “stand-state” de $0,5 \text{ mM s}^{-1}$ de H_2O_2) nos cloroplastos, no entanto, em condições de estresse, ocorrem alterações das vias metabólicas, que podem levar a um acréscimo na produção destas EROs (240 a $720 \text{ mM s}^{-1} \text{ O}_2^{\bullet-}$ e 5 a 15 mM s^{-1} de H_2O_2) (MITTLER, 2002 ASADA, 2006; GILL; TUTEJA, 2010). Dessa forma, devido aos efeitos nocivos das de altas concentrações de EROs nas células, se faz extremamente importante e necessário o equilíbrio entre a produção e controle das EROs.

2.8 Sistema antioxidante

Em resposta ao ambiente oxidativo, as plantas desenvolveram mecanismos para proteção das células e mitigar os efeitos tóxicos das ERO's que inclui enzimas e substratos moleculares que limpam espécies radicais e não radicais de oxigênio. Os principais mecanismos de defesa incluem, principalmente, a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), (ASADA, 1999; BILGIN, 2010 ; LOGGINI et al., 1999; FU e HUANG, 2001).

É observado a ação conjunta dessas enzimas no sistema antioxidante (Figura 1) ocorrendo um balanço entre as enzimas SOD, CAT e APX de forma que na ausência de uma delas, outras enzimas compensem sua ação para garantir a efetividade do sistema antioxidante. O equilíbrio entre estas enzimas nas células é fundamental para a determinação do nível de estado estacionário (steady-state) de radicais superóxido e peróxido de hidrogênio (APEL & HIRT, 2004)

Figura 1 - Produção de H_2O_2 pela enzima superóxido dismutase (SOD) por dismutação do ânion superóxido, e ação desintoxicante das enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), convertendo H_2O_2 a H_2O e O_2 .



A SOD catalisa a dismutação dos radicais livres superóxido ($O_2^{\bullet-}$) para o O_2 e H_2O_2 , que também é tóxico nas células, enquanto a APX e CAT são enzimas específicas na eliminação do peróxido de hidrogênio em plantas, que catalisa a dismutação do H_2O_2 em água e oxigênio (McCLUNG, 1997; ASADA, 1992; GIANNOPOLITS & RIES, 1977). O aumento da atividade dessas enzimas minimiza os efeitos deletérios do H_2O_2 sobre a célula e suas estruturas desempenhando um papel fundamental no equilíbrio redox (MAIA; MITTLER, 2002). É frequente o aumento da atividade de uma ou mais enzimas do sistema antioxidativo, em condições de estresse, como registrado para a APX e CAT (AGARWAL; PANDEI, 2004; KOCA et al., 2007; ABOGADALLAH et al., 2010; MAIA et al., 2010).

Embora haja essa característica, CAT e APX não são completamente redundantes, visto que cada uma tem sítio principal de ação diferentes (WILLEKENS et al., 1997). Enfim, o balanço entre as enzimas SOD e as responsáveis pela eliminação do H_2O_2 regula a presença de $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 nas células (BOWLER et al., 1991).

Diversas evidências indicam que os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico podem estar associados, também, com a tolerância ao estresse oxidativo, assim como um incremento da atividade de substâncias não enzimáticas e de enzimas de defesa contra oxirradicais que atuam sequestrando radicais livres (BAISAK et al., 1992; ZHANG e KIRKHAM, 1994; SMIRNOFF et al., 1995). A eficiência dessa regulação na planta pode diferencialmente atribuí-las como tolerantes ou sensíveis ao estresse oxidativo. Dessa forma, a tolerância da planta ao estresse hídrico pode ser garantida pelo aumento da expressão das enzimas antioxidantes para combater as EROs implicando na eliminação desses radicais pelo sistema antioxidante.

Plantas que superexpressam enzimas antioxidantes mostram um aumento na tolerância ao estresse oxidativo (GUPTA et al., 1993; PERL et al., 1993; BOWLER et al., 1994)

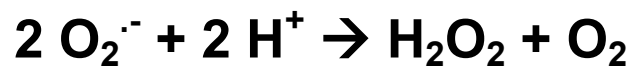
Nos cloroplastos, o controle da produção e proteção contra EROs se mostrou essencial para a tolerância à seca (MITLER, 2003; MITLER et al., 2004).

Em genótipo de cana-de-açúcar sensível à seca verificou-se maior acúmulo de produtos de peroxidação lipídica e de H₂O₂ sob déficit hídrico (CIA et al. 2012). Já em genótipos tolerantes verificou-se aumento da atividade das enzimas CAT e APX (SALES et al. 2013)

2.8.1 SOD

A superóxido dismutase (SOD) é considerada a primeira enzima na linha de defesa do sistema antioxidante e a mais efetiva, por ser uma enzima onipresente e de alta velocidade de reação (Apel; Hirt, 2004). Sendo responsável pela dismutação de radicais superóxido O₂^{•-} resultando nos produtos H₂O₂ e O₂ (Figura 2) (GRATÃO et al., 2005). As SODs são classificadas conforme seus cofatores: cobre/zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD), e são encontradas em quase todos os compartimentos celulares, no ciclo da água nos cloroplastos, no ciclo da ascorbato-glutationa nos cloroplastos, nas mitocôndrias, citosol e peroxissomos. O aumento da atividade de SOD tem sido observado em várias espécies submetidas a condições estressantes (BIENERT et al., 2007).

Figura 2 – Dismutação do superóxido catalisada pela SOD.

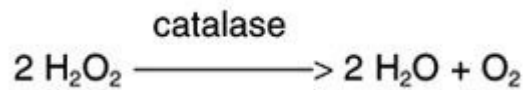


2.8.2 CAT

A catalase (CAT) é considerada o segundo sistema de prevenção contra o estresse oxidativo, atuando na dismutação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio (Figura 3). É encontrada nos peroxissomos, glioxissomos, citosol e

mitocôndrias, no entanto, sua localização é quase restringida aos peroxissomas onde funciona essencialmente para remover o excesso de H_2O_2 (na faixa de mM) sob condições estressantes formado durante a fotorrespiração, limitando dessa forma a sua capacidade para manter os teores de H_2O_2 baixos o suficiente para prevenir danos em outros compartimentos celulares, como nos cloroplastos (GARA, 2004; ASADA 2006; CARVALHO, 2008).

Figura 3 – Degradação do peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima catalase.



Três tipos distintos de catalase são conhecidas, CAT 1, 2 e 3. A CAT 1, é responsável por 80% da atividade total de enzimas e se localizam-se nos peroxissomos, sendo responsável pela degradação de H_2O_2 gerado na fotorrespiração. A CAT 2, é encontrada em tecidos vasculares e a CAT 3, está localizado no mesófilo das folhas (SCANDALIOS, 1990; 1993)

Apesar de ter menor afinidade com H_2O_2 comparada a APX. A CAT não tem sua atividade afetada pelo estado redox das células, visto que não necessita de redutores equivalentes para sua função. Podendo ainda dismutar grande quantidade de H_2O_2 com apenas uma molécula e sua grande importância está na remoção de H_2O_2 gerado nos peroxissomos por oxidases envolvendo a β -oxidação de ácidos graxos e fotorrespiração. Tem a capacidade de gerar dismutação direta do H_2O_2 a água e O_2 (MITLER, 2002; GILL & TUTEJA, 2010)

2,8.3 APX

A ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima localizada em todos os compartimentos de produção de EROs, sendo responsável pela degradação de H_2O_2 em nível celular utilizando o ascorbato como substrato (Figura 4). (TORRES NETO, 2005; CRUZ de CARVALHO, 2008; ASADA, 1992). A catalase está ausente nos cloroplastos e a degradação de peróxido de hidrogênio nesse compartimento se dá pela APX tilacoidal (FOYER et al., 1994)

Figura 4 – Degradação do peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima ascorbato peroxidase (APX).



A APX apresenta alta especificidade por ascorbato como substrato redutor e catalisa a redução de H_2O_2 onde ocorre a oxidação de ascorbato, reação que resulta em monodeidroascorbato (MDHA) e H_2O (ASADA, 1999; GARA, 2004; SHARMA et al., 2012).

A APX está envolvida na manutenção do metabolismo celular no início da condição estressante e na sinalização, por meio de ajuste da concentração de EROs (MITLER, 2002), pois possui alta afinidade por H_2O_2 . Assim como a SOD, aumentos da atividade de APX são observados em condições de estresse (TORRES NETO et al., 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Localização experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, localizado no município de Rio Largo - AL (9°28' S, 35°49' W, a 127 m de altitude), desenvolvido no período de 18/06/2015 a 08/10/2015.

3.2 Material vegetal

Foram utilizados seis genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) oriundas da Estação de Floração e Cruzamento de Cana-de-açúcar da Serra do Ouro (EFCSO), Murici – AL, cedidas pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA/CECA/UFAL), composta por variedades comerciais de cana-de-açúcar *S. officinarum* e variedades silvestres *S. spontaneum*.

A escolha dos materiais fundamentou-se na seleção de variedades com alto teor de sacarose e baixo teor de fibra, características agroindustriais da cana-de-

açúcar destinadas a produção de açúcar e álcool a partir da sacarose, e genótipos com menor teor de sacarose e maior teor de fibra, denominadas de cana-energia, variedades destinadas para a produção de açúcar e álcool da sacarose e cogeração de energia e etanol de segunda geração (2G) a partir da fibra.

Os genótipos estudados foram RB92579, RB867515, RB11999, RB330, IN8484, IN8272, sendo as três primeiras do gênero *S. officinarum* e as três últimas do gênero *S. spontaneum*. As variedades RB92579 e RB867515 são variedades comerciais de cana-de-açúcar com 10 a 14% de fibra, a variedades RB11999 é um híbrido obtido do cruzamento entre cana-de-açúcar e cana energia e possuem 1 a 2% a mais de fibra que as variedades comerciais de cana-de-açúcar. Os genótipos RB330, IN8482 e IN8272 possuem alto teor de fibrar, acima de 18%, sendo as duas últimas de linhagem selvagem. A seleção dos materiais foi fundamentada nas características pretendidas para o estudo e sua importância no setor sucoenergético local e nacional, conforme indicação do PMGCA.

3.3 Instalação e condução do experimento

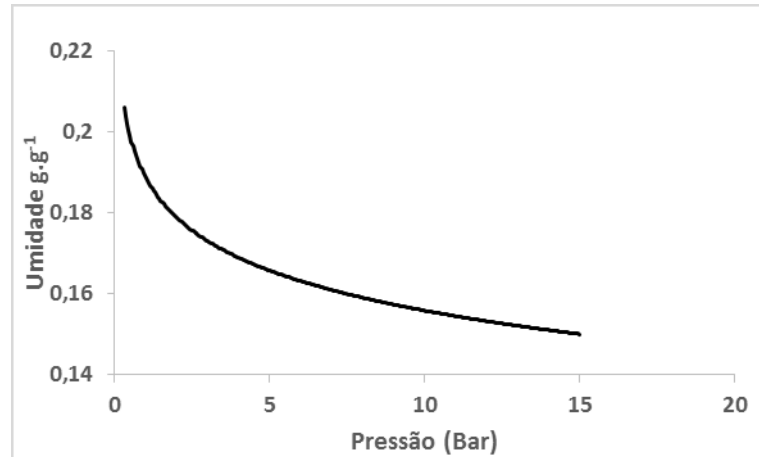
A plantas foram obtidas a partir do seccionamento dos rebolos de mesma idade em uma única gema e semeadas em uma sementeira. Após formação das mudas, aos 20 dias após o plantio (DAP), estas foram transferidas e distribuídas em duas mudas para cada vaso contendo 12 kg de substrato selecionando-se as plantas mais vigorosas, mantendo-se a uniformidade e homogeneidade das mesmas.

Foram realizadas a análise química (Tabela 1) e a curva de retenção de umidade (Figura 5) do substrato utilizado (estéril a base de material orgânico contendo macro e micronutrientes necessários para o desenvolvimento inicial das plantas). A curva de retenção de umidade foi realizada no Laboratório de Física do Solo, do CECA, pelo método de placas porosas de Richards (1965).

Tabela 1 – Análise química do substrato utilizado no experimento de cana-de-açúcar

pH	M.O.	Na	P	K	Ca + Mg	Ca	Mg	Al	H + Al	Fe	Cu	Zn	Mn	SB	CTC	V	m
	(g kg ⁻¹)	(mg dm ⁻³)			(mmol _c dm ⁻³)					(mg dm ⁻³)				(cmol _c dm ⁻³)		(%)	
5,9	2,87	131	134	300	10,9	8,7	2,2	0,6	2,1	279,2	1,94	24,23	65,18	12,2	14,34	85,4	0,5

Figura 5 – Curva de retenção de umidade do solo determinada pelo método de placas porosas de Richards.



Até o início dos tratamentos, os vasos foram mantidos próximo à capacidade de campo (CC), com base na curva de retenção de umidade. A aplicação dos tratamentos se deu aos 78 dias após o transplântio através da restrição hídrica, durante um período de 34 dias até o término do experimento aos 112 DAP.

As plantas do tratamento controle receberam irrigação plena mantidas com 20,83% de umidade (100% da capacidade de campo) e as plantas submetidas a estresse hídrico tiveram reposição diária da água mantidas até 50% da capacidade de campo, 17,1% de umidade. A reposição de água foi determinada através da pesagem dos vasos, com base na curva de retenção de umidade do solo.

3.4 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento em blocos casualizados (DBC), em arranjo fatorial 6 x 2, constituído de seis genótipos de cana, submetido a duas condições hídricas, sem estresse controle e com estresse, com cinco repetições, totalizando 60 parcelas.

3.5 Análise de crescimento

Foi acompanhado o crescimento das plantas semanalmente para análise de crescimento e dos parâmetros fisiológicos. Foram realizadas medidas de altura de

planta, comprimento e largura da folha +3 (terceira folha completamente expandida), utilizando fita métrica milimetrada, o diâmetro do colmo foi medido com paquímetro digital (Digimess). A contagem do número de folhas e perfilhos e mortalidade de cada tratamento foi realizada ao longo do período do experimento. Foi considerada como altura de planta, o comprimento compreendido entre o nível do solo até a inserção da folha +1. De posse desses dados foram calculadas as taxas médias de incremento para os tratamentos ao longo do tempo.

Ao término do experimento (112 DAP) as plantas foram separadas em folhas, colmos e raízes e em seguida o material vegetal foi levado a estufa de circulação forçada, a 70 °C, até atingir massa constante. Após isso foram pesadas para obtenção da massa seca das folhas (MSF), colmos (MSC) raízes (MSR) e total da planta (MST). A partir desses valores calculou-se a alocação de biomassa (%) nas folhas (ABF), nos colmos (ABC), e nas raízes (ABR) através das equações.

$$ABF = \frac{MSF}{MST} * 100$$

$$ABC = \frac{MSC}{MST} * 100$$

$$ABR = \frac{MSR}{MST} * 100$$

3.5 Índices fisiológicos

Para determinação dos índices fisiológicos, foram feitas duas amostragens de avaliações morfológicas, sendo uma antes da submissão do estresse às plantas e outra no final do experimento, determinando-se a massa seca com auxílio de uma balança e área foliar determinada com o auxílio de um medidor de área foliar Licor – biosciences modelo (Li3100C área meter) expressa em cm². A partir dos dados da primeira e segunda avaliação, aos 78 e 112 (DAP) respectivamente, foi possível determinar os índices fisiológicos com uso de fórmulas e equações matemáticas indicadas para análise quantitativa de crescimento vegetal (Radford, 1967; Reis e Muller, 1979; Causton & Venus, 1981; Hunt, 1982; Magalhães, 1995; Pereira & Machado, 1987; Benincasa, 2003; Cairo et al, 2008).

3.5.1 Taxa de crescimento absoluta (TCA)

A TCA (g dia^{-1}) avalia o ganho de produtividade primária líquida. É a variação do somatório das taxas de crescimento de diversos componentes da planta ao longo do tempo, determinada pela equação:

$$TCA = \frac{(W_2 - W_1)}{(t_2 - t_1)}$$

Em que: W = massa seca total, t = tempo em dias 1 e 2 = valores das amostras sucessivas, respectivamente, aos 78 e 112 DAP.

3.5.2 Taxa de crescimento relativo (TCR)

A TCR ($\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$) é a medida mais apropriada para avaliar o crescimento vegetal. É dependente da quantidade de material acumulado gradativamente e expressa o incremento de massa seca, por unidade de massa inicial, em um intervalo de tempo, determinado a partir da equação:

$$TCR = \frac{(\ln W_2 - \ln W_1)}{(t_2 - t_1)}$$

Em que: ln = logaritmo neperiano.

3.5.3 Área foliar específica (AFE)

AFE ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) representa a relação da superfície ou área foliar com a massa seca da folha. É um indicativo da espessura ou densidade da folha. Para determinar usa-se a equação:

$$AFE = \frac{AF}{MS_{folha}}$$

Em que: AF = área foliar total, MSfolha = massa seca foliar total.

3.5.4 Razão de massa foliar (RMF)

A RMF (g g^{-1}) é a massa correspondente à fração de massa seca retida nas folhas em relação a massa seca acumulada na planta. Expressa a fração da massa seca não exportada pelas folhas. Para obtenção desses valores usou-se a equação:

$$RMF = \frac{(MS_f)}{(MS_t)}$$

Em que: MS_t = massa seca total da planta, MS_f = massa seca foliar total.

3.5.5 Índice de Translocação de massa

O ITM (g g^{-1}), é o inverso da RMF e corresponde a fração de massa de matéria seca na planta em relação a massa seca retida nas folhas. Expressa a fração de massa seca translocada das folhas para outros órgãos das plantas. Obtida pela equação inversa da RMF:

$$ITM = \frac{(MS_t)}{(MS_f)}$$

3.5.6 Razão de área foliar (RAF)

A RAF ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$), também chamada de coeficiente de área foliar, representa a relação entre a área foliar específica e a razão de massa foliar, calculada de acordo com a equação:

$$RAF = AFE * RMF$$

Em que: AFE = área foliar específica. RMF = razão de massa foliar.

3.5.7 Índice de área foliar (IAF)

O IAF ($\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$) da planta, constitui sua matéria prima para a fotossíntese, sendo de valia para a síntese de carboidratos, lipídios e proteínas. Representa a área foliar total da planta (m^2) por superfície do solo, ou unidade de área do terreno (m^2), funcionando como importante indicador da superfície foliar disponível ou apta para intercepção e absorção de luz. É obtida usando-se a equação:

$$IAF = AF * S$$

Em que: S = superfície do solo ocupada pela planta em m^2 .

3.5.8 Taxa de crescimento da cultura (TCC)

A TCC ($\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) é representada pela quantidade de matéria seca da planta acumulada por unidade de área do solo ou espaço ocupado em relação ao tempo. Corresponde a taxa de massa seca de uma comunidade vegetal, calculada pela equação:

$$TCC = \frac{(W_2 - W_1)}{S} \cdot \frac{1}{(t_2 - t_1)}$$

Em que:

S = representa a área amostrada ocupada pela cultura em m^2 .

3.6 Relações hídricas

3.6.1 Teor relativo de água (TRA)

O TRA foi obtido a partir das folhas frescas de cana-de-açúcar. As amostras compostas de 8 discos foliares com 6 mm de diâmetro foram retiradas do centro do limbo foliar, evitando a nervura central, e imediatamente pesadas utilizando-se uma balança de precisão de miligramas, obtendo-se a massa da matéria fresca (MF). Em seguida, os discos foram acomodados em pequenos discos submersos em água destilada para atingirem saturação hídrica, sendo mantidos no escuro em geladeira

à aproximadamente 10°C durante o período de 24 horas. Posteriormente, os discos foram retirados da água, eliminando-se o excesso de água com papel absorvente e pesados imediatamente para a determinação da massa túrgida (MT). Em seguida, obteve-se a massa seca (MS) por meio da secagem dos discos em estufa (70 °C) até atingirem massa constante. O TRA foi calculado conforme Klar (1984), através da equação:

$$TRA = \frac{(MF - MS)}{(MT - MS)} * 100$$

3.6.2 Potencial da água na folha na antemanhã (Ψ_w)

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi determinado na antemanhã, entre quatro e cinco horas e ao meio dia, utilizando uma bomba de pressão de Scholander modelo PMS Instrument, modelo 600, USA, de acordo com metodologia de Scholander et al. (1965). A determinação consistiu na coleta de amostras da folha 3⁺, terceira folha completamente expandida e com bom estado fitossanitário, sendo cortadas e imediatamente alocadas em caixa de isopor com gelo e em seguida levadas ao laboratório e colocadas na câmara da bomba de pressão, e em seguida aplicada a pressão (bar) até a exsudação de líquido pelo pecíolo da folha, momento esse da leitura da pressão aplicada (TURNER, 1981).

3.7 Extravasamento de eletrólitos

Para acessar a estabilidade das membranas foi utilizada a técnica do extravasamento de eletrólitos, conforme a metodologia descrita por Pimentel et al. (2002) com adaptações. Foram retirados 8 discos foliares de 6 mm de diâmetro com o auxílio de um furador. O material foi imerso em tubos contendo 20 mL de água destilada, os quais ficaram sob agitação constante por um período de 24 horas. Decorrido a esse intervalo, realizou-se a primeira leitura com condutímetro de bancada caracterizando a medida de condutividade livre (CL – μs). Em seguida, os discos foram postos em banho maria a 90 °C por uma hora e posteriormente aferida novamente a condutividade elétrica, caracterizando a condutividade total (CT – μs).

A partir desses dados foi calculado o extravasamento de eletrólitos (EE %) pela equação abaixo, sendo esse valor expresso em porcentagem.

$$EE = \frac{CL}{CT} * 100$$

3.8 Quantificação dos pigmentos fotossintéticos

A quantificação de pigmentos foi determinada pelo método de Hendy e Grime (1993), com alterações. As folhas foram coletadas e imediatamente acondicionadas papel alumínio e posto em banho de gelo em uma caixa de isopor. Utilizando um furador metálico de 6 mm de diâmetro, foram retirados os discos foliares, desprezando-se a nervura central. Um total de 10 discos foliares foram transferidos para tubo de ensaio, contendo 5 cm de acetona 80% (v/v) e mantidos no escuro a temperatura de 25°C por um período de 24 horas. As leituras de absorvâncias dos extratos foram feitas em espectrofotômetro (ThermoScientific®, Genesys 10S, EUA), a 480 nm, 663 nm e 645 nm. A partir das leituras espectrofotométricas, foram calculados os teores de clorofilas e carotenóides usando as equações:

$$\text{Clorofila } a = \frac{(12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V}{MF} \text{ (mg } g^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Clorofila } b = \frac{(22,9 \times A_{643} - 4,68 \times A_{665}) \times V}{MF} \text{ (mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Clorofila total} = \frac{(8,02 \times A_{663} - 20,2 \times A_{645}) \times V}{MF} \text{ (mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Carotenóides} = \frac{(A_{480} + 0,114 \times A_{663} \times A_{645}) \times V \times 10^{-3}}{112,5 \times MF} \text{ (mmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MF)}$$

Onde:

A_{480} , A_{663} e A_{645} = são as absorvâncias em 480, 663 e 645 nm, respectivamente;

V = volume de acetona a 80% utilizado na extração;

MF = peso de matéria fresca.

A partir dos valores de obtidos através das equações, foram calculados as razões de clorofila a:b e clorofila total (carotenoides).

3.9 Análises bioquímicas

3.9.1 Extração e quantificação da atividade de enzimas antioxidantes – SOD, CAT e APX

As análises de atividade enzimática de enzimas antioxidantes foram realizadas no laboratório de ecofisiologia vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo – AL.

3.9.1.2 Superoxido Dismutase (SOD)

Para a extração e determinação da SOD foi usado os métodos espectrofotométrico descrito por Giannopolitis e Reis (1977) e de Beauchamp; Fridovich (1973) com algumas modificações necessárias. O extrato foi obtido com aproximadamente 100 mg de material foliar fresco ausentes das nervuras centrais, macerado em nitrogênio líquido com auxílio de almofariz e pistilo até obtenção de pó bem fino e homogêneo, adicionando-se 100 mg de PVPP (Poliviniu- polipirrolidona) e em seguida foi adicionado 2 ml do meio de extração, Tampão Fosfato de Potássio (TFK) 300 nM, pH = 7,8. Os extratos obtidos foram transferidos para micro tubos de 2 ml e centrifugado em centrífuga (Sigma laborzentrifugem – 2k15) a 15000 g por 15 min a 4 °C, em seguida, o sobrenadante foi coletado e transferido para novo micro tubo de 2 ml e mantido a -80 °C até a análise.

Na determinação da SOD, as amostras foram descongeladas e mantidas a 4 °C condicionadas em banho de gelo, em seguida retirou-se uma alíquota de 100 µL do extrato ao qual foi adicionado 1,9 mL do meio de reação constituído de Tampão (TFK) 300 nM, pH 7,8, EDTA a 100 nM, Cloreto de Azul Nitroblutetrazólio (NBT) 75 µM, metionina 10 mM, e riboflavina a 2 µM.

A reação foi realizada em câmara escura com luz fluorescente a 15 W por aproximadamente 5 min. Para realização do ensaio foram utilizados dois brancos (A e B) o branco A foi utilizado para calibração do espectrofotômetro, contendo apenas TFK e o branco B utilizado com branco da amostra substituindo a alíquota do extrato por tampão TFK no meio de reação. Os tubos dos brancos foram incubados sobre as mesmas condições juntamente com as amostras, no entanto, o branco A foi mantido sob condição de escuro total coberto por papel alumínio. O espectrofotômetro foi zerado com o branco A e prosseguiu-se as leituras com os brancos B e as amostras.

Nos tubos do branco B que continha meio de reação sem adição de extrato, ocorreu a formação de formazona (coloração roxa) que é formada através da reação entre o radical superóxido e o NBT, sendo que a SOD compete com o NBT pelo radical superóxido deixando a amostra com uma coloração mais clara que a do branco B (branco da amostra).

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro digital (Thermo Scientific Genesys 10, Madison, USA) a 560 nm, em cubeta de vidro. A determinação da atividade da SOD é dada pelo fato da enzima inibir a fotorredução do Cloreto de Azul de Nitroblutetrazólio (NBT) na presença de luz. Deste modo, observou-se a formação da formazona proveniente da redução do NBT em presença de luz. Essa reação é paralisada ao deter a luz.

As análises foram realizadas em triplicata e as unidades SOD foram calculadas, e uma unidade de SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT. Os valores expressos em unidades de SOD mg^{-1} de proteínas.

3.9.1.3 Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase (CAT) foi quantificada utilizando o método de Havir e McHale (1987) com modificações. Aproximadamente 100 mg de material foliar fresco sem nervuras foram macerados (almofariz e pistilo) em 300 mg de PVPP (Poliviniu- polipirrolidona) e 2 mL de meio de extração “Tampão TFK” (Tampão Fosfato de Potássio 50 mM (pH 7,5); EDTA 2 mM; Ascorbato 20 mM; Triton X 100 0,1%,) e H₂O deionizada), em seguida transferidas para tubo de 2 mL

e centrifugadas por A 15000 g por 15 min a 4°C. O sobrenadante foi coletado e transferido para novo tubo de 2 mL e mantido a -80°C até a análise.

Na determinação da CAT, as amostras foram descongeladas e mantidas a 4 °C condicionadas em banho de gelo, em seguida retirou-se uma alíquota de 50 µL do extrato enzimático e adicionados 334 µL de Tampão TFK 50 nM (pH 7,5), 250 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 12,5 nM e 1366 µL de água deionizada completando volume final de 2 mL em cubeta de quartzo. Os reagentes do meio de reação foram mantidos em banho maria a 25 °C e o extrato enzimático em banho de gelo até o momento do início da reação na cubeta.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific Genesys 10, Madison, USA) na absorvância de 240 nm durante três minutos, observando-se o decréscimo da concentração de H₂O₂. Usou-se o coeficiente de extinção Molar de H₂O₂ 39,4 nM⁻¹ cm⁻¹ a 240 nm para efeito dos cálculos. Os valores foram expressos em unidade de CAT min⁻¹ mg⁻¹ de proteína. Cada amostra foi representada por um extrato simples dosado em triplicata.

3.9.1.4 Ascorbato Peroxidase (APX)

A determinação da APX foi realizada conforme Nakano e Asada (1981) com alterações. O extrato enzimático utilizado para a APX foi o mesmo da extração da CAT. Os extratos foram descongelados e mantidos em banho de gela a 4 °C, em seguida retirou-se uma alíquota de 100 µL do extrato e adicionado 334 µL de tampão TFK, 20 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 0,1 nM, 20 µL de ascorbato de sódio a 0,5 mM e 1526 µL de água deionizada, completando volume final de 2 mL em cubeta de quartzo. Os reagentes do meio de reação foram mantidos em banho maria a 25 °C e o extrato enzimático em banho de gelo até o momento do início da reação na cubeta.

A reação se deu em espectrofotômetro (Thermo Scientific Genesys 10, Madison, USA) durante três minutos a 290 nm observando-se o decréscimo da concentração do ascorbato de sódio. As análises foram realizadas em triplicata e a atividade da APX foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar do ascorbato de 2,8 nM⁻¹ cm⁻¹ e o resultado expressos em unidade APX min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

3.9.2 Quantificação de proteínas solúveis

A quantificação de proteínas solúveis totais foi determinada segundo o método modificado de Bradford (1976). Utilizou-se os mesmos extratos utilizados nas análises de SOD, CAT e APX. O reagente de Bradford foi preparado dissolvendo-se 100 mg de coomassie brilliant blue G-250 (Sigma Chemical Company) em 50 mL de álcool etílico a 95%, seguindo-se da adição de 100 mL de ácido fosfórico a 85%. A solução teve seu volume final de 1000 mL completada com água destilada.

As amostras foram preparadas utilizando-se 100 µL do extrato, 2 mL do reagente de Bradford e 300 µL de água destilada, totalizando 2400 µL do meio de reação em cubeta de Quartzo. As proteínas solúveis foram determinadas pelas medidas de absorvância em 595 nm (Thermo Scientific Genesys 10, Madison, USA). Para o branco utilizou-se o meio de reação sem extrato. Como padrão foi utilizada albumina sérica bovina - BSA, (Sigma Chemical Company). A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ MF foram utilizados para quantificação de SOD, CAT e APX.

3.9.3 Peroxidação de lipídios (MDA)

A peroxidação lipídica foi quantificada pelo teor de substâncias reativas ao Ácido 2-Tiobarbitúrico (TBA) e expresso em equivalentes de Aldeído Malônico (MDA), segundo metodologia descrita por Cakmak e Horst (1991), com modificações. A extração foi realizada com aproximadamente 100 mg de material foliar fresco ausentes das nervuras centrais, macerada em almofariz, com 2 mL de Ácido Tricloroacético a 0,1% (p/v), quando bem homogêneos, foram transferidos para microtubos de 2 mL centrifugados a 10000 g por 15 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi coletado e transferido para novos micro tubos e armazenados a -80 °C até a análise.

Na determinação, as amostras foram descongeladas e mantidas a 4 °C condicionadas em banho de gelo.

Foram adicionados a uma alíquota de 300 µL do extrato, 1,7 mL de TBA a 0,5% (p/v) (em ácido tricloroacético a 20%). Os tubos foram levados a banho-maria a 90 °C por 30 minutos, observando-se a mudança de coloração. A reação foi paralisada em banho de gelo e a mistura clarificada por centrifugação a 10000 g por

5 minutos, a 25°C. As leituras de absorvância das amostras foram realizadas num espectrofotômetro modelo (Thermo Scientific Genesys 10, Madison, USA) em temperatura ambiente a 532 nm (absorvância específica) em cubetra de vidro. As análises foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos em $\text{nmol g}^{-1} \text{MF}$.

3.10 Análise estatística

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de crescimento

Foi observado alteração no crescimento das plantas tanto entre genótipos quanto entre os regimes hídricos. O déficit hídrico acarretou redução significativa no crescimento da cana-de-açúcar. Verificou-se diferença significativa na interação entre genótipo e regimes hídricos para as variáveis altura de plantas, comprimento de entrenós, alocação de biomassa nos colmos e área foliar específica, indicando que os efeitos da restrição hídrica influenciam nos genótipos e vice-versa, havendo dependência entre esses fatores para essas variáveis.

No início do estresse, a maior altura de plantas (H_{inicial}) foi observado para os genótipos IN8482 e RB11999 (Tabela 2). Estas apresentaram naturalmente maior crescimento em altura em ambiente ausente de restrição hídrica. A altura final das plantas (H_{final}) foi influenciada pela restrição hídrica, que provocou redução de 13%

na altura das plantas não havendo interação entre os fatores genótipos e restrição hídrica, indicando comportamento independente destes fatores para esta variável.

Tabela 2 - Valores médios da altura de plantas de genótipos de cana antes e depois da imposição do estresse hídrico.

Genótipos	H_{inicial} (cm)	H_{final} (cm)
RB92579	54,09 b	89,32 c
RB867515	63,23 b	100,53 bc
RB11999	83,47 a	126,45 a
RB330	67,59 b	110,46 b
IN8482	85,11 a	113,36 ab
IN8272	54,66 b	86,3 c
Condição hídrico		
Controle	70,74 a	111,48 a
Estresse	65,31 a	97,32 b

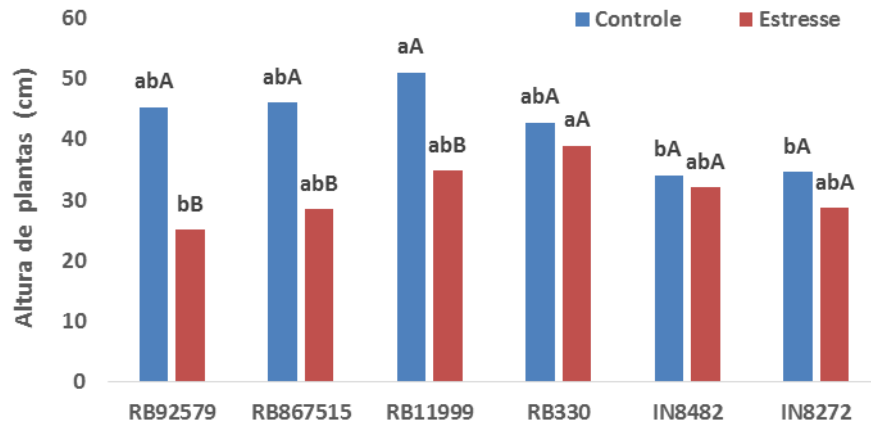
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após a imposição do estresse, a maior altura de plantas foi mantida pelos genótipos RB11999 IN8482, no entanto, a variedade RB11999 apresentou maior capacidade adaptativa ao estresse hídrico, visto que, ao início do estresse tinha 1,64 cm a menos que IN8482 e ao final do experimento apresentou 13,09 cm maior que IN8482, um crescimento de 14,73 cm superior a IN8482 em condições de estresse. Menor crescimento foi observado para IN8272 e RB92579 com redução de 31,7 e 29,4% respectivamente em relação à variedade RB11999. Porém, apenas a variedade RB92579 teve seu crescimento reduzido pela deficiência hídrica, o menor crescimento apresentado pelo genótipo IN8272, é característico do genótipo, visto que, o mesmo apresentou menor altura inicial (Tabela 2), bem como em condições de controle (Figura 6), não sendo comprometida pelo estresse hídrico.

Na ausência de estresse hídrico, a menor altura de planta foi verificada para os genótipos IN8482 e IN8272 (Figura 6), diferindo da variedade RB11999. Em condições de estresse hídrico, maior altura foi constatada para o genótipo RB330, conferindo diferença entre RB92579.

Os genótipos RB330, IN8482 e IN8272 não apresentaram sensibilidade ao déficit hídrico para a altura de plantas. Esse comportamento não foi observado para os demais, isso indicar que, plantas do gênero *S. Spontaneum* com elevado teor de fibra podem ser mais tolerantes ao estresse hídrico.

Figura 6 – Crescimento de plantas em altura, de genótipos de cana durante período de estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos e letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

A altura das plantas é uma variável com potencial para ser usada como critério para estabelecer a suscetibilidade de materiais de cana-de-açúcar ao déficit hídrico (Silva et al., 2008), essa característica foi determinante para distinguir a tolerância e suscetibilidade das plantas ao estresse hídrico por haver diferença, na inibição do crescimento em condições de déficit hídrico. Diferenças na altura de plantas sob estresse hídrico também foi encontrada por Machado et al. (2009), Martins, (2009), Ecco (2014) e Holanda (2012). Por outro lado, Gimenez (2013) não encontraram diferença entre os tratamentos hídricos para altura de plantas de cana-de-açúcar.

Segundo Silva et al. (2008) o déficit hídrico interfere no crescimento por causar restrição na divisão e alongamento celular da cana-de açúcar. O crescimento celular é o processo mais sensível à baixa disponibilidade de água no solo, sendo diretamente inibido pelo estresse hídrico (CRUSCIOL et al., 2010). Fundamentado nos resultados obtidos pode-se dizer que o estresse induzido às plantas não foi suficiente para acarretar redução drástica do processo de divisão e alongamento celular devido à perda de turgor.

Maior número de entrenós foi observado para IN8482, RB330 e RB11999 (Tabela 3), não havendo diferença entre as duas últimas. Os genótipos RB92579, RB867515 e IN8272 exibiram menor número de entrenós. Maior comprimento de entrenós foi verificado para RB92579 e RB867515 (Tabela 3), não havendo

diferença da variedade RB867515 em relação as demais. O déficit hídrico provocou redução significativa no número de entrenós que foi reduzido em 11%.

Tabela 3 – Valores médios do número de entrenós (NE), comprimento de entrenós (CE) e número de perfilhos (NP) de genótipos de cana-de-açúcar submetida a estresse hídrico.

Genótipos	NE	CE	NP
RB92579	5,30 c	12,23 a	3,80 b
RB867515	6,80 c	11,48 ab	1,90 c
RB11999	9,60 b	9,62 b	3,30 bc
RB330	10,30 ab	9,00 b	3,20 bc
IN8482	11,40 a	9,09 b	5,60 a
IN8272	6,90 c	9,09 b	2,10 bc
Condição hídrico			
Controle	8,87 a	10,14 a	3,77 a
Estresse	7,90 b	10,03 a	2,87 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para a maioria dos casos, do a redução de crescimento de plantas é atribuída pelo déficit hídrico, bem como para a cana-de-açúcar, havendo tendência de redução de comprimento de entrenós. O alongamento dos tecidos (entrenós) em cana-de-açúcar é induzido pelo hormônio de crescimento auxina, inibindo o crescimento das gemas laterais através da dominância apical (MILLER; GILBERT, 2009).

Dantas Neto (2006) observou redução do número de entrenós com menor intensidade de irrigação. Hemaprabha (2013) verificou redução de 45,76 e 3,58% respectivamente para comprimento e número de entrenós em cana-de-açúcar e classifica como redução elevada e marginal respectivamente.

Estudo realizado por Machado et al. (2009) mostrou que a redução do número e comprimento de entrenós em condições de restrição de água no solo depende da fase de crescimento e da variedade, podendo também ocorrer incremento, principalmente no comprimento de entrenós. Castro; Kluge (2001) concordam que o baixo teor de umidade nos tecidos pode reduzir pela metade o comprimento de alguns entrenós, mas se houver disponibilidade de água novamente, a perda pode ser recompensada pelo maior comprimento dos entrenós seguintes. Segundo Câmara (1993), quanto mais prolongado for o período de estiagem, mais curtos e

próximos entre si será a formação de nós e entrenós, diminuindo drasticamente o volume de parênquima para armazenamento de sacarose.

Essa divergência exige que o estudo do número e comprimentos de entrenós seja avaliada em conjunto para melhores esclarecimentos deste fato, devendo esse aspecto ser considerado sempre que abordem as relações hídricas nos tecidos do colmo da cana-de-açúcar, averiguando-se também se esse comportamento corresponde a características genéticas das variedades.

O genótipo IN8482 teve maior perfilhamento, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 3). A variedade RB867515 teve menor perfilhamento e apresentou redução de 60% em relação ao genótipo IN8482, diferindo também da variedade RB92579.

Verificou-se redução de 23,8% do perfilhamento por efeito do déficit hídrico, o número de perfilho pode ter sido influenciado pela limitação de espaço no vaso, porém essa limitação ocorreu tanto no nível de controle como de estresse hídrico. Devido ao alto perfilhamento, as plantas não expandiam o crescimento radicular, aumentando a auto competição e conseqüente morte dos perfilhos das variedades que não foram completamente supridas de suas necessidades pelo substrato contido nos vasos. De acordo com Castro; Christofolletti (2005), a elevada competição dos perfilhos pelos fatores de crescimento (luz, espaço, água e nutrientes) causa redução do perfilhamento através da diminuição ou paralização desse processo, além, de morte dos perfilhos mais jovens.

O estresse hídrico pode causar redução na emissão de novos perfilhos, visto que a falta de água cessa a divisão e o alongamento celular impedindo a diferenciação e o crescimento dos tecidos que darão origem as novas estruturas dos perfilhos. Durante o período de perfilhamento a cultura exige uma grande quantidade de água para que ocorra pleno desenvolvimento vegetativo (BEZUIDENHOU et al., 2003). Ramesh & Mahadevaswany (2000), estudando o efeito da seca nas diferentes fases do ciclo da cana-de-açúcar, constataram que os cultivares que perfilham menos, além de apresentarem menores porcentagens de mortalidade dos perfilhos, tinham perfilhos com maior estatura, diâmetro de colmo e maior massa seca, indicando uma característica vantajosa para cultivares mais produtivas.

Em variedades com menor perfilhamento, os colmos tendem a apresentar maior altura, maior diâmetro e maior acúmulo de matéria seca (CRUSCIOL et al., 2010). Isso foi observado nesse trabalho para variedade IN8272, obtendo menor número de perfilho, no entanto, apresentou aumento no diâmetro de colmo mesmo

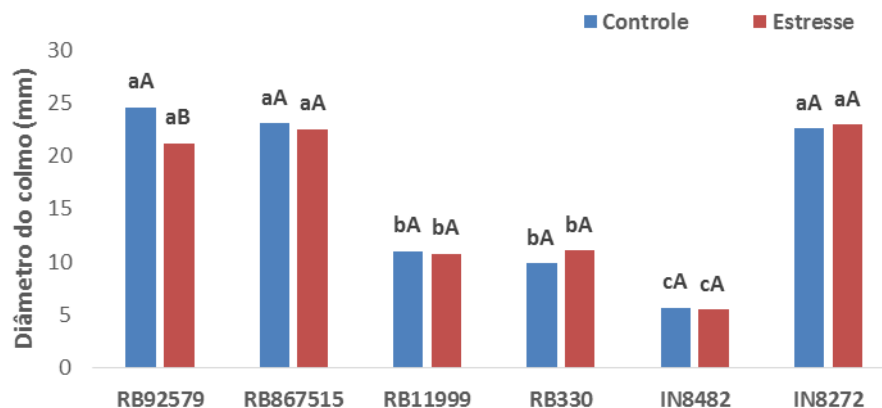
em condições de estresse. Pois a redução dos perfilhos possibilitou maior crescimento secundário da planta (diâmetro do colmo) garantindo assim a manutenção do acúmulo de biomassa.

A restrição de águas às plantas comprometeu o diâmetro do colmo havendo interação entre os fatores variedade e níveis de estresse (Figura 7). Os genótipos RB92579, 867515 e IN8272 apresentaram maior diâmetro para as plantas controle, diferindo dos genótipos RB11999 e RB330, que por sua vez diferiram do genótipo IN8482 que apresentou menor diâmetro de colmo, nas duas condições hídricas.

Avaliando-se o comportamento dos genótipos dentro dos níveis de estresse foi observado redução do diâmetro de colmo para a variedade RB92579, apresentando sensibilidade para esse caráter em condições de déficit hídrico. Reduções no diâmetro do colmo de cana-de-açúcar sob estresse hídrico também foi observado por Hemaprabha (2013), Ecco (2014) e por Dantas Neto et al. (2006) em redução de lâminas de irrigação.

Gimenez (2013) verificou aumento no diâmetro de colmo em cana-de-açúcar sob estresse. Silva et al. (2008) também verificou esse fato e concluiu que essas características podem ser consideradas como ferramentas úteis durante o processo de melhoramento de plantas. Desenvolvimentos de mecanismos adaptativos às condições ambientais como temperatura pode ter contribuído para isso.

Figura 7 – Medidas do diâmetro do colmo de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos e letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

A quantidade de folhas foi afetada pela restrição hídrica (Tabela 4), com redução de 17,5%, maior número de folhas foi conferido em ordem decrescente sem diferença para os genótipos IN8482, RB330 e IN8272, este último diferiu apenas da variedade RB92579 que obteve menor número de folhas na planta. Essa característica foi bem distinta entre os genótipos, observando-se redução de até 43% no número de folhas. O genótipo IN8482 diferiu das variedades RB11999, RB867515 e RB92579, no entanto, estas não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Diversos autores relatam redução do número de folhas sob estresse hídrico. Holanda (2012) também encontrou efeito significativo entre variedades e regimes hídricos no número de folhas de cana-de-açúcar, e acrescentou que o número de folhas verdes resulta tanto do aparecimento de novas folhas e da velocidade de senescência das folhas mais velhas. Machado (2009) verificou redução no número de folhas nas fases de crescimento sob estresse hídrico. Smit & Singels (2006) relataram que a senescência foliar é relacionada à deficiência hídrica e ocorre após a diminuição no surgimento de novas folhas e que a manutenção de folhas verdes pode ser um indicativo de tolerância à seca. Desta forma, o aumento da senescência foliar e a paralisação do surgimento de novas folhas em resposta ao déficit hídrico dependente do genótipo e é um indicativo do efeito do déficit hídrico em cana-de-açúcar.

Tabela 4 – Valores médios do número de folhas (NF) e comprimento da folha +3 (CF+3) de genótipos de cana-de-açúcar submetida a estresse hídrico.

Genótipos	NF	CF+3 (cm)
RB92579	4,60 d	133,55 bc
RB867515	5,40 cd	161,32 a
RB11999	6,00 bcd	116,19 c
RB330	7,60 ab	124,93 c
IN8482	8,20 a	116,73 c
IN8272	6,50 abc	153,87 ab
Condição hídrico		
Controle	7,00 a	143,41 a
Estresse	5,77 b	125,45 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

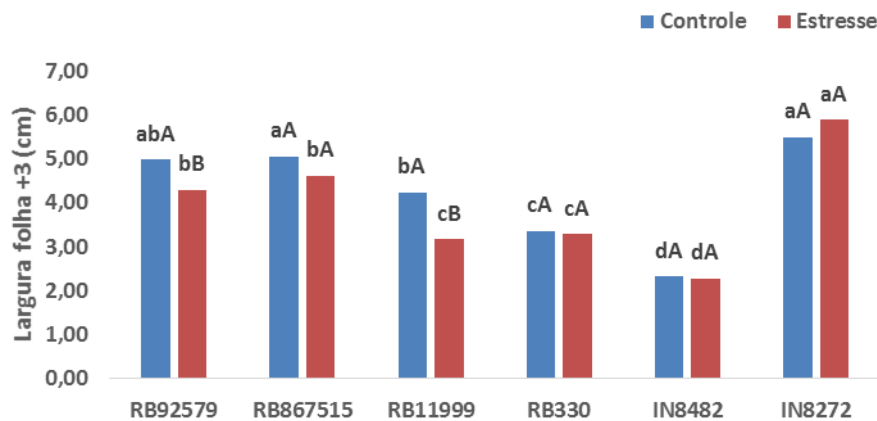
A redução do número de folhas, tem como efeito, redução da área foliar e conseqüentemente, menor crescimento e acúmulo de biomassa na planta em virtude da redução da fotossíntese pela perda e redução do crescimento das folhas.

A restrição hídrica provocou redução de 12,5% no comprimento da folha+3, o maior tamanho foi observado para a variedade RB867515 não havendo distinção apenas para genótipo IN8272, que por sua vez também não diferiu entre a variedade RB92579.

Os genótipos IN8272, RB867515 e RB92579 tiveram maior largura da folha+3 nas plantas ausentes de estresse hídrico (Figura 8), este grupo diferiu dos demais, que foram diferentes entre si, sendo ordenadas em valores decrescente respectivamente RB11999, RB330 e IN8482, no entanto em condições de restrição de água no solo, houve diferença entre o genótipo IN8272 com as variedades RB92579 e RB867515, este fato se deu em virtude do aumento da largura da folha +3 da variedade IN8272 sob estresse, o que nenhuma outra variedade atribuiu essa característica. A variedade IN8482 obteve menor largura, diferindo das variedades RB11999 e RB330. Em condições de estresse hídrico a variedade RB11999 conferiu maior redução para comprimento e largura da folha +3.

Na verificação dos genótipos dentro dos tratamentos observou-se diferença apenas para as variedades RB92579 e RB11999, porém a queda foi mais drástica para a variedade RB11999 com redução maior que o 1,06 cm na largura das folhas em estresse. Holanda (2012) também não encontrou redução significativa na largura de folha +3 em condições de estresse hídrico para todas as variedades estudadas. Redução no comprimento foi encontrado por Gonçalves (2008) e Holanda (2012). Já Pincelli (2012) não encontrou redução com diferença tanto entre variedades quanto no estresse hídrico.

Figura 8 – Medidas da largura da folha +3 de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos e letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Em análise conjunta, verificou-se que os genótipos IN8272 e RB867515, apresentaram, maior comprimento e largura da folha +3, (Tabela 2 e Figura 8) havendo alternância entre os genótipos para estas características, sendo maior comprimento e maior largura conferido para os genótipos RB867515 e IN8272 respectivamente.

Não tem sido muito observado na literatura estudos do comprimento e largura das folhas de cana-de-açúcar de forma isolada em resposta a diferentes fatores, essas variáveis são muito empregadas em fórmulas com a finalidade de se obter a área foliar da planta (CARVALHO et al., 2008). Neste sentido, infere-se que alterações promovidas pela deficiência hídrica sobre o comprimento e a largura das folhas influenciam na área foliar da planta e, conseqüentemente, no índice de área foliar, que são melhor estudadas em relação as respostas à escassez de água (INMANBAMBER, 2004; ZHAO et al., 2010).

Averiguando os resultados da massa seca obtidos no trabalho (Tabela 5), percebe-se que a variedade RB92579 apresentou maiores valores para a massa seca das folhas, colmo, parte aérea e total, enquanto IN8482 apresentou menores valores de massa seca para todas essas características. O impacto desse resultado é enfatizado pela redução de massa seca das folhas, colmo, parte aérea e total em 38, 66,5, 55,0 e 43% respectivamente em relação a variedade RB92579. Apurando ainda mais esse estudo complementa-se também que houve a formação de grupos distintos entre os genótipos para a massa seca das folhas, colmo e parte aérea, em que os genótipos do gêseno *S. officinarum* RB92579, RB867515 e RB11999,

compuseram um grupo de maior valor para essas características e os genótipos IN8482, IN8272 e RB3330 pertencentes ao gênero *S. spontaneum* também assemelharam-se formando outro grupo ao qual foi cominado com menor peso de massa seca para esses caracteres. Sendo assim consideradas suscetível ao estresse hídrico na produção de biomassa aérea seca na fase inicial de crescimento.

Tabela 5 – valores médios da massa seca das folhas, do colmo, parte aérea raiz e total de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a restrição hídrica.

Genótipos	Folha (g)	Colmo (g)	Aérea (g)	Raiz (g)	Planta (g)
RB92579	119,53 a	192,56 a	312,09 a	178,42 a	490,50 a
RB867515	108,72 ab	162,81 ab	271,53 a	138,53 a	410,06 ab
RB11999	116,81 a	128,21 bc	245,02 ab	227,21 a	472,22 a
RB330	90,32 bc	100,30 cd	190,62 bc	217,06 a	407,68 ab
IN8482	74,08 c	64,50 d	138,59 c	139,36 a	277,95 b
IN8272	92,78 bc	88,48 cd	181,26 bc	224,27 a	405,53 ab
Condição hídrica					
Controle	112,74 a	161,07 a	273,81 a	263,15 a	536,96 a
Estresse	88,01 b	84,54 b	172,55 b	111,80 b	284,35 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Um das vantagens dos materiais genéticos com potencial de cana-energia é o seu alto perfilhamento (MATSUOKA et al., 2012), como este foi restringido devido à condição de cultivo em vaso, essas variedades apresentaram baixa produção de massa seca.

Apesar de não haver diferença entre os genótipos para a massa seca das raízes, verificou-se que os genótipos N8272, RB11999 e RB330 apresentaram maior acúmulo de massa seca nas raízes que os genótipos RB92579, RB867515 e IN8482, os quais apresentaram redução de 31% em relação aos demais. Menor massa seca da planta foi conferida para IN8482 que diferiu apenas das variedades RB967515 e RB111999.

Reduções na massa seca também foram constatadas quando imposta restrição de água às plantas, havendo redução para todas as características avaliadas. Verificou-se redução de aproximadamente 47,0% na massa seca dos colmos e total, 37% na parte aérea, a menor queda foi registrada para as folhas (22%), contudo, a

maior redução de massa seca (57%) ocorreu nas raízes. Essa redução pode ser a mais comprometedor de toda perda causada a massa seca da planta, visto que sua redução acarreta prejuízos no desenvolvimento nas demais partes da planta.

A Reduções no crescimento e no acúmulo de massa seca em cana-de-açúcar em condições de baixa umidade do solo também foram observadas por Machado (2009); Pincelli (2012); Almeida et al. (2005); Willadino (2011). Reduções no acúmulo de massa seca podem ser associados com a baixa disponibilidade hídrica (SADRAS; MILROY, 1996). Segundo Barbosa (1991), a produção de massa seca foliar é uma variável que permite inferir sobre a translocação orgânica, facilitando a compreensão do desempenho vegetal em termos de produtividade. Silva et al. (2008), afirmam que cultivares de cana-de-açúcar que apresentam melhor crescimento e produção do que outras na condição de umidade do solo limitada, são tidas como tolerantes à seca.

A menor quantidade de massa seca acumulada na parte aérea em função do déficit hídrico pode ser atribuída a redução na área de interceptação de radiação provocada pela redução do número, comprimento e largura das folhas, na tentativa da planta em reduzir a transpiração e manter o teor de água nos tecidos e células para evitar a paralização dos processos fisiológicos. Singels et al. (2000) defendem que a distribuição dos componentes de massa em cana-de-açúcar é afetada pelo déficit hídrico quando o solo está entre 55% e 35% de sua capacidade de campo. Para Griffiths & Parry (2002) a redução da produção de massa seca, em plantas sujeitas a estresse hídrico, se torna mais visível à medida em que se prolonga a exposição ao estresse.

Foi observado semelhança na alocação de biomassa das folhas entre genótipos (Tabela 6). Os genótipos RB92579 e RB8675115 alocaram massa preferencialmente para os colmos, diferindo dos demais genótipos, os mesmos obtiveram maior alocação de biomassa na parte aérea que IN8272. O genótipo RB330 não diferiu do RB92579 e os genótipos IN8482 e RB11999 não diferiu de nenhuma variedade. Essa relação é diretamente análoga com a alocação de biomassa das raízes, visto que esses valores representam partição da planta. A restrição hídrica provocou aumento da alocação de biomassa nas folhas e parte aérea e, 30 e 19,7% respectivamente e redução de 19% na alocação de biomassa nas raízes.

Tabela 6 – Valores médios da alocação de biomassa nas Folhas (ABF), no colmo (ABC), na parte aérea (ABPA) e nas raízes (ABR) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico.

Genótipos	ABF (%)	ABC (%)	ABPA (%)	ABR (%)
RB92579	26,58 a	38,08 a	64,66 ab	35,34 bc
RB867515	28,07 a	38,25 a	66,32 a	33,68 c
RB11999	28,65 a	28,77 b	57,42 abc	42,58 abc
RB330	25,91 a	25,01 b	50,92 bc	49,08 ab
IN8482	28,95 a	24,50 b	53,45 abc	46,55 abc
IN8272	25,71 a	23,15 b	48,86 c	51,14 a
Condição hídrica				
Controle	22,46 b	29,95 a	52,41 b	47,59 a
Estresse	32,17 a	29,30 a	61,47 a	38,53 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O genótipo IN8272 teve maior alocação de biomassa nas raízes que na parte aérea, devido seu maior crescimento radicular como já foi discutido. Isso implica que mais de 50% de alocação de biomassa da planta foi destinado para as raízes. Aparentemente esses valores não são bons indicativos, porém em condição de estresse hídrico em campo, esse genótipo pode ter maior potencial para induzir o crescimento de suas raízes, permitindo maior capacidade de absorção de água e nutrientes do solo, obter melhores desempenho que outros genótipos em condições de estresse hídrico, tornando-as potencialmente capazes de resistir a estresse severo.

Os resultados do trabalho corroboram os obtidos por Santos et al. (2013) que observou aumento da alocação de biomassa na parte aérea e redução para as raízes inclusive para as variedades RB92579 e RB867515. Santiago (2001) também verificou aumento da alocação de biomassa nas folhas, caule e parte aérea e redução na alocação de biomassa das raízes, no entanto, só houve diferença para alocação de massa da raiz. Ecco (2014) ao avaliar o comportamento de duas variedades de cana-de-açúcar em diferentes regimes hídricos, constatou que ao reduzir o fornecimento de água às plantas houve redução na alocação de biomassa da raiz de uma variedade enquanto a outra aumentou. Baseado nisso, a resposta a alocação de biomassa nas raízes em função do estresse hídrico é atribuída ao genótipo. Mendonça (2013) também observou aumento da alocação de biomassa

nas folhas à medida que reduziu água no solo de 100% para 70% da CC em dois ambientes distintos, já nas raízes observou menor alocação. Essas observações permitem afirmar que a restrição hídrica pode mudar a partição de assimilados entre as raízes e parte aérea, o que pode causar grande efeito na produtividade das plantas, diminuindo também a acumulação de biomassa nos órgãos vegetais.

4.2 Índices fisiológicos

As taxas de crescimento sofreram grande redução em condições de estresse hídrico (Tabela 7), sendo esta de 59% para a taxa de crescimento da cultura (TCC) e taxa de crescimento absoluto (TCA) e de 39% para taxa de crescimento relativo (TCR).

Tabela 7 – Valores médios da taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR) e taxa de crescimento da cultura (TCC) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico durante 34 dias.

Genótipos	TCA (g dia⁻¹)	TCR (g g⁻¹ dia⁻¹)	TCC (g m² dia⁻¹)
RB92579	9,80 ab	0,0313 b	140,02 ab
RB867515	7,73 ab	0,0287 b	110,40 ab
RB11999	11,09 a	0,0442 a	158,45 a
RB330	9,89 ab	0,0474 a	141,27 ab
IN8482	5,60 b	0,0316 b	80,05 b
IN8272	8,83 ab	0,0375 ab	126,13 ab
Condição hídrica			
Controle	12,54 a	0,0459 a	179,12 a
Estresse	5,11 b	0,0276 b	72,98 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A redução das taxas de crescimento das plantas com menor umidade do solo, evidenciou o menor acúmulo e produção de massa seca em cana-de-açúcar no presente trabalho. Essa redução pode ser explicada pelo aumento da auto competição principalmente por água, luz e nutrientes, justificativa também aceita por Gava et al. (2001).

Foi verificado o mesmo comportamento entre as taxas de crescimento absoluto e da cultura, isso assegura que há coerência entre o ganho de peso diário e ganho de peso por área (de solo ocupado pelas plantas) por dia, ou seja, aumentando-se ou reduzindo o ganho de peso no dia terá o mesmo efeito por área, independente da área foliar das plantas.

As maiores taxas de crescimento absoluto e de crescimento da cultura foram observadas para RB11999 (Tabela 7), qual diferiu apenas do genótipo IN8482. Os genótipos RB330, RB11999 e IN8272 apresentaram maior taxa de crescimento relativo, no entanto, a IN8272 não diferiu dos demais.

A taxa de crescimento absoluto representa a variação ou incremento entre duas amostras ao longo de um determinado período de tempo. É uma medida que pode ser usada para quantificar a velocidade média de crescimento ao longo do período de observação. Porém, o ganho de matéria seca apresentado, não leva em consideração o material inicial existente que deu origem a esse ganho. Já a taxa de crescimento relativo expressa o incremento na massa seca, por unidade de peso inicial, em um intervalo de tempo, sendo, portanto, mais apropriada para avaliação do crescimento vegetal, que é dependente da quantidade de material acumulado gradativamente, tornando-se mais interessante expressar essa taxa de crescimento segundo uma base comum, que é o próprio peso da planta (REIS e MULLER, 1979).

Segundo Magalhães (1985), as taxas de crescimento absoluto e taxa de crescimento relativo são distintas. De acordo com Benincasa (2004), todo crescimento resultará da produção de material suficiente para atender às necessidades metabólicas do material já existente e, ainda, para armazenar ou construir novo material estrutural, uma vez que conceitualmente, a análise de crescimento estabelece que a taxa de crescimento de uma planta é função do tamanho inicial.

A taxa de crescimento da Cultura (TCC) é o parâmetro considerado mais importante em fisiologia da produção e empregado para comunidades vegetais. Representa a quantidade total de matéria seca de uma comunidade vegetal acumulada por unidade de área de solo em um determinado tempo. Avalia a produtividade primária líquida, constituindo o somatório das taxas de crescimento dos diversos componentes das plantas (REIS e MULLER, 1978; PEREIRA e

MACHADO, 1987; PEIXOTO, 1998; BRANDELERO, 2001; BRANDELERO et. al., 2002).

Segundo Larcher (2004) associação de gramíneas (C_4) desenvolvidas nos trópicos e subtropicais, alcançam valores máximos para TCC de 50 a 60 $g\ m^{-2}\ dia^{-1}$, durante o principal período de crescimento. O mesmo autor acrescenta ainda que, em cana-de-açúcar, o máximo rendimento atingiu 8 kg de massa seca por metro quadrado. Na cultura do milho, Garcia et al. (2008) observaram redução na TCC após suspensão do fornecimento de água para a cultura, mas não encontrou diferença na TCR.

Para a avaliação dos parâmetros de crescimento direcionados às folhas da cana-de-açúcar, observou-se diferença apenas para a área foliar (AF) e índice de área foliar (IAF) entre as variedades em estudo (Tabela 8). A restrição hídrica provocou declínio significativo na área foliar (57%), índice de área foliar (30%) e no índice de translocação de massa (ITM) com redução de 31,8%, por outro lado proporcionou incremento na razão de área foliar (RAF) em 24% e na razão de massa foliar (RMF) em aproximadamente 31%.

Tabela 8 – Valores médios da área foliar (AF), área foliar específica (AFE), índice de área foliar (IAF), razão de área foliar (RAF), razão de massa foliar (RMF) e índice de translocação de massa (ITM) de genótipos de cana-de-açúcar imposta a estresse hídrico por 34 dias.

Genótipos	AF (cm^2)	AFE ($m^2\ g^{-1}$)	IAF ($m^2\ m^2$)	RAF ($m^2\ g^{-1}$)	RMF ($g\ g^{-1}$)	ITM ($g\ g^{-1}$)
RB92579	10576,83 ab	0,0085 a	2,82 ab	0,0022 a	0,27 a	4,03 a
RB867515	10131,11 ab	0,0093 a	2,70 ab	0,0026 a	0,28 a	3,75 a
RB11999	11360,53 a	0,0097 a	3,03 a	0,0027 a	0,29 a	3,92 a
RB330	9819,22 ab	0,0109 a	2,62 ab	0,0028 a	0,26 a	4,37 a
IN8482	7342,61 b	0,0100 a	1,96 b	0,0029 a	0,29 a	3,82 a
IN8272	8238,00 ab	0,0090 a	2,20 ab	0,0023 a	0,26 a	4,33 a
Condição hídrica						
Controle	11335,16 a	0,0100 a	3,02 a	0,0022 b	0,22 b	4,80 a
Estresse	4822,28 b	0,0091 a	2,09 b	0,0029 a	0,32 a	3,27 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Maiores AF e IAF, foram observadas para o genótipo RB11999, o qual diferiu apenas do IN8482 com redução de aproximadamente 35% entre as variedades para as duas variáveis. A área foliar é um fator determinante no crescimento das plantas, limitando e produzindo efeito direto em todo o crescimento das plantas, pois alterações na área foliar implicam em efeitos na fotossíntese da planta.

De acordo com Rodrigues et al. (1998) a fotossíntese pode ser medida por vários métodos, sendo que os mais precisos são aqueles que quantificam o gás carbônico absorvido. Entretanto, existem outras formas de se avaliar a transformação de energia luminosa em energia química, ou seja, quantificando-se a massa seca produzida pelas plantas. Monteith (1972) salienta que a taxa de crescimento de uma espécie pode ser expressa em função da quantidade de energia luminosa incidente, da interceptação e conversão dessa energia em massa seca. A redução da área foliar em situações de déficit hídrico causa a diminuição da interceptação da radiação solar, o que leva à queda da transpiração e da fotossíntese, além de senescência foliar precoce (JAMIESON et al., 1995; SANTOS; CARLESSO, 1998).

Diante disso, pode-se dizer que a estrutura, arquitetura e quantidade de folhas, é um fator importante para determinar a produtividade de uma cultura e que uma avaliação cuidadosa da área foliar é sem dúvida um fator que auxilia na tomada de decisão para se eleger cultivares mais produtivas.

Os resultados de área foliar e índice de área foliar corroboram os de Farias (2008) que também observou redução nessas variáveis em cana-de-açúcar quando cultivada em sequeiro. Reduções de área foliar também foram encontradas por Pincelli (2012); Silva (2012), Holanda (2012) Smit & Singels (2006) e Gonçalves (2008). Garcia et al. (2008), também verificaram redução no índice de área foliar em milho submetido a déficit hídrico.

Para Evans (1972), o IAF é um importante parâmetro biométrico para avaliar respostas de plantas a diferentes condições de ambiente. A captação de energia luminosa e a produção de fitomassa, dependem de área foliar adequada no tempo e espaço, além da eficiência desta de produzir fotoassimilados.

A AFE, parâmetro determinado através da razão entre a área foliar e a massa seca das folhas não teve influência entre variedades regimes hídricos, o mesmo foi observado por Mendonça (2013).

As maiores RAF e RMF em condições de estresse, podem ter ocorrido devido a estímulos da planta em déficit hídrico parar converter maior parte de fotossimilados nas folhas a fim de elevar a captação de energia solar. Segundo Magalhães (1979) a RAF é a medida da dimensão do aparelho assimilador, e serve como parâmetro apropriado para as avaliações de efeitos genotípicos, climáticos e do manejo de comunidades vegetais. Esta variável expressa a área foliar útil para a fotossíntese. É um componente morfo-fisiológico do crescimento, pois é a razão entre a área foliar (área responsável pela absorção de luz e CO₂) e a massa seca total (resultado da fotossíntese líquida) e representa a área foliar usada pela planta para produzir uma unidade de massa seca Benincasa (1988).

A RMF é considerada importante quando se deseja estudar desempenho de cultivares. Considerando que 90% dos assimilados são produzidos na folha, e a partir daí transloucados para o resto da planta, este é um índice fisiológico que expressa a fração de massa seca não exportada das folhas para o resto da planta. A maior ou menor exportação de material da folha, pode ser uma característica genética a qual está sob a influência de variáveis ambientais (MAGALHÃES, 1979).

Em contradição a RMF, o índice de translocação de massa (ITM) é um parâmetro que quantifica a fração de massa seca exportada das folhas para os demais órgãos, que vai depender dos fatores genéticos e condições ambientais. Expressa a capacidade de produção de massa seca da planta em função da massa seca das folhas.

Sabe-se que em condições normais, o crescimento das plantas deve-se a translocação de fotossimilados das folhas, à medida que houver condições desfavorável, a exemplo do estresse hídrico, essa translocação é reduzida ou paralisada, provocando efeito negativo no crescimento e desenvolvimento dos vegetais como foi observado neste trabalho, no qual foi verificado que, sob condições de estresse hídrico, as variedades de cana-de-açúcar reduziram a translocação de fotossimilados para os demais órgãos, mantendo-os nos tecidos foliares, o que contribuiu para maior RMF.

4.3 Relações hídricas e extravasamento de eletrólitos

O potencial hídrico das folhas (Ψ_w) na antemanhã (5h) foi maior para os genótipos RB867515, RB96579 e IN8272, conferindo diferença destas com os genótipos IN8482, RB11999 e RB330 que apresentaram baixo (Ψ_w) foliar (Tabela 9). Em média, o potencial hídrico antemanhã dos genótipos IN8482, RB11999 e RB330 foi 278% menor do que dos genótipos RB96579, RB867515 e IN8272, conferindo baixa capacidade de recuperar o potencial hídrico foliar durante o período noturno.

Tabela 9 – Valores médios do potencial hídrico (ψ_w) das folhas na antemanhã (05h) e ao meio dia (12h), teor relativo de água nas folhas (TRA) e extavasamento de eletrólitos (EM) de genótipos de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico.

Genótipos	Ψ_w 05h (Mpa)	ψ_w 12h (Mpa)	TRA (%)	EE (%)
RB92579	-0,17 b	-1,22 b	77,87 a	48,53 b
RB867515	-0,15 b	-1,08 b	79,35 a	44,33 b
RB11999	-0,72 a	-1,57 a	75,62 a	44,30 b
RB330	-0,66 a	-1,08 b	77,02 a	49,63 ab
IN8482	-0,74 a	-1,15 b	79,35 a	56,30 a
IN8272	-0,24 b	-1,14 b	82,08 a	43,07 b
Condição hídrica				
Controle	-0,47 a	-1,18 a	79,44 a	48,51 a
Estresse	-0,43 a	-1,24 a	77,66 a	46,87 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O menor (Ψ_w) (12h) foi verificado para RB11999 que diferiu dos demais. O (Ψ_w) ao meio dia foi 172% menor que o (Ψ_w) antemanhã para os genótipos e 151 e 188% para os tratamentos controle e estresse respectivamente. Houve também redução de 5%% no (Ψ_w) estresse em relação ao controle ao meio dia. Embora haja variação ao longo do dia, mesmo em plantas irrigadas, essa variável descreve o estado hídrico da planta, e tem sido muito utilizado em estudos das relações hídricas dos vegetais (BERGONCI et al., 2000).

Quanto menor for o (Ψ_w) foliar, mais sensível é a planta ao estresse hídrico. O potencial (Ψ_w) foliar diminui em decadência da disponibilidade de água no solo, levando à perda da turgescência e induzindo também ao fechamento estomático, tais respostas diferenciam-se entre espécies (MANSUR e BARROS, 2000; TAVARES, 2009). Os valores do (Ψ_w) antemanhã, coincidem com os de Vilela

(2011) e Bezerra (2015). Reduções no potencial hídrico (12h) também foi observado por Bezerra (2015) em relação ao (Ψ_w) antemanhã. Reduções significativas no (Ψ_w) foliar foi encontrado por Holanda (2012); Machado (2009); Pincelli (2010) e Vital (2014) em cana-de-açúcar sob estresse hídrico.

O teor relativo de água (TRA) não diferiu entre os genótipos e regimes hídricos (Tabela 9). O (TRA) da folha é definido como sendo a quantidade de água de um tecido comparada com a máxima quantidade de água que ele poderá reter em um dado momento Cairo (1995). É considerado a variação de massa de água do tecido, a qual, por sua vez, decorre da variação da massa de água da célula e, conseqüentemente, da variação do volume celular, entre a turgescência plena e a perda da turgescência Angelocci (2002).

As condições hídricas dos vegetais na maioria das vezes estão correlacionadas com o TRA das folhas. Segundo Nogueira et al. (2000) uma maneira de expressar a deficiência de água nesses tecidos é medir o status de energia da água, ou seu potencial total. Assim, avaliações de TRA e Ψ_w foliar têm sido bem responsivos e correlacionados com tolerância à deficiência hídrica Colom & Vazzana (2003); Sasaki & Machado, (1999;) Silva et al., 2007). Redução do TRA em cana-de-açúcar sob déficit hídrico foi observado por Pincelli (2010).

O maior extravasamento de eletrólitos foi conferido para IN8482 (Tabela 9). O elevado extravasamento de eletrólitos observado para IN8482 indica maior dano as membranas, comprometendo sua integridade em condições de estresse hídrico. A variação do extravasamento de eletrólitos entre os tratamentos controle e estresse foi desprezível. Aumento no extravasamento de eletrólito foi encontrado por Vital (2014), porém não diferiu entre controle e estresse hídrico.

Apesar do TRA e do (Ψ_w) foliar ao meio dia ter reduzido com o estresse hídrico, essa redução foi pequena e não apresentaram diferença. Esta ocorrência pode ser melhor entendida pelas afirmações de Inman-bamber e Joger (1986); Tais e Zeiger (2013); Larcher (2004), os quais salientaram que as plantas tendem a diminuir a perda de água através do fechamento parcial dos estômatos, evitando assim a redução do potencial de água na planta.

O TRA e (Ψ_w) da folha e extravasamento de eletrólitos corroboram com os de bezerra (2015) que obteve comportamento diferente para estes caracteres entre variedades, mas não constatou diferença significativas com restrição de 40% da CC.

Fundamentado nos resultados obtidos e os demais trabalhos comparados, sugere-se que o estresse moderado de 50% da CC aplicados no presente trabalho, não foi suficiente para que as plantas atingissem reduções mais severas no TRA e (Ψ_w) foliar, bem como danos a estabilidade das membranas, havendo necessidade de estresse mais severos para melhor observar o comportamento dos genótipos e seu potencial de tolerância ao estresse hídrico, não sendo possível neste caso distinguir tolerância e/ou suscetibilidade ao estresse hídrico para os genótipos avaliados.

4.4 Teor de pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos não apresentaram diferença significativa em resposta ao déficit hídrico, havendo diferença apenas entre genótipos (Tabela 10). No entanto, não foi verificado diferença nos valores de clorofila *a* e razão das clorofilas *a/b* entre as variedades. O genótipo RB11999 obteve maior concentração de clorofila *b*, clorofila total, clorofila *a+b* e carotenoides, diferindo apenas da IN8272. O genótipo RRB330 não diferiu do RB11999 no teor de carotenoides. O maior índice SPAD foi conferido para o genótipo RB867515, menor valor foi verificado para RB92579, que diferiu do genótipo IN8272 (36,88). As reduções do índice SPAD em relação ao genótipo RB867515 foi de 18 e 10% respectivamente para RB892579 e IN8272.

Tabela 10 – Valores médios da clorofila *a*, (clof. *a*) e *b* (clof. *b*), clorofila total (clof. *t*), carotenoides (carot), razão das clofilas *a:b* (razão *a/b*), clorofila *a+b* (*a+b*) e índice spad de genótipos de cana de açúcar imposta à restrição hídrica.

Genótipos	Clof. <i>a</i>	Clof. <i>b</i>	Clof. <i>t</i>	Carot.	Razão <i>a/b</i>	<i>a+b</i>	SPAD
RB92579	1,67 a	0,43 ab	1,91 ab	0,48 ab	4,14 a	2,10 ab	33,49 c
RB867515	1,65 a	0,48 ab	1,94 ab	0,48 ab	3,54 a	2,12 ab	40,99 a
RB11999	1,98 a	0,56 a	2,32 a	0,63 a	3,53 a	2,54 a	35,24 bc
RB330	1,99 a	0,52 ab	2,29 ab	0,59 a	3,82 a	2,51 ab	34,69 bc
IN8482	1,55 a	0,44 ab	1,82 ab	0,47 ab	3,55 a	1,99 ab	34,80 bc
IN8272	1,37 a	0,37 b	1,58 b	0,40 b	3,74 a	1,73 b	36,88 b
Condição hídrica							
Controle	1,69 a	0,46 a	1,96 a	0,50 a	3,79 a	2,15 a	36,51 a
Estresse	1,72 a	0,47 a	2,00 a	0,51 a	3,65 a	2,19 a	35,52 a

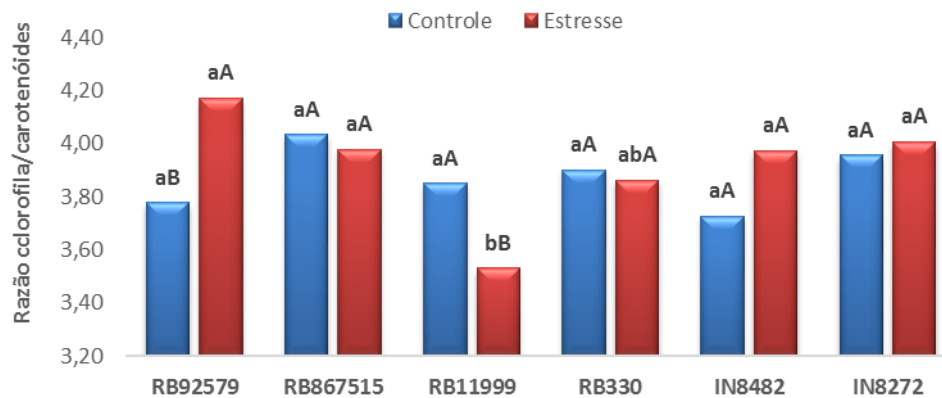
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A redução dos pigmentos fotossintéticos do genótipo IN8272 em relação ao genótipo RB11999 foi de 33,9 31,8, 36 e 31% respectivamente para clorofila b, total, carotenoides e razão $a+b$, o que pode atribuir tolerância para o v genótipo RB11999 em relação ao IN8272.

Na razão entre clorofila total e carotenoide (Figura 9) houve interação entre genótipos e regime hídrico. A restrição hídrica conferiu diferença apenas para o genótipo RB11999 que apresentou menor razão desses pigmentos. Foi observado aumento na razão de clorofila total/carotenoides sob restrição hídrica para o genótipo RB92579 (10,3%), enquanto o genótipo RB11999 apresentou reduções significativas de 8,3% deste índice.

Os pigmentos envolvidos na fotossíntese são as clorofilas *a* e *b*, os carotenoides e as ficobilinas. A clorofila *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios (STREIT et al., 2005). Os carotenoides são pigmentos amarelos ou alaranjados, mas normalmente sua coloração é mascarada pelas clorofilas. Esses pigmentos situam-se nas lamelas dos cloroplastos, em íntima associação com as clorofilas, o que permite a transferência de energia para as clorofilas, pigmentos que refletem a cor verde e estão diretamente associadas com o potencial da atividade fotossintética (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Figura 9 – Valores da razão de clorofila totais/carotenoides de genótipos de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos e letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

A clorofila é o principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa utilizada no processo de fotossíntese, constituindo um dos principais fatores relacionados à eficiência fotossintética e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade de plantas a diferentes ambiente (RÊGO; POSSAMAI, 2006).

A relação existente entre o teor de clorofila nas folhas com o rendimento de biomassa das plantas é uma técnica utilizada para estimativas da produtividade das culturas. Dawson et al. (2003) citam que a produção de matéria seca pelas culturas é limitada pela quantidade de clorofila, devido à forte relação deste pigmento com os processos fotossintéticos. Afirmam ainda que o teor de clorofila é o indicador mais relevante para se prever a produtividade de uma cultura. Sendo assim, conclui-se que deficiência no teor de clorofila compromete o desenvolvimento das plantas. De fato, o maior rendimento de massa seca observado para a variedade RB11999 pode ter sido resultado da maior concentração dos pigmentos fotossintéticos.

O índice SPAD mede a intensidade verde das folhas e determina o teor relativo de clorofilas nas folhas e pode ser utilizado como técnica na seleção de cultivares tolerantes à deficiência hídrica, porém o índice SPAD não coincidiu como o teor de clorofila determinados nas variedades. Segunda Silva (2007) valores de índice SPAD inferiores a 40 indicam início de deficiência de clorofila em cultivares de cana-de-açúcar, valores de SPAD inferiores a 40 foram constatados por Silva et al. (2012) em genótipos de cana-de-açúcar sensíveis ao estresse hídrico. Este parâmetro é considerado um bom indicador de distúrbios causados na planta pela deficiência hídrica e indicador para seleção de genótipos tolerantes a seca (SILVA et al. (2012).

Fundamentado nesses argumentos confere-se tolerância para a variedade RB867515.

Apesar da maioria dos trabalhos apresentarem redução dos pigmentos após indução do estresse, isso não foi observado, mesmo não havendo diferença entre os tratamentos, a concentração dos pigmentos aumentou nas plantas estressadas exceto na razão de clorofilas *a/b*, que apresentou proporções cabíveis com base nas descrições de Raven (1983), o qual relatou que a proporção média das clorofilas *a:b* é de 3:1. Mesmo em menor quantidade, clorofila *b* demonstra papel importante auxiliando a clorofila *a* na absorção de comprimentos de ondas curtas da radiação solar e transferência dessa energia para a demanda fotossintética.

Para a maioria das plantas, mais de 70% dos pigmentos corresponde a clorofila *a* (MIRANDA, 2010). A proporção de clorofila *a* observada no presente trabalho foi de aproximadamente 86% e 68% respectivamente em relação a clorofila total e clorofila mais carotenoides tanto para as variedades como para os tratamentos. Esses valores foram semelhantes aos encontrados por Sousa (2013) e Santos, J. (2012) e superiores aos de Santos (2014).

Os resultados do trabalho corroboraram os de Silva et al. (2014), que não encontrou diferença para clorofila *a* entre variedades em diferentes regimes hídricos. Zanetti (2013) não verificou influência do estresse hídrico no teor de pigmentos. Bezerra (2015) também não observou redução de clorofila *a* e *b* em cana-de-açúcar estressada. Vieira et al. (2014) verificou tendência ao decréscimo de pigmentos em maiores lâminas de irrigação em cana-de-açúcar. Holanda (2013) verificou redução nos teores de clorofila e índice SPAD apenas para variedades. Songsri et al. (2008), Gonçalves et al. (2010), Pincelli (2010) Jangpromma et al. (2010) e Dias (2011) também observaram redução do índice de clorofila em plantas submetidas ao estresse hídrico, quando comparadas a plantas de caba irrigadas satisfatoriamente. Mendonça (2013) observou maior concentração de carotenoides e de clorofila *a* e *b*, em solo com 100% CC, no entanto a razão entre as clorofilas não diferiu, verificou também aumento e redução desses pigmentos sob estresse hídrico, ficando explícito que a produção ou degradação dos pigmentos em condições de estresse hídrico depende do genótipo.

O comportamento observado para os pigmentos fotossintéticos indicou pouca sensibilidade ao estresse hídrico, sendo talvez necessário estresse mais severo para promover reduções significativas. Dessa forma essas variáveis podem ser de

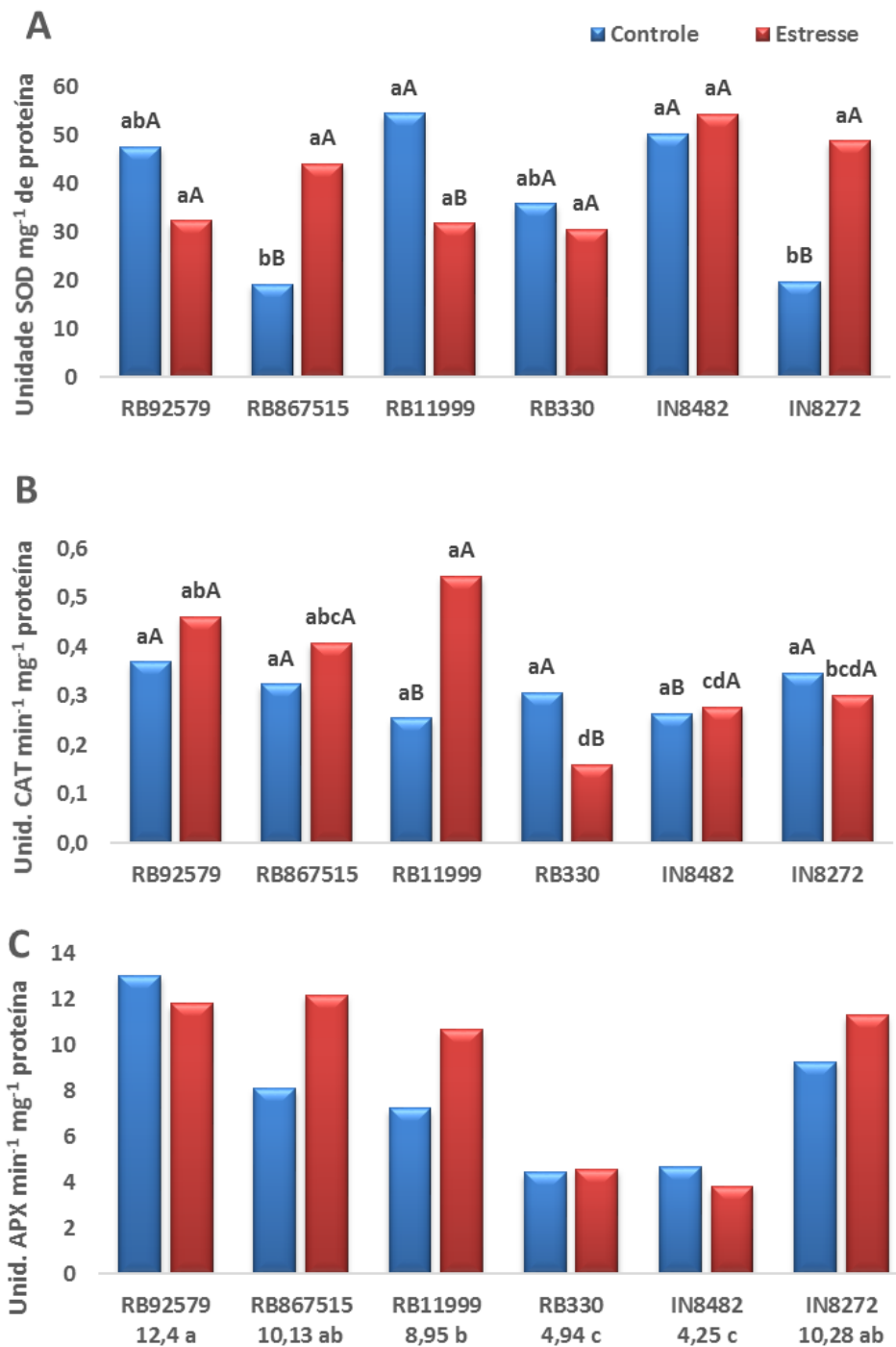
baixa confiabilidade como parâmetro para selecionar genótipos de cana-de-açúcar em ambientes com estresse hídrico.

4.5 Análises bioquímicas

4.5.1 Enzimas antioxidantes

O estudo mostrou que as respostas das enzimas antioxidantes apresentaram sensibilidades da cana-de-açúcar ao estresse hídrico (Figura 10), havendo aumento e redução na atividade destas enzimas quando submetidas ao estresse hídrico. Foi constatado aumento significativo na atividade da superóxido dismutase (SOD) (Figura 10A) para os genótipos RB867515, e IN8272 em 129,3 e 146,3% respectivamente, enquanto reduções de 41,7% foi verificado para o genótipo RB11999.

Figura 10 – Valores médios da atividade específica da superóxido dismutase - SOD (A) atividade específica da catalase – CAT (B) e atividade específica da peroxidase do ascorbato – APX (B) em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos, letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades e letras minúsculas iguais não diferem entre variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Os genótipos RB11999 e IN8482, apresentaram maior atividade da enzima SOD nos tratamentos controle, diferindo apenas dos genótipos RB867515 e IN8272, que por sua vez não diferiram dos genótipos RB92579 e RB330, não houve diferença entre os genótipos no tratamento de déficit hídrico.

Para catalase (CAT) (Figura 10B) houve redução sob déficit hídrico apenas para o genótipo RB330 na proporção de 48%, apresentando diferença em relação ao controle. O genótipo RB11999 apresentou maior aumento da atividade CAT 116% diferindo do controle e das variedades IN8482, IN8272 e RB330 sob déficit hídrico. Ainda para as plantas estressadas verificou-se diferença dos os genótipos RB92579 com IN8482, com menor atividade CAT, o mesmo também se observou entre RB867515 e RB330.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) (Figura 10C) foi reduzida em 9 e 18% respectivamente par os genótipos RB92579 e IN8482 em condições de estresse hídrico. Maiores incrementos foi observado para os genótipos IN8272 (47,7%) e RB867515 (50,6%). No entanto a variação ocorrida com estresse hídrico não provocou diferença significativa. O comportamento da atividade da APX foi diferente para os genótipos. A maior atividade dessa enzima foi conferida para a variedade RB92579, apresentando semelhança com a variedade RB867515, que diferiu apenas das variedades IN8482 e RB330 que apresentaram menor atividade da APX nos tecidos internos das folhas.

Verificou-se que para a maioria dos os genótipos, houve aumento na atividade de enzimas antioxidantes em condições de deficiência hídrica. A atividades destas enzimas em resposta ao déficit hídrico, é dada particularmente pelos genótipos dependendo da expressão gênica a essa condição, essa ocorrência também foi verificada por diversos autores quando estudando resposta antioxidante de cana-de-açúcar ao estresse hídrico, a exemplo de Camargo e Barreto (2013). O aumento ou mesmo manutenção da atividade das enzimas antioxidantes, está associada a tolerância, enquanto a sensibilidade ao déficit hídrico está associada a redução destas enzimas. Isso foi verificado para SOD por Basu et. al (2010); Jangpromma et al. (2010), CAT Vilela (2011) e APX Santos (2013).

Em estudo realizado por Barreto (2013) foi observado que durante o tratamento com peróxido de hidrogênio houve aumento de EROs e maior atividade ou redução de algumas enzimas que compõem o sistema antioxidante como SOD, CAT e APX.

Os genótipos RB867515 e IN8272 apresentam características de tolerância ao estresse oxidativo induzido déficit hídrico, visto que a atividade da enzima SOD aumentou mais de 100% sob déficit hídrico. A resposta no aumento da atividade SOD, pode ser indicativo de que estas variedades foram efetivas na metabolização

do radical superóxido durante o estresse, podendo este fato está ligado à sua maior tolerância.

Chugh et al (2011) verificou aumento de SOD em genótipos de milho tolerantes a seca e declínio nos genótipos sensíveis. Em cana-de-açúcar, Jangpromma et al. (2010), Gomathi; Rakkiyapan (2011), verificaram altos níveis da atividade SOD em variedades tolerantes a seca, o mesmo foi verificado por Gomathi; Rakkiyapan (2011) em estresse salino e Patade et al. (2011) em estresse hídrico e salino, confirmando a importância da atividade desta enzima como mecanismo de defesa em condições de estresse.

Com base nas observações do trabalho, observouse que a variedade RB867515 possui melhores mecanismos antioxidantes, visto que apresentou maior atividade para todas as enzimas antioxidantes analisadas, o que pode assegurar maior tolerância desta variedade ao estresse hídrico, visto que SOD, CAT e APX, são enzimas chave para o controle de estresse oxidativo desencadeado pela seca em cultivares tolerantes de cana-de-açúcar. Comportamento igual para esta variedade também foi verificado por Vilela (2011) confirmando sua tolerância a ambientes sujeitos a estresse hídrico.

Alguns genótipos apresentaram desequilíbrio entre as enzimas antioxidantes. O aumento da atividade da SOD pela variedade IN8272, não foi correspondido pelas enzimas CAT e APX. A redução da atividade da SOD na variedade RB92579 também não foi correspondido pelas Enzimas CAT e APX. A variedade RB11999 apresentou redução na atividade da SOD, no entanto aumento a atividade da CAT. A variedade RBB30 apresentou redução na atividade CAT, não sendo observado o mesmo para SOD e APX. O desequilíbrio do sistema antioxidantes observado confere a estas variedades, incapacidade de se adaptar ao estresse imposto, sofrendo maior dano oxidativo, conferindo maior sensibilidade ao estresse hídrico.

O genótipo RB330 apresentaram sensibilidade da CAT ao déficit hídrico, reduzindo sua atividade, indicando baixa capacidade de defesa e inativação das espécies reativas de oxigênio (EROs) ou houve a presença da atividade de outras enzimas ou moléculas antioxidantes agindo na ausência da CAT compensando sua ação para garantir a efetividade do sistema antioxidante. O aumento dessa enzima confere tolerância ao estresse hídrico por garantir a redução dos níveis de H_2O_2 .

A redução na atividade de APX pode indicar sensibilidade ao estresse hídrico ou que a degradação do H_2O_2 foi efetiva pela atividade da CAT. A redução da

atividade APX está relacionada a diminuição da capacidade de regenerar o ascorbato pelas enzimas monodehidroascorbato redutase (MHAR) e dehidroascorbato redutase (DHAR) Pigmocchl et al. (2003)

Enquanto a SOD é a primeira enzima a atuar no sistema antioxidante das plantas, dismutando o radical superóxido, a CAT é considerada o segundo sistema de prevenção contra o estresse oxidativo, as catalases atuam como primeira enzima na desintoxicação do H_2O_2 , sendo posteriormente seguida pela APX que atua na presença de H_2O_2 apenas em baixas concentrações (SILVA, 2014). Aumento na atividade das enzimas CAT e APX, indica maior capacidade de metabolização do H_2O_2 . Diante disto, verifica-se que o equilíbrio na atividade SOD, CAT e APX é essencial para determinar o nível de $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 .

Em condições de estresse hídrico, é frequente observar aumento da atividade das enzimas CAT e APX, embora haja essa evidencia, CAT e APX não são redundantes, visto que tem sítios principal de ação diferentes, portanto a produção vai depender para cada enzima e dependendo de onde houver maior concentração de EROs. A CAT está localizada principalmente nos peroxissomos, onde atua rapidamente evitando a dispersão do H_2O_2 para outros compartimentos celulares. O aumento da atividade da CAT pode ser um indicativo da fotorrespiração (WILLEKENS et al., 1997; MITLER, 2002); GIL & TUTELA 2010). A ausência da CAT nos cloroplastos indica que a degradação do H_2O_2 neste comportamento é de exclusividade da APX (FOYER et al., 1994).

A APX está localizada em todos os locais de produção de EROs e possui maior afinidade que a CAT ao H_2O_2 , estando envolvida na manutenção do metabolismo celular no início do estresse e na sinalização, por meio de ajustes na concentração de EROs. (MITLER, 2002). Assim, a CAT deve atuar na desintoxicação do H_2O_2 que não foi eliminado pela APX. Apesar da CAT apresentar elevada taxa catalítica, possui baixa afinidade ao H_2O_2 , uma vez que uma única molécula requer o acesso simultâneo de duas ou mais moléculas de H_2O_2 para ocorrer a dismutação (NOCTOR; FOYER, 1998)

Com base nesses fatos pode-se inferir que a redução da atividade CAT para as variedades RB330 pode ter ocorrido devido à baixa concentração de EROs nos peroxissomos, ou a APX foi eficiente no controle de H_2O_2 . Por outro lado, a baixa atividade da APX nas variedades RB92579 e IN8482 indica que a APX foi pouco

eficiente no controle antioxidante das células, sendo então induzido o aumento da atividade CAT para compensar e manter o potencial redox, evitando dano celular.

Outro fator que deve ser observado também é a eficiência da atividade da CAT nos peroxissomos, se a ação desta enzima for instantânea e eficiente no controle das EROs, irá impedir a dispersão de H_2O_2 para outras organelas, assim poderá haver baixa atividade da APX. caso a CAT não seja efetiva nos peroxissomos, aumentara a concentração de H_2O_2 em outros compartimentos celulares ocorrendo produção e aumento da atividade APX.

Para se obter respostas mais precisas e concretas do comportamento da atividade CAT e APX é necessário verificar também a concentração de H_2O_2 nos tecidos foliares. Silva (2014) observou que o aumento de H_2O_2 na solução nutritiva de raízes de cana-de-açúcar, provocou estresse oxidativo e aumento da atividade SOD, porém constatou que a mudança nas concentrações de H_2O_2 dependeu diretamente da atividade das enzimas CAT e APX. Quando havia mudança na atividade da SOD mas não na concentração de H_2O_2 , verificava-se ausência na atividade CAT e APX. Reduções na atividade APX acarretava em aumento na concentração de H_2O_2 nas folhas. Este autor observou também acúmulo de H_2O_2 devido a redução das atividades CAT e APX nas raízes e que a atividade de CAT e APX só aumentava na presença de H_2O_2 .

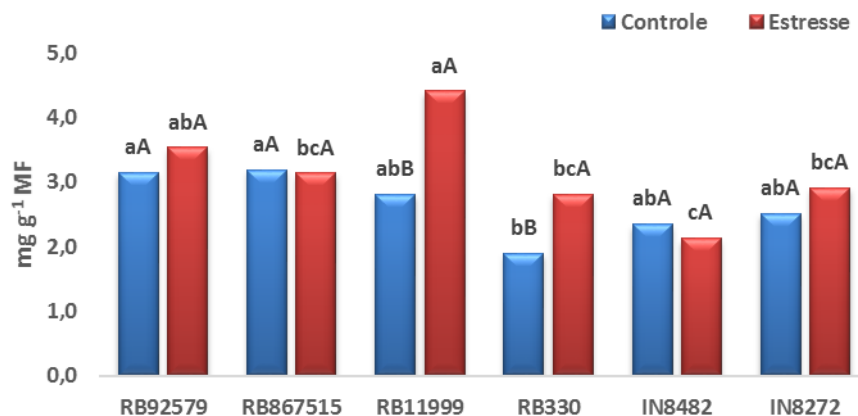
Sabe-se que em plantas tolerantes, o aumento da atividade das enzimas antioxidantes tende a aumentar em condições de estresse hídrico, porém esse aumento só é induzido na presença de EROs, na ausência deles a atividade dessas enzimas permanece inalterada. Portanto, mesmo em condições de estresse se não houver produção de H_2O_2 não haverá aumento da atividade CAT e APX, e isso não implica na suscetibilidade da planta ao estresse. Para evitar conclusões equivocadas é necessário quantificar também o teor de H_2O_2 nos tecidos e comparados com a atividade das enzimas CAT e APX.

4.5.2 Proteínas solúveis

Foi constatado aumento das proteínas solúveis sob déficit hídrico exceto para os genótipos IN8482 e RB867515 (Figura 11). Grande aumento verificou-se para os genótipos RB330 e RB11999 com 48 e 56% respectivamente, diferindo do controle. Em condições controle, o genótipo RB330 mostrou menor teor de proteínas nas

folhas diferenciando dos genótipos RB92579 e RB867515. O aumento de teor de proteínas do genótipo RB11999 em condições de estresse hídrico, contribuía em maior nível de proteína observado nas folhas, apresentando semelhança para RB92579, ambos foram diferentes do genótipo IN8482 que obteve menos proteínas solúveis em decorrência da redução desta em condições de estresse hídrico.

Figura 11 – Teores de proteína solúveis totais em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Letras minúsculas iguais não diferem para variedades dentro dos tratamentos e letras maiúscula iguais não diferem para tratamento dentro de variedades pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

De acordo com o grau de estresse hídrico, podem ocorrer danos celulares, como a degradação de proteínas e da membrana plasmática, que serão maiores ou menores dependendo da capacidade do sistema antioxidante de degradar H₂O₂ (DESIKAN, 2004; GILL & TUTELA, 2010). Sodek (2004) complementa que em condições de estresse, o metabolismo de aminoácidos é completamente alterado e a síntese de proteína diminui enquanto a proteólise aumenta.

Essa condição não foi verificada nos genótipos em analisadas, indicando que o estresse hídrico de 50% da CC fornecida às plantas não foi suficiente para causar proteólise e sim aumento da síntese de proteína. Carvalho (2016) verificou que em condições de estresse salino moderado a redução de teor de proteínas não foi comum para todas as variedades. Pacheco (2016) ao avaliar tolerância de cana-de-açúcar ao déficit hídrico em intervalos diferentes, verificou que o teor de proteínas solúveis varia em função da idade da planta, inferiu ainda que a proteólise não

ocorre para todas as variedades, verificando aumento e/ou redução do teor de proteínas dependendo da variedade estudada.

O comportamento dos genótipos RB92579 e RB867515 corroborou os resultados de Pacheco (2016) que também verificou incremento no teor de proteína na variedade RB92579 e pequena redução para a variedade RB867515 em plantas com idade próxima a deste trabalho. Sob estresse salino, Carvalho (2016) também verificou aumento da síntese de proteínas para a variedade RB92579 e equilíbrio para RB867515.

Alterações no comportamento de proteínas devido à restrição da disponibilidade de água, indica alteração nos processos de síntese ou proteólise. Parida & Das (2005) relataram que, sob condições de estresse, o teor de proteínas nas plantas pode diminuir devido ao aumento da proteólise. O déficit hídrico imposto a planta não foi suficiente para causar degradação de proteínas. Podendo-se considerar que a ação do sistema antioxidante foi efetiva no impedimento a paralização da síntese proteica, evidenciando que a atividade das enzimas antioxidantes pode ter contribuído para manter o potencial redox e evitar danos às células.

A peroxidação lipídica e oxidação de proteínas são constantemente utilizadas como indicadores de estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode ativar a morte celular programada devido à peroxidação lipídica de membranas, oxidação de proteínas, inibição enzimática e danos ao DNA e RNA (CIA, 2010)

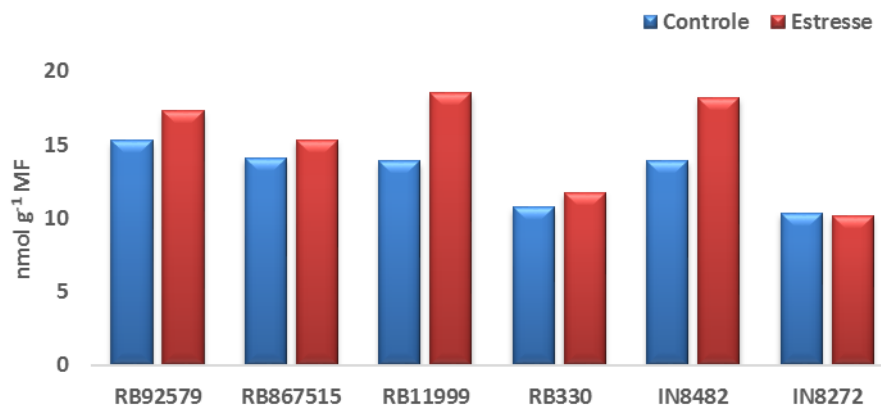
4.5.2 peroxidação de lipídios

A peroxidação de lipídios é caracterizada pelo incremento na quantidade de malondialdeído (MDA) aumentado na planta em condições de estresse, como pode ser verificado para maioria dos genótipos (Figura 12), em que se notou aumento da peroxidação de lipídios em resposta a deficiência hídrica exceto para o genótipo IN8272. Maior incremento foi constatado para os genótipos IN8482 e RB11999 com respectivamente 30 e 33% de aumento. Apesar dos tratamentos apresentarem diferença na análise de variância, o mesmo não foi observado para o teste de Tukey, o qual foi mais rigoroso que a Anava.

Apesar de não apresentar diferença entre os genótipos e regimes hídricos, o estresse hídrico aplicado às plantas eventualmente possibilitou aumento da

peroxidação de lipídios, indicando que houve danos em nível celular em decorrência da ação das EROs, entretanto, o aumento na peroxidação lipídica variou em função dos materiais analisados.

Figura 12 – Peroxidação de lipídios através do conteúdo de malondialdeído (MDA) em folhas de cana-de-açúcar em condições de controle e estresse hídrico.



Cultivares de cana-de-açúcar que apresentam menor conteúdo de MDA podem ser consideradas mais tolerantes, uma vez que a peroxidação lipídica tem sido usada como um marcador para triagem de cultivares tolerantes à seca (LATA et al., 2011; SHAO et al., 2005). Desta forma, os resultados observados não permitem distinguir variedades tolerantes e suscetível, visto que o estresse imposto não foi suficiente para causar danos às membranas e a ação do sistema antioxidante foi mais efetivo.

Resultados obtidos nesse trabalho corroboram os de Silva; Vittal (2014) que constataram aumento no teor de MDA de variedades de cana-de-açúcar, porém não apresentaram diferença em condições de estresse hídrico. E estudos realizados em cana-de-açúcar, Santos (2015) e cia (2010) afirmaram que os níveis de MDA aumentam para variedades sensíveis ao estresse hídrico, ao passo que reduzem para as variedades consideradas tolerantes.

Estudando a estratégia de defesa de trigo durante redução de umidade do solo, Fan et al. (2009) estabeleceram que as estratégias de adaptação das plantas à seca podem ser divididas em três fases: no período inicial de exposição à seca, as plantas fecham seus estômatos para evitar a perda de água e não ocorrem

alterações nos níveis de MDA. À medida que o déficit hídrico aumenta, as plantas elevam os níveis das EROs, a atividade enzimática e a peroxidação lipídica. De acordo com Scandalios (1993) e cia (2012) os danos as membranas intracelulares podem afetar negativamente a cadeia respiratória nas mitocôndrias, a fixação de carbono nos cloroplastos, e causar degradação de pigmentos, enquanto danos na membrana plasmática pode provocar liberação de conteúdo eletrolítico e a morte celular.

A preservação da hidratação dos tecidos durante período de déficit hídrico é essencial para o funcionamento dos processos celulares, contudo, o aumento na produção de EROs ocasionado pelo déficit hídrico, provoca inativação de enzimas, danos nos componentes celulares além de diminuir a capacidade defensiva das plantas (ERICE et al., 2010), neste sentido pode-se inferir que eventuais danos nas células podem ser revertidos pelo retorno da irrigação.

A redução da disponibilidade de água para 50% da CC, reduziu a hidratação dos tecidos aumentando a peroxidarção de lipídios, porém esse aumento não foi tão expressivo, mesmo assim, diante desse comportamento pode-se afirmar que a peróximação lipídica tenderá a aumentar ainda mais à medida que o estresse for aumentado, conferindo suscetibilidade dessas variedades ao estresse hídrico. No entanto essa afirmação não prevalece para IN8272 em virtude da sua redução do conteúdo de MDA, havendo necessidade de observar o comportamento dessa variedade em estresse mais severo para tirar as devidas conclusões com maior confiança.

5 CONCLUSÕES

Os genótipos de cana-de-açúcar *S. officinarum* e cana energia *S. spontaneum*, apresentaram comportamento diferente em resposta a restrição hídrica para altura de plantas, com menor crescimento para os genótipos de cana-de-açúcar sob déficit hídrico na fase inicial de crescimento. Os genótipos do gênero *S. officinarum* apresentaram maior acúmulo de massa seca na parte aérea independente da condição hídrica.

Houve variações genotípicas em relação às respostas morfofisiológicas da cana ao estresse hídrico. As variáveis morfológicas foram eficientes para diferenciar os genótipos tolerantes e suscetível ao estresse hídrico.

A deficiência hídrica induziu reduções significativas no crescimento e acúmulo de biomassa independente dos genótipos sendo um forte indicativo de tolerância ao déficit hídrico.

As plantas em condições de estresse hídrico exportam menos fotossimilados, aumentam a alocação de biomassa nas folhas contribuindo para maior razão de área foliar e razão de massa foliar e redução do crescimento.

A variedade RB867515 apresentou maior tolerância ao estresse oxidativo induzido pelo déficit hídrico através do aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e APX como resposta de defesa do sistema antioxidante.

REFERENCIAS

- ABOGADALLAH, G. M. Insights into the significance of antioxidative defense under salt stress. **Plant signaling & behavior**, v. 5, n. 4, p. 369-374, 2010.
- AGARWAL, S.; PANDEY, V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 4, p. 555-560, 2004.
- ALMEIDA, S.M.Zet al. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural** v.35: pp.62-68, 2005.
- ANGELOCCI, L. R. **Água Na Planta E Trocas Gasosas/energéticas com a atmosfera: Introdução ao tratamento biofísico**. Piracicaba, 2002. 268p.ao tratamento biofísico. Piracicaba: p. 271, 2002.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review Plant Biology*, v. 55, p. 373-399, Jun. 2004.
- ARAÚJO, S.A.C. et al. Características fotossintéticas de genótipos de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum.) em estresse hídrico. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.32, p.1-7, 2010.
- ARGENTON, P. E. **Influências das variáveis edafológicas e do manejo no rendimento de variedades de cana-de-açúcar (Saccharum spp.) na região de Piracicaba, São Paulo**. 109 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)—Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de, v. 850, 2006.
- ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v.85, p.235–241, 1992.
- ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, Jun. 2006.
- ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.601–639, 1999.
- AUDE, M. I. S. Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 241-248, 1993.
- BAISAKH, B.; DASH, G. B. Performance of promising genotypes of soybean (glycine-max) in hilly regions of orissa. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 62, n. 5, p. 335-336, 1992.
- BARBOSA, D. C. A. Crescimento de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan (Leguminosae – Mimosoideae). **Phyton**, Vicente Lopez, v. 52, n. 1, p. 51-62, 1991.
- BARBOSA, E. A. A. et al. Cana-de-açúcar fertirrigada com vinhaça e adubos minerais via irrigação por gotejamento subsuperficial: Ciclo da cana-planta, **Revista**

Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v.16, n.9, p.952–958, 2012.

BARBOSA, G. V. D. S. **Contribuição do melhoramento genético da cana-de-açúcar para a agroindústria canavieira de alagoas**. 2014. 113 f. Tese (Doutorado em produção vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

BARRETO, K. F. M. **Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo em plantas de cana-de-açúcar tratadas com peróxido de hidrogênio**. 2013. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Boca Raton, v.24, p.23-58, 2005.

BASU, S.; ROYCHOUDHURY, A.; SAHA, P.P.; SENGUPTA, D.N. Differential oxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. *Plant Growth Regulation, Dordrecht*, v. 60, n.1, p.51-59, 2010.

BEAUCHAMP, C.O.; FRIDOVICH, I. Isoenzymes of superoxide dismutase from wheat germ. *Biochimica et Biophysica Acta*, New York, v. 317, p. 50-64, 1973.

BEAUCLAIR, João. Ensinar é acreditar. **Coleção Ensinantes do presente**, v. 1, 2008.

BEGUM, M. K.; ALAM, M. R.; ISLAM, M. S.; AREFIN, M. S. Effect of water stress on physiological characters and juice quality of sugarcane. *Sugar Tech*, Nova Delhi, v. 14, n.2, p. 161-167, 2012.

BENGOUGH, A. G. et al. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of Experimental Botany* v.62, n. 1, p. 59-68, 2011.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas, noções básicas**. 2. ed. 41 p. Jaboticabal: FUNEP, 2003.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Funep, 1988.

BENINCASA, M., et al. Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie Van Leeuwenhoek* v.85, n., p.1-8,2004.

BENSON, Craig H.; DANIEL, David E. Influence of clods on the hydraulic conductivity of compacted clay. *Journal of Geotechnical Engineering*, v. 116, n. 8, p. 1231-1248, 1990.

BERGONCI, J.I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n.8, p. 1531-1540, 2000.

BEZERRA, B. K. L. **Adução com silício e tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar**. 2015. 60 f. Dissertação (mestrado em Agronomia) –universidade Estadual paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.

BEZUIDENHOU, V. D. et al. Cell-demanded release of VEGF from synthetic, biointeractive cell ingrowth matrices for vascularized tissue growth. **The Faseb Journal**. V. 17. Ed. 15. P. 2260-2262

BHATTACHARJEE, Soumen. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal. **Curr. Sci**, v. 89, p. 1113-1121, 2005.

BILGIN, D.D. ROS, oxidative stress and engineering resistance in higher plants. In: S. Dutta Gupta (ed), Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants, **Science Publishers, USA, 2010**.

BLACKBURN, F. **Sugar-cane**. New York: Longman, 1984. 414p.

BOWLER, Chris et al. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. **The EMBO journal**, v. 10, n. 7, p. 1723, 1991.

BOWLER, Chris et al. Phytochrome signal transduction pathways are regulated by reciprocal control mechanisms. **Genes & development**, v. 8, n. 18, p. 2188-2202, 1994.

BOWLER, Chris; MONTAGU, M. van; INZE, Dirk. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual review of plant biology**, v. 43, n. 1, p. 83-116, 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the qualification of microgram quantities of protein utilize the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDELERO, E., et al. Índices fisiológicos e rendimento de cultivares de soja no Recôncavo Baiano. **Magistra, Cruz das Almas** 14 (2002): 77-88.

BRANDELERO, EM. **Índices fisiológicos e rendimento de cultivares de soja no município de Cruz das Almas-Ba**. 2001. 63f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 2001.

BREUSEGEM, F. V. et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.

CAIRO, P. A. R.; OLIVEIRA, L. E. M.; MESQUITA, A. C. **Análise de crescimento de plantas**. Vitória da Conquista: edições UESB, 2008.

CAIRO, P.A.R. **Curso básico de relações hídricas de plantas**. UESB. 1995. p. 32.

CAKMAK, I.; HORST, J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine Max*). **Physiologia Plantarum**, v.83, p.463-468, 1991.

CASTRO, P. R. C. Utilização de reguladores vegetais no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: Curso: **Fisiologia vegetal aplicada à cana-de-açúcar**. STAB-Leste, Maceió, p.7 – 10, 2001.

CÂMARA, G. M. S. Ecofisiologia da cultura da cana-de-açúcar. **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, p. 31-64, 1993.

CAMARGO, I. A. de. **Sistema antioxidante de cana-de-açúcar em resposta à seca**. 2013. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) –Universidade de São Paulo, Piracicaba 2013.

CARLESSO, R.. Water deficit and morphologic and physiologic behavior of the plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

CARVALHO M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v.3, 156-165, 2008.

CARVALHO, M. F. et al. Enzymatic activity of three sugarcane varieties under salt stress de cana-de-açúcar sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB v.20, n.9, p.806-810, 2016. ISSN 1807-1929.

CASTRO, P. R. C. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: **Simpósio Internacional de Fisiologia da Cana-de-açúcar**, 2000, Piracicaba. Anais... Piracicaba: STAB, 2000, p.1-9.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar; seringueira; coqueiro; dendezeiro e oliveira. **Stoller do Brasil**, Cosmópolis:, 2001. 138 p.

Causton, David R., and Jill C. Venus. The biometry of plant growth. **Edward Arnold.**, 1981.

CHEESEMAN, John M. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. **Plant stress**, v. 1, n. 1, p. 4-15, 2007.

CHRISTOFFOLETI, P. J. et al. Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar. **Piracicaba: CP**, v. 2, 2009.

CHUGH, C. et al. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v.48, p.47-53, 2011.

CIA, M. C. **Resposta antioxidativa em variedades de cana-de-açúcar (Saccharum spp.) sob déficit hídrico Mariana**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, 2010.

CIA, M.C. et al. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Malden, v.161, p.313-324, 2012.

COLOM, M. R.; VAZZANA, C. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought sensitive weeping lovegrass plants. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 49, n. 2, p. 135-144, 2003.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, acompanhamento da safra brasileira, cana-de-açúcar. Monitoramento agrícola: cana-de-açúcar – safra 2015/16. V.2 – safra 2015/16 – N.3 – terceiro levantamento, Dezembro, 2015.

CRUSCIOL, C. A. C, et al. **Ecofisiologia da Cana-de-Açúcar**. Botucatu: FEPAF, 2010

CRUZ DE CARVALHO, Maria Helena. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant signaling & behavior**, v. 3, n. 3, p. 156-165, 2008.

DANTAS NETO, J. et al. Resposta da cana-de-açúcar, primeira soca, a níveis de irrigação e adubação de cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 10, n. 2, p. 283–288, 2006.

DAWSON, T. P; PEARSON, R. G. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful. **Global ecology and biogeography**, v. 12, n. 5, p. 361-371, 2003..

DEER, N. **A text book on the agriculture of the sugar cane the manufacture of cane sugar, and the analysis op sugar house products**. Londres: Norman Rodger, 1911.

DESIKAN, R. et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 395, p. 205-212, 2004.

DESIKAN, Radhika et al. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 395, p. 205-212, 2004.

DIAS, R. Gestão ambiental: responsabilidade social e sustentabilidade. In: **Gestão ambiental: responsabilidade social e sustentabilidade**. Ed. Atlas, 2011.

DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool: tecnologias e perspectivas**. Viçosa: Editora UFV. p. 25-49, 2010.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. Yield response to water. **Irrigation and drainage paper**, v. 33, p. 257, 1979.

ECCO, M.; SANTIAGO, E. F.; LIMA, P. R. Respostas biométricas em plantas jovens de cana-de-açúcar submetidas ao estresse hídrico e ao alumínio. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, PI, v. 5, n. 1, p. 59–67, 2014.

ENDRES, L. et al. Photosynthesis and water relations in Brazilian sugarcane. **The Open Agriculture Journal**, Dundee, v.4, p.31-37, 2010.

ERICE, G. et al. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, n. 2, p. 114–120, Jan. 2010

EVANS, J. St BT. Interpretation and matching bias in a reasoning task. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v. 24, n. 2, p. 193-199, 1972.

FAN, X.W.; LI, F.M.; SONG, L.; XIONG, Y.C.; AN, L.Z.; JIA, Y.; FANG, X.W. Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v. 136, n. 3, p. 310-323, 2009.

FARIAS, C. H. D. A. et al. Índices de crescimento da cana-de-açúcar irrigada e de sequeiro no Estado da Paraíba Growth indices of irrigated and non-irrigated sugar cane in Paraíba , Brazil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, n. 83, p. 356–362, 2008.

FERNANDES, A. C. **Cálculos na Agroindústria da cana de açúcar**. Piracicaba, STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos. p.193, 2000

FOYER, C. H., LELANDIS, M., KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiology Plantarum**, 92: 696-717, 1994.

GARA, L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in **plants**. **Phytochemistry Reviews**. Leiden, p. 3, v.195-205, 2004.

GARCIA, Anice et al. Análise de crescimento de uma cultura de milho submetida a diferentes regimes hídricos. **Nucleus**, v. 5, n. 1, 2008.

Gava, G. J. C.; Trivelin, P. C. O.; Oliveira, M.W.; Penatti, C. P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF v.36, n.11, p.1347-1354, 2001.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.48, p.909-930, 2010.

GIMENEZ, D. F. J. et al. Análise dos parâmetros biométricos , acúmulo de prolina e identificação de genes envolvidos na resposta ao déficit hídrico em cana-de-açúcar, por cDNA-AFLP. **Científica**, Jaboticabal v.41, n.2, p.209–225, 2013. ISSN: 1984-5529.

GRIFFITHS, H.; PARRY, M. A. J. Plant responses to water stress. *Annals of Botany*, v. 89, n. 7, p. 801-802, 2002.

GOMATHI, R.; RAKKIYAPAN, P. Comparative lipid peroxidation, leaf membrane ther most ability, and antioxidant systemin four sugarcane genotypes differing in salt tolerance. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, v.3, n.4, p. 67-74, 2011.

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

GRATÃO, Priscila L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 6, p. 481-494, 2005.

Griffiths, H., Parry, M.A.J. 2002. Plant responses to water stress. **Annals of Botany** 89: 801-802.

GUPTA, Ashima Sen et al. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants). **Plant Physiology**, v. 103, n. 4, p. 1067-1073, 1993.

HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HEMAPRABHA, G. et al. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.

HOLANDA, D. A. de. **Resposta varietal da cana-de-açúcar à deficiência hídrica, durante o desenvolvimento inicial em um latossolo vermelho distroférico**. 2012. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2012.

HUANG, Fu-Mei et al. Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. **International Journal of Prosthodontics**, v. 14, n. 5, 2001.

HUNT, Roderick et al. Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. **Edward Arnold Ltd.**, 1982.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N.G.; DE JAGER, J.M. Effect of water stress on growth, leaf resistance and canopy temperature in field-grown sugarcane. **Proceedings of the South African Sugar Technologist's Association**, Natal, v.60, p. 156-161, 1986.

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

JAMES, G. Introduction to sugarcane. In: JAMES, G. Sugarcane. Oxford: WileyBlackwell, 2003.p.1-19.

JAMIESON, P. D.; FRANCIS, G. S.; WILSON, D. R.; MARTIN, R. J. Effects of water deficits on evapotranspiration from barley. **Agricultural and Forest Meteorology**, New Haven, v. 76, n. 1, p. 41-58, 1995.

JANGPROMMA, N. et al. Proteomics Analysis of Drought Stress-Responsive Proteins as Biomarker for Drought-Tolerant Sugarcane Cultivars. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 2, p.89-102, 2010.

JANGPROMMA, N. et al. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a spad chlorophyll meter across different water stress conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, v.9, p. 368-374, 2010.

KIM, M.; DAY, D. F. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 803-807, 2011.

KLAR, Antonio Evaldo. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. Nobel, 1984.

KOCA, Hulusi et al. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 344-351, 2007.

KOFLER, N. F.; DONZELI, P. L. Avaliação dos solos brasileiros para a cultura da cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Coord.). *Cana-de-açúcar: cultivo e utilização*. Campinas: Fundação Cargil, v.2. p.19-41, 1987.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. 2. Ed. New York, NY: Springer New York, 2008.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima artes, 531p. 2004.

LATA, C. et al. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 14, p. 4731-4748, 2011.

LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.275-294, 2002.

LECOEUR, J.; SINCLAIR, T. R. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**, v. 36, n. 2, p. 331-335, 1996.

LELES, P.S.S., Carneiro, J.G.A., Barroso, D.G. 1998. Comportamento de mudas de *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) e *Apuleia leiocarpa* (Vog.) Macbr. produzidas sob três regimes de irrigação. *Revista Árvore* 22: 11-19.

LEME, EJ de A.; MANIERO, M. A.; GUIDOLIN, J. C. Estimativa da area foliar da cana-de-acucar e sua relacao com a produtividade [Saccharum officinarum]. **Cadernos Planalsucar**, 1984.

LIU, Q.; KASUGA, M.; SAKUMA, Y.; ABE, H.; MIURA, S.; YAMAGUCHISHINOZAKI, Y.; SHINOZAKI, K. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA-binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. **Plant Cell** v.10, p.1391-1406, 1998.

LOGGINI, Barbara et al. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. **Plant physiology**, v. 119, n. 3, p. 1091-1100, 1999.

MAAS, Eugene V.; HOFFMAN, G. J. Crop salt tolerance\current assessment. **Journal of the irrigation and drainage division**, v. 103, n. 2, p. 115-134, 1977.

MACHADO, R. S. et al. Respostas biométricas e fisiológicas ao deficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1575-1582, dez. 2009.

MAGALHÃES, A. C. N.; FERRI, M. G. Análise quantitativa do crescimento. **Fisiologia vegetal**, v. 1, n. 2, p. 333-350, 1979.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. Fisiologia da planta de milho. **EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica**, 1995.

MAIA, J. M. et al. Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. *Biologia Plantarum*, v. 54, n. 01, p. 159-163, 2010.

MAIA, Josemir Moura et al. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012.

MANSUR, R. J.; NOGUEIRA, C; CARVALHO de A. B. Dilosa. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. **Phyton**, v. 68, p. 97-106, 2000.

MATSUOKA, S.; BRESSIANI, J. A.; MACCHERONI, W.; FOUTO, I. Bioenergia da Cana. In: **Cana-de-açúcar: Bioenergia, Açúcar e Álcool**. (Eds. Santos, F.; Borém, A. e Caldas, C.) 2 ed. Viçosa: UFV, v.1. p 487-517, 2012.

McCLUNG, C.R. Regulation of catalase in Arabidopsis. **Free Radical Biology and Medicine**, v.23, p.489-496, 1997.

MENDONÇA, A. M. DAS C. **Plasticidade morfofisiológica de duas espécies lenhosas ocorrentes em diferentes fitofisionomias de cerrado à disponibilidade de luz e água**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MENESES, C.H.S.G. et al. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 10, n. 1/2, p. 1039-1072, 2006.

MIRANDA, E. E. de. Viver na Sombra. *Terra da Gente*, v. 1, p. 24-31, 2010. Disponível em <http://www.evaristodemiranda.com.br/artigos-tecnicos/viver-na-sombra-2> Acessado em : 19 de setembro de 2016.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405–410, 2002.

MITTLER, Ron et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science**, v. 9, n. 10, p. 490-498, 2004.

MITTLER, Ron. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MOLLER, Ian M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. **Annual review of plant biology**, v. 52, n. 1, p. 561-591, 2001.

MONTEITH, J. L. Solar radiation and productivity in tropical ecosystems. **Journal of applied ecology**, v. 9, n. 3, p. 747-766, 1972.

MOZAMBANI, A. E. et al. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: [s.n.], 2006. p.11-18.

MOORE, P. H. Integration of sucrose accumulation processes across hierarchical scales: towards developing and understanding of the gene-to-crop continuum. **Field Crops Res.** v.92, p.119-135, 2005.

MOZAMBANI, A.E. et al. História e morfologia da cana-de-açúcar. In. SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. **Atualização em produção da cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006. p. 11-18.

MUNNS, Rana. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, cell & environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

NATALE NETTO, J. **A Saga do Álcool**. Osasco: Novo Século Editora, SP. p.343, 2007 Portal do Agronegócio. GraalBio anuncia primeira planta de etanol celulósico do Reddy, N.; Yang, Y.; *Trends Biotechnol.* **2005**, 23, 22.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbat and glutathione keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOGUEIRA, F.T.S.; DE ROSA, V.E.; MENOSSI, M.; ULIAN, E.C.; ARRUDA, P. RNA expression profiles and data mining of sugarcane response to low temperature. **Plant Physiology**, New York, v. 132, n. 4, p. 1811-1824, 2003.

NOGUEIRA, R. J. M. C. ; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A. Curso diário e sazonal das trocas gasosas e do potencial hídrico foliar em aceroleiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 7, p. 1331-1342, 2000.

PACHECO, C. M. **Descritores fisiológicos para a seleção de variedades promissoras de cana-de-açúcar quanto a tolerância ao déficit hídrico**. 2016 95 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 60, n. 3, p. 324-349, 2005.

PATADE, V.P.; BHARGAVA, S.; SUPRASANNA, P. Salt and drought tolerance of sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, and antioxidant defense, **Journal of Plant Interactions**, v.6, n.4, p. 275-282, 2011.

PEIXOTO, C. P. et al. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaaboticabal, SP, v. 28, p. 439–443, 2006.

PEIXOTO, C. P. P.; CRUZ, T. V. da; PEIXOTO, M. F. S. P. ANÁLISE QUANTITATIVA DO CRESCIMENTO DE PLANTAS: Conceitos e Prátic. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Goiânia, v. 7, p. 187–193, 2011.

PEIXOTO, Clovis Pereira et al. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 439-443, 2006.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, E. C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais**. IAC, 1987.

PERL, A. et al. Enhanced oxidative-stress defense in transgenic potato expressing tomato Cu, Zn superoxide dismutases. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, n. 5, p. 568-576, 1993.

PIGNOCCHI, C.; FLETCHER, J.M.; WILKINSON, J.E.; BARNES, J.D.; FOYER, C.H. The function of ascorbate oxidase in tobacco. **Plant Physiology**, New York, v. 132, n. 3, p. 1631-1641, July 2003.

PINCELLI, R. P. **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas**. 2010. 65 f. Dissertação

(Mestrado emm Agronomia – Agricultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2010.

PINCELLI, R. P.; SILVA, M. D. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana- de-açúcar em resposta à deficiência hídrica Leaf morphological changes in sugarcane cultivars in response to water deficit. **Bioscience Journal**,Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 546–556, 2012.

PITZSCHKE, A. et al. Reactive oxygen species signaling in plants. **Antioxidants and Redox Signaling**, V.8, p.1757-1764, 2006.

PRUITT, W. O.; DOORENBOS, J. Empirical Calibration: A Requisite for Evapotranspiration Formulae Based on Daily Or Longer Mean Climate Data. **The Committee**, 1977.

RADFORD, P. J. Growth analysis formulae-their use and abuse. **Crop science**, v. 7, n. 3, p. 171-175, 1967.

RAMESH, P.; MAHADEVASWAMY, M. Effect of formative phase drought on different classes of shoots, shoot mortality, cane attributes, yield and quality of four sugarcane cultivars. **Journal of Agronomy & Crop Science**, v.185, p.249-258, 2000.

RAO, P. B.; KAUR, A; TEWAR, A. Drought resistance in seedlings of five important tree species in Tarai region of Uttarakhand. **Tropical Ecology**, v. 49, n. 1, p. 43-52, 2008.

RAVEN, John A. Phytophages of xylem and phloem: a comparison of animal and plant sap-feeders. **Advances in Ecological Research**, v. 13, p. 135-234, 1983.

REGO, G. M.; POSSAMAI, E. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do Jequitibá-rosa. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 53, p. 179–194, 2006.

REIS, G. G.; MÜLLER, M. W. Análise de crescimento de plantas: mensuração do crescimento. Belém: Universidade de Ciências Agrárias do Pará. **Serviço de Documentação e Informação**, 1979. response to drought. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 194, n. 2, p. 92-103, 2008.

RICHARDS, LoA. Physical condition of water in soil. **Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics of Measurement and Sampling**, n. methodsofsoilana, p. 128-152, 1965.

RICHARDS JR, James M.; HOLLAND, John L.; LUTZ, Sandra W. Prediction of student accomplishment in college. **Journal of Educational Psychology**, v. 58, n. 6p1, p. 343, 1967.

ROBERTSON, G. P. **Standard soil methods for long-term ecological research**. Oxford University Press on Demand, 1999.

RODOLFO JUNIOR, F. et al. Produtividade e qualidade de variedades de cana-de-açúcar de terceira soca sob regime hídrico variável. **Nativa**, Siinop, v. 4, n. 1, p. 36–43, 2016.

ROSENFELD, U.; LEME, R. J. A. Produtividade da cana-de-açúcar irrigada por aspersão - estudo de épocas de irrigação. In: **III Congresso Nacional da STAB**, 1984, São Paulo. Anais... p. 77-84.

SADRAS, V. O.; MILROY, S. P. Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 47, n. 2-3, p. 253-266, 1996.

SALES, C.R.G. et al. Trocas gasosas e balanço de carboidratos em plantas de cana-de-açúcar sob condições de estresses radiculares, **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 3, p.319-327, 2012.

SANTIAGO, A. M.; Nogueira, P. R. J. M. C.; Lopes, E. C. Crescimento em plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* BENTH., cultivadas sob estresse hídrico. **Revista Ecosystema**, v. 26, n. 1, p. 23–30, 2001.

SANTOS, C. M. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos de cana-de-açúcar sob estresse induzido por deficiência hídrica e paraquat**. 2013. 93 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Agricultura) – Faculdade De Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013.

SANTOS, H. R. B. **Abordagem multivariada de características fisiológicas foliares de cana-de-açúcar sob estresse hídrico**. 2015. 70 f. Tese (doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SANTOS, H. R. B. et al. Crescimento de três variedades de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico associado à *Meloidogyne incognita*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 8, n. 4, p. 547–554, 2013. ISSN (on line) 1981-0997, 2013.

SANTOS, J. R. dos. **Caracterização fisiológica de genótipos de cana-de-açúcar e avaliação de seus desempenhos em condições de restrição hídrica**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2012.

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

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

SASSAKI, R. M.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e condutância estomática em duas espécies de trigo em diferentes teores de água no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1571-1579, 1999.

SCALON, S. de P. Q. et al. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciencia Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655–662, 2011.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, Rockville, v. 101, n. 1, p. 7-12, 1993

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, n. 1, p. 7-12, 1993.

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

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. Anatomia e botânica. In: DINARDOMIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008, p. 47-56.

SCARPARI, M. S; BEAUCLAIR, E. G. F. Variação espaço-temporal do índice de área foliar e do brix em cana-de-açúcar. **Bragantia** 67.1 (2008): 35-41.

SCHOLANDER, P. F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 52, n. 1, p. 119, 1964.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZAMBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 19-36.

SHAO, H.B.; LIANG, Z.S.; SHAO, M.A.; WANG, B.C. Changes of antioxidative enzymes and membrane peroxidation for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 42, n.2, p. 107-113, 2005.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stress ful conditions. **Journal of Botany**. p. 1-26, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/helena.vale/Downloads/217037.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2016.

SILVA M.A. et al. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. **Scientia Agricola**, v.65, p.620–627, 2008.

SILVA, E.C., Nogueira, R.J.M. 2003. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa-de-vegetação. **Revista Ceres** 50: 203-217, 2007.

SILVA, K. I. **Respostas fisiológicas de genótipos de cana-de-açúcar ao peróxido de hidrogênio no sistema radicular**. 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas, 2014.

SILVA, M. de A. et al. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como Descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173–181, 2014.

SILVA, M. et al. Standardizing Paraquat a selection tool for drought tolerance in sugarcane. In: **Annual meeting Rio Grande Valley Horticultural Society**, Edinburg. Abstracts. Edinburg. V. 61, 2007

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

SILVA, M.A. et al. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, Nova Délhi, v.13, p.191-197, 2011.

SILVA, M.A. et al. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.65, n.6, p.620-627, 2008.

SILVA, P.P. et al. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v.37, p. 11-19, 2012.

SINGELS, et al. The effect of water stress on sugarcane biomass accumulation and partitioning. In: **Proc S Afr Sug Technol Ass**. p. 169-172, 2000.

SMIRNOFF, N. Antioxidant systems and plant response to the environment. *Environment and plant metabolism: Flexibility and acclimation*, v. 42, 1995.

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

SOARES, L. A. dos A. et al. Taxas de crescimento do tomateiro sob lâminas de irrigação em ambiente protegido. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, p. 203–212, 2011

SODEK, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 4, p. 94-113.

SONGSRI, P. et al. Root distribution of drought-resistant peanut genotypes in response to drought. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 194, n. 2, p. 92-103, 2008.

SOUSA, J. P. S. **Avaliação ecofisiológica e metabólica de quatro variedades de cana-de-açúcar**. 2013. 55f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2013.

STREIT, Nivia Maria et al. The chlorophylls. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TORRES NETTO, A. et al. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 104, p.199-209, 2005.

TROVÃO, D. M. B. M. et al. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 3, p. 307-311, 2007.

TURNER, Neil C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. **Plant and soil**, v. 58, n. 1-3, p. 339-366, 1981.

URCHEI, M. A.; RODRIGUES, J. D.; STONE, L. F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 3, p. 497–506, 2000.

VASCONCELOS, , A. C. M de; CASAGRANDE, A. A. Fisiologia do sistema radicular. In: **Dinardo-Miranda**, L.L; Vasconcelos, A. C. M de; Landell. M ..G. A. (Ed.). Cana-de-açúcar. Campinas, IAC, 2010. P. 79-98

VASCONCELLOS, G. F.; VIDAL, J.W.B. **O Poder dos Trópicos**. São Paulo, Editora Casa Amarela. 1998.

VIEIRA G. A. S. et al. Indicadores morfo-fisiológicos do estresse hídrico para a cultura da cana-de-açúcar em função de lâminas de irrigação. **Biosci. Journal.**, Uberlândia, v. 30, supplement 1, p. 65-75, 2014.

VILELA, R. D. **Alterações fisiológicas e bioquímicas de duas variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico**. 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2011.

VIOLANTE, M. Potencial de produção de cana-energia em áreas agrícolas marginais no Brasil. Fundação Getúlio Vargas. Escola de Economia de São Paulo (FGV/EESP). Dissertação de mestrado, São Paulo, 2012.

VITAL, C. E.. **Estudo dos mecanismos fisiológicos e moleculares em cultivares de cana-de-açúcar contrastantes quanto à resposta ao déficit hídrico Tese**. 2014. 120 f.Tese (Doutorado em Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

WILLADINO, L. et al. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: Enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciencia Agronomica**, Fortaleza. ISSN 1806-6690. v. 42, n. 2, p. 417–422, 2011.

WILLEKENS, Hilde et al. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. **The EMBO journal**, v. 16, n. 16, p. 4806-4816, 1997.

WILLEKENS, Hilde et al. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. **The EMBO journal**, v. 16, n. 16, p. 4806-4816, 1997.

ZANETTI, L. V. **Efeitos da pulverização foliar com silício na tolerância de Theobroma cacao L. (Malvaceae) ao déficit hídrico**. 2013. 60 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidases in wheat leaves. **Plant and Cell Physiology**, v.35, p.785-791, 1994.