



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA -PRODUÇÃO
VEGETAL E PROTEÇÃO DE PLANTAS



FOTOSÍNTESE, OSMORREGULAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE QUATRO
VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

EDUARDO REBELO GONÇALVES

RIO LARGO – ESTADO DE ALAGOAS
2008

EDUARDO REBELO GONÇALVES

FOTOSSÍNTESE, OSMORREGULAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE QUATRO
VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal e Proteção de Plantas.

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

Co-orientação: Prof. Dr. José Vieira Silva

RIO LARGO – ESTADO DE ALAGOAS - BRASIL
MAIO DE 2008

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

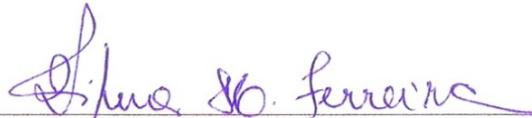
- G635f Gonçalves, Eduardo Rebelo.
 Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetida à deficiência hídrica / Eduardo Rebelo Gonçalves.
 – Rio Largo, 2008.
 66 f. : il., tabs. e grafs.
- Orientadora: Vilma Marques Ferreira.
 Co-Orientador: José Vieira Silva
 Dissertação (mestrado em Agronomia : Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2008.
- Bibliografia: f. 61-66.
1. Cana-de-açúcar. 2. Estresse hídrico. 3. Trocas gasosas.
 4. Fluorescência. 5. Solutos orgânicos. I. Título.

CDU: 633.61

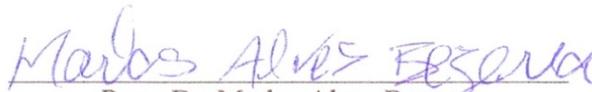
TERMO DE APROVAÇÃO

**FOTOSSÍNTESE, OSMORREGULAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE
QUATRO VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDAS À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal e Proteção de Plantas, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas, sendo aprovada pela Banca Examinadora formada pelos seguintes doutores:



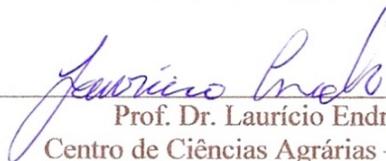
Prof.^a. Dr.^a. Vilma Marques Ferreira
Centro de Ciências Agrárias – UFAL
Orientadora



Pesq. Dr. Marlos Alves Bezerra
EMBRAPA - Agroindústria Tropical
Presidente da Sociedade Brasileira
de Fisiologia Vegetal



Prof. Dr. Mauro Wagner de Oliveira
Centro de Ciências Agrárias – UFAL



Prof. Dr. Laurício Endres
Centro de Ciências Agrárias – UFAL

Data da defesa: 06/05/2008.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

*“Feliz aquele
Que transfere o que sabe e
Aprende o que ensina.”*

(Cora Coralina)

Aos meus pais (José Elias Casado Gonçalves e Yara Correia Rebelo Gonçalves) fontes do meu saber, essenciais na minha existência e fontes de honestidade e dignidade, a quem agradeço o apoio recebido...

A minhas irmãs, Aline e Flávia Rebelo...

A meu sobrinho Igor Rebelo...

Ao companheirismo, amizade, carinho, incentivo e amor de Marcelle Pais, grato pelo apoio e presença constante...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Professora Vilma Marques Ferreira, pelo incentivo, confiança, dedicação, companheirismo e conhecimentos repassados...

Ao Professor José Vieira Silva pela credibilidade depositada, bem como pelas dicas e apoio recebido durante minha passagem pela UFAL...

Aos Professores Laurício Endres, Marlos Alves Bezerra e Mauro Wagner de Oliveira pelas dicas e sugestões apresentadas para a elaboração final deste trabalho...

Aos companheiros de laboratório Débora Teresa, Tadeu Patêlo, Weverton Góes, Evelânia Lira, Eduardo Rolim, Polyana da Silva, Cícero Teixeira, Claudiana Moura, Humberto Cristiano, Sihélio Júlio, Hermeson Vitorino, Renan Cantalice, Humberto Sant'anna, Kelly Jane, Rhychardson Rocha e Érika Graciano pela convivência, ajuda na condução do experimento e nas análises laboratoriais, além de momentos de alegria proporcionados ("Tudo em nome da ciência")...

Aos colegas de turma de Mestrado pelo convívio...

Ao corpo docente do curso de Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal da UFAL pela dedicação ao ensino...

A Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de Alagoas (FAPEAL), pela bolsa concedida...

Ao Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA-CECA)...

Ao programa de Mestrado em Agronomia...

Ao secretário do curso de pós-graduação Geraldo Lima...

A UFAL, "casarão do sofrimento" e do conhecimento...

...Meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 - Estresse hídrico.....	4
2.1.1 - Aspectos gerais das respostas das plantas ao déficit hídrico.....	4
2.1.2 - Ajustamento osmótico em resposta ao déficit hídrico do solo.....	6
2.2 - Cana-de-açúcar.....	8
2.2.1 - Aspectos gerais.....	8
2.2.2 - Características agronômicas.....	9
2.3 - Resposta da cana-de-açúcar ao estresse hídrico.....	10
2.3.1 - Crescimento.....	10
2.3.2 - Relações hídricas.....	11
2.3.3 - Trocas gasosas.....	12
2.3.4 - Pigmentos fotossintéticos e fluorescência da clorofila <i>a</i>	13
3 - METODOLOGIA	16
3.1 - Local do experimento e material vegetal.....	16
3.2 - Delineamento experimental e análise estatística.....	16
3.3 - Instalação do experimento e plantio.....	17
3.4 - Condições ambientais e tratamentos aplicados.....	17
3.5 - Coleta do experimento.....	17
3.6 - Análises fisiológicas.....	19
3.6.1 - Análise de crescimento e área foliar.....	19
3.6.2 - Trocas gasosas e EUA_p	20
3.6.3 - Fluorescência da clorofila <i>a</i>	21
3.6.4 - Potencial hídrico foliar.....	22
3.6.5 - Teores de pigmentos fotossintéticos.....	22
3.7 - Análises bioquímicas.....	23
3.7.1 - Determinação de solutos orgânicos.....	23

3.7.1.1 - Prolina livre.....	23
3.7.1.2 - Carboidratos solúveis.....	24
3.7.1.3 - N- α -aminossolúveis e proteínas solúveis.....	24
4 - RESULTADOS.....	26
4.1 - Potencial hídrico foliar.....	26
4.2 - Efeito do déficit hídrico nas trocas gasosas e na EUA_p das plantas.....	28
4.3 - Eficiência fotoquímica potencial (fluorescência da clorofila <i>a</i>).....	37
4.4 - Teores de pigmentos fotossintéticos.....	41
4.5 - Efeitos do estresse hídrico no acúmulo de solutos orgânicos.....	45
4.5.1 - Carboidratos solúveis.....	45
4.5.2 - N- α -aminossolúvel.....	45
4.5.3 - Proteína solúvel.....	47
4.5.4 - Prolina livre.....	47
4.6 - Efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e acúmulo de matéria seca.....	49
5 - CONCLUSÕES.....	59
6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Numeração de folhas em cana-de-açúcar no sistema estabelecido por Kuijper.....	18
FIGURA 2 - Temperatura e umidade relativa do ar da casa-de-vegetação durante as medições de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila <i>a</i> em quatro variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico.....	21
FIGURA 3 - Potencial hídrico foliar da antemanhã (A) e ao meio dia (B) de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	27
FIGURA 4 - Condutância estomática (g_s) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam os desvios padrão da média de quatro observações.....	30
FIGURA 5 - Transpiração foliar (E) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam os desvios padrão da média de quatro observações.....	31
FIGURA 6 - Fotossíntese líquida (A) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam os desvios padrão da média de quatro observações.....	32
FIGURA 7 - Rendimento quântico da fluorescência da clorofila <i>a</i> (F_v/F_m) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam os desvios padrão da média de quatro observações.....	38
FIGURA 8 - Número total de folhas emitidas e comprimento do limbo foliar em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação durante 141 dias.....	53

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Redução nas variáveis de trocas gasosas [condutância estomática (g_s), transpiração foliar (E) e fotossíntese líquida (A)] entre 0 e 71 dias após a aplicação do estresse e eficiência no uso da água da produtividade (EUA_p) em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	33
TABELA 2 - Redução na fluorescência da clorofila a (F_v/F_m) entre 0 e 71 dias após a aplicação do estresse em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação.....	39
TABELA 3 - Unidades SPAD, teores de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), clorofila $total$ (Chl $Total$), relação clorofila a/b (Chl $a/Chl b$) e carotenóides em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	42
TABELA 4 - Teores de carboidratos solúveis, N- α -aminosolúvel, proteínas solúveis e prolina livre em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	46
TABELA 5 - Número de perfilhos, diâmetro do colmo (Φ_{colmo}), altura de planta (h_{colmo}) e área foliar (AF) de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	50
TABELA 6 - Produção de matéria seca em raízes, colmos + bainhas (C+B), folhas e parte aérea (PA) e relação raiz/parte aérea (R/PA) de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.....	55

RESUMO

GONÇALVES, E. R. **Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica**. 2008. 66 p. Dissertação Mestrado (Agronomia - Produção Vegetal e Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, Estado de Alagoas, 2008.

A deficiência hídrica dos solos é um problema que afeta boa parte das áreas cultivadas no mundo, sobretudo, àquelas situadas nas regiões semi-áridas. A cana-de-açúcar é uma cultura em expansão no Nordeste do Brasil, onde a limitação na disponibilidade de água afeta o crescimento e o desenvolvimento da planta, causando prejuízos sócio-econômicos. Assim, o presente trabalho teve por finalidade avaliar, de maneira comparativa, as respostas das plantas de quatro variedades de cana-de-açúcar (SP79-1011, RB72454, RB98710 e RB92579) submetidas à deficiência hídrica durante a fase inicial de crescimento vegetativo, visando identificar características morfofisiológicas e bioquímicas para auxiliar o programa de melhoramento genético da cultura no processo de cruzamento e seleção de novas variedades. Para tanto, as plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação na Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UFAL, em Rio Largo, Estado de Alagoas. O estudo foi um fatorial (4 variedades x 3 níveis de água disponível no solo com base na capacidade de campo [cc], em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os níveis de água no solo foram assim definidos: controle (80 a 100% da cc), estresse hídrico moderado (40 a 60% da cc) e estresse hídrico severo (0 a 20% da cc). As variáveis analisadas foram: trocas gasosas (condutância estomática [g_s], fotossíntese líquida [A] e transpiração [E]), eficiência no uso da água da produtividade (EUA_p), fluorescência da clorofila a (F_v/F_m), potencial hídrico foliar (Ψ_w), pigmentos fotossintéticos, solutos orgânicos, número de perfilhos, diâmetro e altura do colmo, área foliar, número final de folhas emitidas e produção de biomassa em todas as partes da planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, com $P \leq 0,05$. A deficiência hídrica provocou reduções significativas na g_s , E , A e na EUA_p , independente da variedade. As variedades SP79-1011 e RB98710 apresentaram maior sensibilidade estomática, reduzindo a g_s e E aos 71 dias após início do estresse, mesmo sob condições controle. Entretanto, sob tais condições a A foi pouco afetada, indicando que as plantas são capazes de manter a taxa fotossintética mesmo com os estômatos parcialmente fechados. O estresse hídrico provocou pouca redução na eficiência fotoquímica potencial das variedades estudadas. A RB72454 manteve o Ψ_w , ao amanhecer e ao meio-dia, mais elevado do que o das demais variedades, independente da condição hídrica, enquanto a RB92579 apresentou os menores valores de Ψ_w sob condições de estresse hídrico, indicando que a mesma tem habilidade de se ajustar osmoticamente. A deficiência hídrica reduziu os teores de clorofilas em todas as variedades e não alterou os teores de carotenóides nas variedades SP79-1011 e RB98710, proporcionando às mesmas, maior proteção contra a foto-oxidação. O estresse hídrico elevou os níveis de prolina livre nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB92579 e provocou redução no crescimento das quatro variedades de cana-de-açúcar, sendo que, a produção de matéria seca e a área foliar foram mais afetadas. A RB98710 apresentou aumento na relação raiz/parte aérea quando submetida a estresse hídrico severo.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar. Estresse hídrico. Trocas gasosas. Fluorescência. Solutos orgânicos.

ABSTRACT

GONÇALVES, E. R. **Photosynthesis, osmorregulation and initial growth of four sugarcane varieties submitted to water deficiency**. 2008. 66 p. Dissertation Masters degree (Agronomy Production Vegetable & Protection of Plants) - Federal University of Alagoas, Rio Largo, State of Alagoas, 2008.

The water deficiency of soil is a problem that affects good part of the areas cultivated in the world, over all, to those situated ones in the half-barren regions. The sugarcane is a culture in expansion in the Northeast of Brazil, where the limitation in the water availability for the plant affects the growth and the development of the plant, causing, excessively, social and economics damages. Thus, the present work had for purpose to evaluate, in comparative way, the response of four sugarcane varieties (SP79-1011, RB72454, RB98710 and RB92579) when submitted to water stress during the initial phase of vegetative growth, aiming to identify to morphophysiological characteristics and biochemists that may serve like markers, assisting, the genetics breedings programs of the culture in the crossing process and selection of new varieties. For this, the plants had been cultivated in greenhouse of the Academic Unit Center of Agrarian Sciences, Campus Delza Gitaí, of the UFAL, in Rio Largo, State of Alagoas. The study was a factorial (4 varieties x 3 levels of water based on field capacity [fc]), in completely randomized design with 5 replications. The levels of water in soil were defined like this: control (80 to 100% of fc), moderate stress (40 to 60% of fc) and severe stress (0 to 20% of fc). The analyzed variables had been: gaseous exchanges (stomatal conductance [g_s], liquid photosynthesis [A] transpiration [E] and water use efficiency of the yield [WUE_y]), fluorescence of chlorophyll a (F_v/F_m), leaf water potential (Ψ_w), photosynthetic pigments, organics solutes, number of tillers, diameter and height of stem, leaf area, final number of emitted leaf and production of biomass in all the parts of the plant. The data had been submitted to the analysis of variance and the averages compared between itself for the test of Tukey, with $P \leq 0,05$. The water deficiency provoked significant reductions in g_s , E , A and in the WUE_y , independent of the variety. Varieties SP79-1011 and RB98710 had presented greater stomatic sensitivity, reducing g_s and E to the 71 days after beginning of stress of it, even under control. However, under such conditions the A was little affected, indicating that the plants are capable to keep the photosynthetic rate with stomata closed partially. The water stress provoked a little reduction in the potential photochemistry of the studied varieties. The RB72454 kept the base Ψ_w and midday more raised that most of varieties, independent of water condition, while the RB92579 presented the lesser values of Ψ_w under water stress conditions, indicating that the same one has ability of osmotic adjustment. The water deficiency reduced chlorophyll contents in all the varieties and it did not modify the carotenoids contents in varieties SP79-1011 and RB98710, providing to the same ones, bigger protection against the photo-oxidation. The water stress raised the levels of free proline in varieties SP79-1011, RB72454 and RB92579 and provoked reduction in the growth of the four sugarcane varieties, being that, the production of dry matter and the leaf had been more affected. The RB98710 presented increase in the relation root/shoot when submitted to severe water stress.

Key-words: Sugarcane. Water stress. Gas exchange. Fluorescence. Organics solutes.

1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola, de modo geral, mostra-se cada vez mais dependente da ciência e da tecnologia, visto que o conhecimento de fatores que influenciam o rendimento das culturas, aliado às novas e eficazes técnicas de cultivo, é de grande importância para obtenção de produtividades elevadas.

A deficiência hídrica dos solos é um problema que afeta boa parte das áreas cultivadas no mundo, principalmente, aquelas situadas nas regiões semi-áridas, reduzindo o crescimento e a produção vegetal, provocando, sobretudo, enormes prejuízos sócio-econômicos (SZABOLCS, 1994; MUNNS, 2002), podendo ser um componente normal em alguns processos de desenvolvimento das plantas, além de ser de ocorrência comum na maioria dos vegetais superiores (BRAY, 1997). Porém, como existe variabilidade na adaptação à seca entre espécies e até dentro da mesma espécie, torna-se importante avaliar o comportamento de diferentes materiais genéticos em condições de déficit hídrico, visando recomendação de cultivo (PIMENTEL, 1999).

O estresse hídrico é decorrente dos fatores climáticos e afeta, principalmente, as áreas não irrigadas, onde a distribuição das chuvas apresenta irregularidade temporal e espacial. No Brasil, esse problema é percebido, sobretudo, na região Nordeste, onde aproximadamente 54% de toda área está situada no semi-árido (FAO, 2000), abrangendo áreas cultivadas, irrigadas ou não (GHEYI, 2000).

No Brasil, a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) foi introduzida como planta ornamental e, posteriormente, em função do seu teor de açúcar, foi utilizada como alimento e aguardente. Na atualidade, também é utilizada para produção de álcool anidro (aditivo para gasolina), de álcool hidratado, de energia elétrica, bem como na alimentação animal. Devido ao seu elevado teor de fibras, ainda apresenta, em termos energéticos, grandes vantagens competitivas na comparação com outras matérias-primas. O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador mundial dessa gramínea, seguido por Índia e Austrália, sendo que metade de sua produção é destinada ao mercado interno (SEAG-ES, 2008).

A cana-de-açúcar, espécie moderadamente sensível ao estresse hídrico (MAAS & HOFFMAN, 1977), encontra-se distribuída em uma área superior a 7,1 milhões de hectares no Brasil, com produção para o ano de 2008 estimada em aproximadamente 550 milhões de toneladas. Em contrapartida, a região Nordeste apresenta, de maneira geral, produtividade baixa, apesar do aumento observado nos últimos anos devido ao uso de variedades selecionadas e melhoradas (IBGE, 2008).

Nos países onde os estresses ambientais são fatores constantes e limitantes para a produção vegetal, destacam-se as pesquisas que visam à identificação de características morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares durante a adaptação ao estresse e, posteriormente, sua utilização para produção de variedades tolerantes, seja através do melhoramento genético convencional ou da engenharia genética (HASEGAWA et al., 2000; MUNNS, 2002; ZHU, 2002), apesar de a obtenção das últimas, atualmente, ser considerada lenta (TESTER & BACIC, 2005). Para tolerância ao déficit hídrico, isto tem acontecido com relativo sucesso, através do estudo comparativo intra e inter-específico com variedades contrastantes.

Nessa situação, estudos que visam à seleção de variedades que apresentem tolerância aos estresses abióticos, se constituem numa alternativa viável para aumentar a produtividade da cana-de-açúcar na região Nordeste, sem, no entanto, aumentar os custos de produção. Assim, parâmetros fisiológicos, como medida indireta do teor de clorofila nas folhas e fluorescência da clorofila *a* podem ser utilizados como ferramentas para diagnosticar a integridade do aparato fotossintético quando as plantas estão submetidas a adversidades ambientais, tendo em vista que são técnicas rápidas, precisas e não destrutivas (VAN DEN BERG & PERKINS, 2004; TORRES NETTO et al., 2005).

Em adição, critérios agronômicos como a análise de crescimento e a sobrevivência de plantas em diferentes condições ambientais, permitem avaliar e quantificar as taxas de crescimento em cana-de-açúcar, sendo considerado um método-padrão para se medir a produtividade biológica, proporcionando o estudo de diferentes variedades de uma determinada cultura em seu ambiente produtivo (BENINCASA, 2003; OLIVEIRA et al., 2004), tendo em vista que tais parâmetros expressam a combinação dos efeitos genéticos e ambientais, bem como suas interações sobre o crescimento das plantas, integrando os mecanismos fisiológicos e bioquímicos que conferem tolerância ao estresse (YEO, 1999).

Dessa forma, Bray (1997) e Zhu (2002) afirmam que o primeiro passo de regulação da resposta ao estresse hídrico é o reconhecimento do próprio estresse, onde ocorre perda de

água da célula, desencadeando rotas de transdução de sinal celular, fazendo com que um estresse físico possa se transformar em resposta bioquímica.

Inman-Bamber & Smith (2005) ressaltam ainda, que o ajustamento osmótico em cana-de-açúcar tende a ocorrer somente após deficiência hídrica substancial, onde a planta pode acumular diversos solutos orgânicos, dentre eles, prolina. Tal soluto, por sua vez, pode ainda, ser indicador ou protetor de estresse hídrico em determinadas variedades de trigo (FUMIS & PEDRAS, 2002), milho e sorgo (PINHO & ANSEL, 1995), enquanto em milho o monitoramento dos teores de solutos osmoticamente ativos nas folhas não parece ser bom indicador de diferenças na resposta da cultura a tal estresse abiótico (PIMENTEL, 1999).

Diante dos relatos supracitados, o presente trabalho teve por finalidade avaliar, de maneira comparativa, as respostas das plantas de quatro variedades de cana-de-açúcar, quando submetidas ao déficit hídrico do solo durante a fase inicial de crescimento vegetativo, visando identificar características morfofisiológicas e bioquímicas para auxiliar o programa de melhoramento genético da cultura no processo de cruzamento e seleção de novas variedades.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Estresse hídrico

No ambiente onde as plantas são cultivadas, estas são freqüentemente submetidas a condições externas adversas, resultando em estresses, que afetam de maneira desfavorável seu crescimento, desenvolvimento e/ou produtividade. Tais estresses podem ser bióticos (resultantes da ação de microrganismos) e abióticos (resultantes do excesso ou déficit de algum fator físico ou químico do meio ambiente), podendo ocorrer de forma isolada ou concomitantemente. Dentre os estresses abióticos destacam-se: salinidade, déficit hídrico (estresse hídrico), deficiência ou excesso de nutrientes minerais e altas ou baixas temperaturas (BRAY, 1997; CAMBRAIA, 2005).

O déficit hídrico na planta ocorre, na maioria das vezes, quando a taxa de transpiração é superior à absorção de água, sendo comum durante o ciclo de diversas culturas agrícolas, inclusive em cana-de-açúcar. Assim, um conhecimento adequado de como os vegetais respondem a tal estresse abiótico é um dos pré-requisitos para escolher tanto a melhor variedade como as melhores práticas de manejo, visando, sobretudo, otimizar a exploração dos recursos naturais (BRAY, 1997; SMIT & SINGELS, 2006), tendo em vista que menos água seria desperdiçada, seja por escoamento superficial ou por drenagem (ROBERTSON et al., 1999).

2.1.1. Aspectos gerais das respostas das plantas ao déficit hídrico

A deficiência hídrica em plantas inicia-se a partir de uma complexa via de respostas, começando com a percepção do estresse, o qual desencadeia uma seqüência de eventos moleculares, finalizando com várias respostas fisiológicas, metabólicas e de desenvolvimento. Uma mudança no potencial osmótico, através da membrana plasmática, pode ser a maior causa de respostas ao estresse hídrico em nível molecular (BRAY, 1993).

As respostas das plantas ao estresse dependem da espécie, do genótipo, da duração e da severidade, da idade e estágio de desenvolvimento, do órgão e tipo de célula e do comportamento sub-celular. Dessa forma, as plantas podem apresentar tolerância ou resistência (quando sobrevive às adversidades) ou suscetibilidade (quando sofre redução em seu crescimento, podendo chegar à morte, dependendo da intensidade do estresse ao qual a planta é submetida) (CAMBRAIA, 2005).

A resistência ao estresse hídrico se manifesta geralmente de quatro formas: *a*) limitação do crescimento, para minimizar a perda de água; *b*) adaptações morfológicas; *c*) adaptações fisiológicas; e *d*) alterações metabólicas. As três primeiras são processos complexos, conhecidos incompletamente, porém, progressos significantes foram obtidos no entendimento das alterações metabólicas (ARTLIP & WISNIEWSKI, 2001).

A capacidade da planta em responder e sobreviver ao estresse hídrico celular depende dos mecanismos internos que integram as respostas celulares. Tais repostas podem ocorrer em alguns segundos (como mudanças no status de fosforilação da proteína) ou em poucos minutos ou horas (como mudanças na expressão gênica) (BRAY, 1997).

Fisiologicamente, as plantas submetidas ao déficit hídrico podem apresentar respostas diferenciadas de acordo com a espécie, sendo a taxa fotossintética uma das variáveis que apresentam maior sensibilidade à seca. Porém, as plantas podem continuar realizando fotossíntese por tempo superior àquele destinado ao crescimento em expansão, pois o estômato responde mais lentamente no início do estresse hídrico que o turgor celular, responsável pelo alongamento de células que dirigem à expansão foliar (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005).

Larcher (2004) relata que um organismo vegetal atravessa uma sucessão de fases características em resposta a estresses: *a fase de alarme*, onde ocorre a perda de estabilidade das estruturas e das funções que mantêm as funções vitais (processos bioquímicos e metabolismo de produção de energia), em que a planta pode reagir e se restituir do estresse imposto; *a fase de resistência*, a qual é aumentada sob estresse contínuo, iniciando um processo de rusticidade, no qual, dependendo da duração, a planta pode apresentar adaptação através de ajustamento osmótico e; *a fase de exaustão*, que ocorre quando o estresse é muito demorado ou sua intensidade aumenta, deixando a planta suscetível às infecções que ocorrem como consequência da diminuição das defesas do hospedeiro e levando ao colapso prematuro.

Stuedle (2000) e Taiz & Zeiger (2004) relatam que uma das primeiras respostas das plantas à deficiência hídrica do solo é a síntese de ácido abscísico (ABA) no sistema radicular, o qual é translocado para a parte aérea induzindo ao fechamento estomático,

limitando, por conseguinte, a assimilação de CO₂. Os autores afirmam ainda que o ABA exerce enorme efeito positivo no crescimento da raiz por suprimir a produção de etileno e um leve efeito negativo no crescimento da parte aérea, resultando em aumento marcante na razão raiz:parte aérea em baixos potenciais hídricos, o qual, juntamente com o efeito do ABA no fechamento estomático, auxilia a planta a “enfrentar” o estresse hídrico. Além disso, em resposta a condições adversas, muitas plantas acumulam metabólitos compatíveis no citoplasma de suas células, na tentativa de combater o estresse hídrico, bem como a salinidade (MUNNS, 2002).

2.1.2. Ajustamento osmótico em resposta ao déficit hídrico do solo

Um dos mecanismos de adaptação à seca que a planta desenvolve, a nível celular, é a produção e/ou acúmulo de solutos osmoticamente ativos, processo conhecido como ajustamento osmótico ou osmorregulação. Tais solutos podem ser acumulados em níveis altos, sob baixos potenciais hídricos sem, no entanto, ocorrer transtorno na função protéica (TAYLOR, 1996; PIMENTEL, 1999; INMAN-BAMBER & SMITH, 2005), protegendo, sobretudo, as células contra a desidratação (YAMAGUCHI-SHINOZAKI et al., 2002), pois são hidrofílicos, ou seja, possuem alta afinidade por água (BOHNERT & SHEN, 1999).

Entre esses osmólitos estão os aminoácidos (prolina, por exemplo), carboidratos (pinitol, frutose e glicose, por exemplo) e compostos quaternários de amônia (glicina betaína, por exemplo). As enzimas envolvidas na síntese desses solutos compatíveis permitem um ajuste osmótico ou acumulação líquida de solutos, resultando em decréscimo do potencial osmótico, o qual pode manter o fluxo de água em favor do gradiente de potencial hídrico, protegendo ainda a turgescência celular (BRAY, 1997). Por outro lado, Pimentel (1999) afirma que a osmorregulação, por si só, não promove o crescimento, pois a turgescência gerada não é o único fator de controle do crescimento.

Portanto, o que parece acontecer é que a planta ajusta o seu potencial hídrico de acordo com a diminuição no potencial hídrico do solo, de modo que o gradiente no sistema solo-planta seja mantido. Desta forma, Prisco (1980) afirma que se o potencial hídrico do solo decresce abruptamente, a fase inicial do ajustamento é a desidratação, isto é, o teor de água das células diminui e como resultado tem-se um abaixamento do potencial osmótico celular. Ademais, se a diminuição do potencial hídrico do solo for devido à presença de solutos permeáveis ao sistema radicular, tais como, NaCl e Na₂SO₄, depois de algum tempo os íons se deslocarão para dentro das células da raiz e serão responsáveis pela osmorregulação da planta.

Assim, o mesmo autor reforça, em sua revisão, que o crescimento foliar depende da divisão e/ou aumento em volume das suas células, cujo comportamento é igual ao de um osmômetro, isto é, o seu volume aumenta de acordo com o potencial de pressão celular. Portanto, o crescimento celular, que é o aumento irreversível em volume, será função da extensibilidade da parede e do potencial de pressão mínimo requerido para provocar distensão dessa parede, ou seja:

$$C = e \cdot \Delta\Psi_p$$

onde:

C = crescimento (aumento irreversível em volume);

e = extensibilidade da parede celular; e

$\Delta\Psi_p$ = diferença entre o potencial de pressão mínimo requerido para provocar distensão da parede.

Larcher (2004) relata que, sob influência de estresses ambientais, a síntese de proteínas é inibida e a degradação é acelerada, o que leva a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres, apresentando como característica marcante de um distúrbio no metabolismo das proteínas, uma mudança nas proporções de aminoácidos e, freqüentemente, um aumento elevado na concentração de prolina livre, sendo este, talvez, o aminoácido mais amplamente distribuído como osmólito compatível, cuja síntese, transporte, acumulação e degradação podem ser atribuídas como respostas adaptativas das plantas ao estresse hídrico (TAYLOR, 1996).

A prolina é um soluto compatível amplamente estudado, sendo sintetizado do ácido L-glutâmico via Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C); a reação é catalizada por duas enzimas, P5C sintetase (P5CS) e P5C redutase (P5CR). A enzima P5CS é induzida por estresse hídrico, salinidade e ABA, porém, o mesmo não ocorre com a P5CR. A desintegração de prolina à partir de P5C, catalizada pela prolina desidrogenase, é reprimida pela deficiência hídrica e induzida por prolina e reidratação (BRAY, 1997)

O papel da prolina em plantas pode não estar restrito ao de soluto compatível, pois, durante o estresse hídrico, ao ser sintetizada, pode servir como reserva de nitrogênio orgânico, podendo ser utilizado durante a reidratação (TAYLOR, 1996).

Curiosamente, o transporte de prolina pode também ser controlado pelo status hídrico. O gene codificado como o transportador específico de prolina, *ProT2*, é induzido por estresse

hídrico (apesar de nem todas os membros da família do gene *ProT* serem induzidas por essa rota); isso pode indicar que a distribuição de prolina em toda a planta pode ser um importante aspecto da função do osmólito (BRAY, 1997).

A síntese e acúmulo de outros solutos compatíveis também são regulados durante o estresse hídrico. O transporte de proteínas, assim como os canais transportadores de íons, também desempenham importante papel para evitar o déficit hídrico através da osmorregulação. As aquaporinas, proteínas de membranas que transportam água, podem estar envolvidas no controle do status hídrico celular em resposta à deficiência hídrica (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Apesar dos relevantes estudos acerca deste assunto, Bohnert & Shen (1999) relatam que o termo soluto compatível leva, simplesmente, a um significado fisiológico que não explica todas as suas funções, fazendo com que os mecanismos bioquímicos pelos quais os solutos compatíveis protegem as plantas ainda sejam desconhecidos, porém os estudos com plantas transgênicas existentes são de grande valia, pois nestas plantas o acúmulo de metabólitos também apresenta incrementos significativos

2.2. Cana-de-açúcar

2.2.1. Aspectos gerais

A origem provável da cana-de-açúcar data de 6000 anos a.C., em regiões próximas à Índia. Durante a Antigüidade, porém, o açúcar não passava de uma especiaria exótica, sendo utilizada apenas como tempero ou remédio, uma vez que o preparo de alimentos adocicados era feito com mel de abelhas. O termo sânscrito *sarkara* deu origem a todas as versões da palavra açúcar nas línguas indo-européias: *sukkar* em árabe, *saccharum* em latim, *zucchero* em italiano, *seker* em turco, *zucker* em alemão, *sugar* em inglês (FAUCONNIER & BASSEREAU, 1975).

No século XII, o açúcar chegou à Europa. Importantes regiões produtoras surgiram nos séculos seguintes, especialmente no Extremo Oriente. O interesse pela especiaria foi crescente depois do século XV, quando novas bebidas, como o café, o chá e o chocolate eram adoçados com açúcar. Em 1493, Cristóvão Colombo iniciou o cultivo da cana-de-açúcar nas Antilhas. A partir daí, a história do açúcar no mundo ganhou novas dimensões. No Brasil, o açúcar é produzido a partir da cana, enquanto na Europa é quase totalmente fabricado a partir

da beterraba açucareira. Hoje, o interesse mundial pela cultura da cana-de-açúcar é crescente, dada sua importância na produção de energia elétrica (bagaço), combustível (álcool hidratado), medicamento (álcool medicinal) e alimento (açúcar) (FAUCONNIER & BASSEREAU, 1975).

As atuais variedades de cana-de-açúcar são formadas, na grande maioria, por híbridos *interespecíficos*, aos quais foram incorporadas características de tolerância a *doenças* e à *seca*, ao passo que se procurou manter e/ou melhorar as características da espécie *Saccharum officinarum* (diâmetro do colmo e teor de açúcar).

A cana-de-açúcar teve papel fundamental no desenvolvimento da região Nordeste, devido ao seu apelo sócio-econômico e ambiental, refletido através dos seguintes pontos: (1) uso extensivo da terra, ocupando pequenas e grandes propriedades; (2) absorve grande quantidade de mão-de-obra, a maioria não qualificada; (3) movimentou a economia de vários municípios e mesmo de Estados, como Alagoas e Pernambuco e (4) é uma fonte de energia limpa e renovável (GONÇALVES, 2006).

2.2.2. Características agronômicas

A cana-de-açúcar é uma gramínea perene, da família *Poaceae*, cujo crescimento pode variar de nove a trinta e seis meses. Quando se estabelece como cultura, o auto-sombreamento induz inibição do perfilhamento e aceleração do crescimento do colmo principal. O crescimento em altura continua até a ocorrência de alguma limitação no suprimento de água, ocorrência de baixas temperaturas ou ainda devido ao florescimento, sendo este último, um processo indesejável em culturas comerciais (RODRIGUES, 1995).

A planta é detentora de metabolismo C_4 , tendo como principal característica elevadas taxas fotossintéticas, sendo altamente eficiente na conversão de energia luminosa em energia química. Outra particularidade da cultura é a produção de muitos perfilhos, sobremaneira, na fase inicial do desenvolvimento, cada qual com diversos nós separados por entrenós. Os entrenós são responsáveis pelo armazenamento da sacarose nas células do parênquima e tecido vascular, sendo o colmo o principal órgão de armazenamento dos fotoassimilados (sacarose), havendo, porém, vários fatores que promovem a inibição ou favorecem o desenvolvimento da cultura (OLIVEIRA et al., 2004; TEJERA et al., 2007).

As características inerentes a cada genótipo definem o número de colmos por planta, assim como a altura e o diâmetro do colmo, o comprimento e a largura das folhas e a

arquitetura da parte aérea, sendo a expressão destes caracteres muito influenciada pelo clima, pelo manejo e pelas práticas culturais utilizadas. As características das variedades influenciam a eficiência fotossintética da cana-de-açúcar, além das variações climáticas que prevalecem durante todo o desenvolvimento. A fotossíntese é correlacionada negativamente com a largura das folhas e positivamente com sua espessura. Uma maior inclinação da folha no colmo traduz-se em maior eficiência fotossintética, sobretudo em populações de alta densidade populacional, devido à penetração mais eficiente da luz no dossel (RODRIGUES, 1995).

Nos primeiros meses, a quantidade de água necessária pela cultura é relativamente pequena, porém, quando a planta encontra-se em pleno estágio de desenvolvimento vegetativo, são exigidas grandes quantidades de água (FAUCONNIER & BASSEREAU, 1975), desta forma, a cana-de-açúcar necessita de 250 partes de água para formar uma parte de matéria seca durante todo o período de crescimento (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Dois mecanismos morfofisiológicos que a cultura apresenta para evitar a seca são o enrolamento foliar (reduzindo a projeção de área foliar, e por conseguinte, a radiação incidente) e o fechamento estomático, limitando a transpiração (LISSON et al., 2005). Esses mecanismos podem variar, consideravelmente, entre genótipos de cana-de-açúcar, podendo ser correlacionado com a tolerância à seca (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005), daí a importância do estudo em variedades específicas.

2.3. Resposta da cana-de-açúcar ao estresse hídrico

2.3.1. Crescimento

A formação do dossel da cultura desempenha papel importante em seu rendimento, interceptando a radiação solar, influenciando, sobretudo, nos processos fotossintéticos e de transpiração da cultura, além de evitar o aparecimento de ervas daninhas, sendo, portanto, fatores cruciais na determinação do rendimento final da cultura (SMIT & SINGELS, 2006). Entretanto, a influência do estresse hídrico nesse fator não é amplamente investigado.

Inman-Bamber (2004) ressalta que o tempo de exposição à seca afeta negativamente o crescimento da parte aérea, sobretudo a produção de folhas, acelerando a senescência foliar e da planta como um todo, podendo, ainda, levar a uma redução na interceptação da radiação, na eficiência do uso de água e na fotossíntese, bem como ao aumento da radiação transmitida para a superfície do solo. Em adição, Oliveira et al., (2007) afirmam que o estudo da área

foliar em variedades de cana-de-açúcar permite correlacioná-la com o potencial produtivo das mesmas, seja em massa seca, quantidade de açúcar ou taxas de crescimento.

O estudo da análise de crescimento aplicado à cultura da cana-de-açúcar permite avaliar e quantificar as taxas de crescimento em diferentes condições ambientais, sendo ainda, considerado como um método padrão para se medir a produtividade biológica de espécies vegetais, permitindo o estudo de diferentes variedades de uma determinada cultura em seu ambiente de produção (OLIVEIRA et al., 2004). Assim, dois dos componentes responsáveis pelo aumento da produtividade são biomassa e fração de sacarose, onde o aumento de um ou de ambos, resulta no aumento do rendimento da cultura, sendo que a biomassa pode aumentar devido a maximização da radiação interceptada e/ou a eficiência da fotossíntese (ROBERTSON et al., 1999; INMAN-BAMBER, 2004; SINGELS et al., 2005).

Faz-se necessário, também, o conhecimento de alguns mecanismos fisiológicos de resposta das culturas. O potencial hídrico foliar, por exemplo, pode ser uma medida de sensibilidade da planta ao status hídrico do solo (TAIZ & ZEIGER, 2004), assim como o fechamento estomático, a queda prematura das folhas e o ajustamento osmótico são possíveis mecanismos de tolerância à seca, cujas informações são escassas para a maioria das variedades, sendo, no entanto, necessárias para se obter melhor entendimento acerca das respostas das culturas à deficiência hídrica (SMIT & SINGELS, 2006)

2.3.2. Relações hídricas

O conhecimento das relações hídricas é fundamental para melhorar o manejo da cultura nas regiões tropicais, sobretudo em virtude do grande déficit hídrico existente em áreas cultivadas com cana-de-açúcar. Em áreas onde a irrigação não está disponível, o conhecimento das relações hídricas pode auxiliar os programas de melhoramento genético de culturas, pois a resistência à seca pode ser uma importante característica para seleção de novas variedades. Assim, o uso eficiente da água na irrigação é, provavelmente, a maneira mais eficaz de melhorar o conhecimento acerca das relações hídricas em cana-de-açúcar (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005)

Apesar de estudos relevantes acerca das respostas das plantas ao potencial hídrico do solo, Santos & Carlesso (1998) afirmam que tal variável não indica, de maneira geral, as condições de déficit ou excesso de água na profundidade do solo explorado pelas raízes. Assim, os mesmos autores fazem restrição ao uso do potencial hídrico do solo para caracterizar a intensidade de ocorrência de déficit hídrico, sugerindo que a resposta fisiológica

das plantas à seca seja avaliada em função da água disponível no solo. Por outro lado, o potencial hídrico foliar tem sido relatado como indicador de estresse hídrico em plantas de milho, refletindo o quanto de água está disponível no solo para as plantas (BERGONCI et al., 2000; BIANCHI et al., 2005).

Durante a transpiração vegetal, que é uma forma eficiente de dissipar o calor proveniente do sol, gradientes energéticos ou potenciais são desenvolvidos ao longo de toda a planta. Isso é necessário para que ocorra o fluxo de água desde as raízes, passando pelo xilema e chegando às células parenquimatosas das folhas. O status energético da água na planta é expresso como potencial hídrico (Ψ_w), definido como o trabalho mecânico requerido para transferir uma unidade de água no estado padrão, onde $\Psi_w = 0$ para a situação onde Ψ_w tem valor definido (TAIZ & ZEIGER, 2004), sendo o potencial hídrico da antemanhã (medido antes do amanhecer), bastante informativo, pois corresponde aproximadamente ao potencial hídrico do solo (LARCHER, 2004).

2.3.3. Trocas gasosas

Sob concentrações intercelulares de CO_2 muito baixas, a fotossíntese é fortemente limitada, enquanto que as taxas respiratórias não são afetadas. Como resultado, verifica-se balanço negativo entre o CO_2 fixado pela fotossíntese e o produzido pela respiração e, com isso, um efluxo líquido de dióxido de carbono proveniente da planta. Com o aumento da concentração de CO_2 até o ponto que esses dois processos se equilibram, a planta atinge o ponto de compensação de CO_2 . Sensíveis à presença de dióxido de carbono, os estômatos se fecham sempre que a concentração aumenta, quer na câmara sub-estomática, devido a um aumento da respiração mitocondrial, quer devido a uma aumento do CO_2 atmosférico (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

A planta tem que equilibrar a necessidade de conservar água e assimilar CO_2 atmosférico, fazendo com que a área foliar desempenhe papel importante na difusão do dióxido de carbono e no vapor de água entre os estômatos. Transpiração e fotossíntese, com a conseqüente acumulação de massa seca estão relacionadas às trocas gasosas entre os estômatos e a atmosfera. Porém, a fotossíntese líquida e a acumulação de massa seca também dependem de processos metabólicos que podem responder ao estresse hídrico diferentemente do que outros processos difusivos (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005).

O estresse hídrico moderado pode reduzir a taxa de assimilação de CO_2 de forma distinta para diferentes genótipos, tanto por limitações difusivas, pela menor disponibilidade

de dióxido de carbono para assimilação, quanto por limitações metabólicas, pelo aumento do efeito fotoinibitório e, por conseqüência, um estresse oxidativo, com redução dos processos bioquímicos do ciclo de Calvin, dependentes de ATP produzido nas membranas dos tilacóides (PIMENTEL, 2005).

Em nível celular, a relação entre fotossíntese e respiração são processos básicos para absorção de carbono. Em nível de organismo, o crescimento da planta pode ser relacionado com a taxa de assimilação líquida e de partição e alocação do carbono assimilado. O conhecimento fisiológico e morfofisiológico relacionado com a produtividade pode ser muito valioso, não somente para fisiologistas, mas também para melhoristas e biotecnologistas (TEJERA et al. 2007).

A resistência estomática, ou seja, o grau de fechamento dos estômatos, que por sua vez é o inverso da condutância estomática, é regulada pela planta, de forma que a transpiração é proporcional ao balanço de energia, sem induzir aquecimento excessivo das folhas. Acredita-se que o status hídrico das células epidérmicas é o responsável pela abertura estomática, e não o aumento do status hídrico da folha (LARCHER, 2004).

A maior resistência estomática observada em plantas superiores resulta de uma extraordinária e constante taxa de transpiração por planta, apesar de ocorrer aumentos na área foliar. Folhas e raízes podadas resultam em decréscimo na resistência, tanto que a transpiração por planta é mantida praticamente no mesmo nível. Esses dados sugerem um mecanismo homeostático para manutenção quase que constante do status hídrico foliar em diferentes tamanhos de espécies vegetais e condições ambientais, desde que a água do solo não seja limitante. Assim, pode-se concluir que o aumento do status hídrico foliar é controlado pela abertura estomática, e não o inverso (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005)

Segundo Tejera et al., (2007) os estudos da partição de carbono em cana-de-açúcar vêm sendo concentrados, primariamente, na reserva de sacarose, e têm revelado que existe um rápido ciclo da síntese de sacarose e sua degradação.

2.3.4. Pigmentos fotossintéticos e fluorescência da clorofila *a*

Grande parte da radiação incidente sobre a superfície da folha não é utilizada nos processos fotoquímicos. Esta radiação é perdida de várias formas, uma parte é refletida e outra porção é transmitida, ou seja, atravessa a folha sem ser absorvida, enquanto que uma terceira fração da radiação é absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes. No entanto, nem todos esses fótons absorvidos pelos pigmentos são utilizados nos processos fotoquímicos (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Dentre os pigmentos fotossintéticos, as clorofilas (*a* e *b*) e os carotenóides são os mais abundantes pigmentos biológicos existentes no planeta. Estima-se que a produção líquida anual de clorofilas, aquática e terrestre, exceda a 1×10^9 toneladas (HENDRY & PRICE, 1993). Por sua estrutura química ser instável, as clorofilas são facilmente degradadas, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos vegetais (STREIT et al., 2005).

As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o local da fotossíntese, a qual possui duas reações importantes: a *fotoquímica*, nas membranas dos tilacóides e a *bioquímica*, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos denominados de acessórios, tais como os carotenóides (carotenos e xantofilas) (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Ao absorver os fótons (energia luminosa), as moléculas de clorofila modificam temporariamente suas configurações eletrônicas, passando do estado basal para o estado excitado, o qual possui nível de energia superior, sendo ainda muito instável e de vida curta. Assim, após absorver os fótons, esses pigmentos podem dissipar o excesso de energia proveniente da luz por meio de quatro formas competitivas: *dissipação fotoquímica* (utilizada na fotossíntese), *fluorescência* (re-emissão na forma de luz), *conversão direta de energia* (retorno da clorofila ao seu estado base sem ocorrer emissão de fótons) e *dissipação não-fotoquímica* (re-emissão na forma de calor) (MAXWELL & JONHSON 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004; CAMPOSTRINI, 2008).

O déficit hídrico caracteriza-se como um dos estresses ambientais responsáveis pela perda de pigmentos nas folhas, fazendo com que o ciclo de vida da planta seja alterado. Em adição, a relação entre clorofila *a* e *b* em plantas terrestres pode ser usada como indicativo de resposta ao sombreamento e a senescência prematura, e a relação entre clorofila e carotenóides é usada em menor proporção para diagnosticar a taxa senescência sob estresse hídrico (HENDRY & PRICE, 1993).

Assim, métodos de quantificação e de estimativa de tais pigmentos também podem ser utilizados como ferramentas para seleção de genótipos tolerantes à seca. Métodos destrutivos são citados na literatura como sendo relativamente eficientes, sobretudo, o de extração com acetona a 80% (v/v) e posterior determinação em espectrofotômetro.

O medidor portátil de clorofila SPAD-502 permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha sem, no entanto, destruí-la, fazendo com que tal método seja caracterizado pela simplicidade e rapidez, além de possibilitar uma avaliação não destrutiva do tecido foliar (ARGENTA et al., 2001). Em adição, medições com SPAD-502 podem ser

significativamente correlacionadas com o conteúdo de nitrogênio em folhas de gramíneas temperadas e tropicais, auxiliando, sobremaneira nos processos de seleção e melhoramento de plantas (ARGENTA et al., 2001; GÁBORČÍK, 2003).

Por outro lado, a técnica do rendimento quântico do fotossistema II (PSII), obtido a partir da fluorescência da clorofila *a*, também pode estimar a integridade do PSII de uma determinada folha, pois revela o nível energético de excitação dos pigmentos que dirigem à fotossíntese. Esse nível depende do balanço entre irradiação e da soma das taxas de fotossíntese e dissipação térmica (SCHOLLES & HORTON, 1993). Em adição, Campostrini (2008) afirma que essa técnica apresenta-se como uma ferramenta de grande potencial nos estudos relacionados aos efeitos dos fatores do ambiente sobre o processo fisiológico em plantas, indicando ausência ou presença de comprometimento no processo fotossintético.

As principais variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila *a* são: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m). O F_0 representa a fluorescência com todos os centros de reação “abertos” e refere-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do PSII. O F_m indica a completa redução da quinona A (Q_A) a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação Q_A , gerando fluorescência máxima. A diferença entre F_m e F_0 resulta na fluorescência variável (F_v), que representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII (P680) até a plastoquinona (PQH2). O rendimento quântico máximo é calculado como: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (MAXWELL & JOHNSON, 2000).

Nesse sentido, a técnica do rendimento quântico do fotossistema II (PSII), obtido a partir da fluorescência da clorofila *a*, também pode estimar a integridade do PSII de uma determinada folha, pois revela o nível energético de excitação dos pigmentos que dirigem à fotossíntese. Esse nível depende do balanço entre irradiação e da soma das taxas de fotossíntese e dissipação térmica (SCHOLLES & HORTON, 1993). Em adição, Campostrini (2008) afirma que essa técnica apresenta-se como uma ferramenta de grande potencial nos estudos relacionados aos efeitos dos fatores do ambiente sobre o processo fisiológico em plantas, indicando ausência ou presença de comprometimento no processo fotossintético.

Dessa forma, a habilidade em manter elevadas razões F_v/F_m sob estresse hídrico pode ser um indicativo de eficiência no uso da radiação pela fotoquímica e pela assimilação de carbono, assim como uma resposta relativamente rápida de F_v/F_m ao estresse hídrico moderado pode ser um traço importante para seleção de germoplasma de cana-de-açúcar tolerantes à seca (SILVA et al., 2007), pois pode ser um indicativo de fotoinibição associada a danos no PSII (MAXWELL & JOHNSON, 2000).

3. METODOLOGIA

3.1. Local do experimento e material vegetal

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação e as análises bioquímicas foram realizadas no laboratório 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. Foram utilizadas quatro variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) escolhidas com base nas informações obtidas junto ao programa de melhoramento genético da cultura (PMGCA/CECA/UFAL). Visando o estudo de variedades tolerantes e suscetíveis ao estresse hídrico, escolheu-se as variedades RB92579 e SP79-1011 e as variedades RB98710 e RB72454, como pertencentes ao grupo das tolerantes e suscetíveis, respectivamente. Ademais, tais variedades foram assim escolhidas, sobretudo devido a sua grande utilização no Estado de Alagoas.

3.2. Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi disposto em delineamento inteiramente ao acaso com arranjo fatorial, 4 (variedades) x 3 (níveis de estresse), com 5 repetições. Para análise de solutos orgânicos, pigmentos fotossintéticos, potencial hídrico, número de perfilhos, trocas gasosas, eficiência do uso da água da produtividade e fluorescência da clorofila *a* foram utilizadas quatro repetições, enquanto que para matéria seca em todas as partes da planta e demais variáveis de crescimento foram utilizadas as cinco repetições. No entanto, todos os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste Tukey, com $P \leq 0,05$.

3.3. Instalação do experimento e plantio

Os vasos, inicialmente de cor preta, foram lavados e posteriormente pintados com a cor alumínio fosco, de forma a minimizar o estresse térmico nas plantas ocasionado pelo aquecimento dos vasos em função da maior absorção da radiação (BELTRÃO et al., 2002).

Para garantir o estabelecimento e a homogeneidade das plântulas, os rebolos com uma única gema de cana-de-açúcar foram plantados (07/08/2007), previamente, em um canteiro, localizado em um galpão coberto na parte exterior à casa-de-vegetação. Em 24/08/2007, portanto aos dezessete dias após o plantio (DAP), as plantas foram transferidas para os vasos plásticos, cada qual contendo 15 kg de solo destorroado, peneirado e homogeneizado.

3.4. Condições ambientais e tratamentos aplicados

Durante o período experimental, as condições ambientais no interior da casa-de-vegetação, representadas pela temperatura média e umidade relativa média do ar, medidas diariamente com um termohigrógrafo, foram $29,2 \pm 2,9$ °C e $63,4 \pm 5,6\%$, respectivamente.

Após o estabelecimento (17 DAP), duas plântulas foram transferidas para cada vaso plástico, que foram pesados diariamente, mantendo-se a umidade do solo próximo a capacidade de campo até a aplicação dos tratamentos que ocorreu aos 70 DAP. A partir de então, os mesmos foram pesados em balança digital de capacidade máxima de 30 kg, tendo a massa corrigida de acordo com a disponibilidade de água do solo, previamente estabelecida com base na análise gravimétrica, a qual foi realizada no laboratório de ciências do solo da Universidade Federal de Alagoas. Através da curva de retenção de umidade do solo, obteve-se o ponto de murcha permanente (-1,5 MPa) e a capacidade de campo (-0,03 MPa), sendo os mesmos de 10,5 e 18% da massa seca do solo, respectivamente. Assim, os tratamentos foram denominados da seguinte forma: Controle (80 a 100% da capacidade de campo), estresse moderado (40 a 60% da capacidade de campo) e estresse severo (0 a 20% da capacidade de campo).

3.5. Coleta do experimento

Aos 141 dias após o plantio, portanto aos 71 dias após início do estresse hídrico (DAE), foi realizada a coleta final do experimento, contando o número de perfilhos (sendo considerado como perfilho todo broto formado a partir do rebolo plantado, com exceção do

colmo principal) e coletando-se as plantas, separando-as em folhas, colmos + bainhas e raízes. A folha +2 da planta principal foi utilizada para determinar a área foliar (conforme descrito no item 3.6.1), o potencial hídrico foliar de base (Ψ_w) (conforme item 3.6.4) e as determinações de pigmentos fotossintéticos (conforme item 3.6.5), enquanto a folha +1 da planta principal foi coletada para determinação de solutos orgânicos (conforme item 3.7). Os demais limbos foliares foram coletados para quantificação da matéria seca total da planta. A identificação das folhas foi realizada com base na inserção das mesmas no colmo e que se encontravam diferenciadas, isto é, com a lígula, “*dewlap*” ou primeiro colarinho definido, como pode ser visto na Figura 1.

O material coletado para determinação de solutos orgânicos foi congelado em nitrogênio líquido e em seguida colocado em congelador. A coleta ocorreu nas primeiras horas da manhã. Posteriormente, o material foi liofilizado e macerado para determinação das análises bioquímicas (conforme item 3.7).

Os colmos foram medidos e seccionados para rápida secagem e as raízes peneiradas e lavadas com água potável.

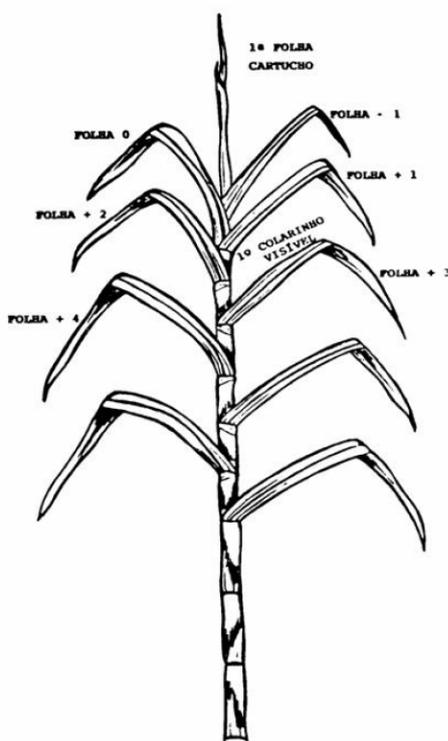


Figura 1 - Numeração de folhas em cana-de-açúcar no sistema estabelecido por Kuijper. Retirado de Rodrigues (1995).

Após o procedimento da coleta, o material coletado foi levado à estufa com sistema de circulação de ar quente forçado, à temperatura de 65°C até atingir peso constante, que ocorreu após 72 horas, no caso das folhas e raízes, e cerca de 96 horas no caso dos colmos + bainhas. Depois da secagem em estufa, foram obtidas a matéria seca das raízes, folhas e colmos + bainhas com o auxílio de balança analítica de precisão.

3.6. Análises fisiológicas

3.6.1. Análise de crescimento e área foliar

Durante o período de cultivo, foram realizadas medições semanais de comprimento do limbo foliar de todas as folhas da planta principal, sendo as mesmas numeradas de acordo com a ordem de aparecimento no cartucho foliar (Figura 1). As medições foram realizadas com auxílio de régua e trena métrica, sendo o comprimento das folhas medido da base da lígula até o ápice da folha. De posse desses dados, foi possível determinar o comprimento final de cada folha, bem como o número total de folhas emitidas por planta.

Na coleta final do experimento, foi contado o número de folhas verdes (fotossinteticamente ativas), além de medir o comprimento e largura da folha +2 da planta principal para determinação da área foliar conforme (HERMANN & CAMARA, 1999). A fórmula utilizada para determinação da área foliar foi a seguinte:

$$AF = \frac{(C \times L \times NFV \times 0,75)}{100}$$

onde:

AF = área foliar em dm²;

C = comprimento do limbo foliar em cm;

L = largura do terço médio do limbo foliar em cm;

NFV = número de limbos foliares que apresentavam 75% de área foliar verde; e

0,75 = fator de correção para gramíneas.

Também foi medido o comprimento (altura) e o diâmetro basal do colmo da planta principal com auxílio de régua e paquímetro.

3.6.2. Trocas gasosas e EUA_p

As medições das trocas gasosas começaram aos 70 DAP, dia em que se deu início aos tratamentos. A segunda medição ocorreu com dezesseis dias após a submissão do estresse hídrico nas plantas. A partir de então, as medições passaram a ser realizadas periodicamente a cada sete dias (com exceção das leituras realizadas nos 51 e 66 DAE), sempre na porção mediana da folha +2 (segunda folha mais jovem completamente expandida) da mesma planta, até o dia anterior da coleta final do experimento (141 DAP), obtendo-se os valores de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), e transpiração (E), utilizando-se um analisador de gás a infravermelho IRGA (ADC, modelo LCI, Hoddesdon, UK), com fluxo de ar de $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e fonte de luz acoplada de $995 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

As medições ocorreram sempre entre 8 e 11 horas da manhã. Concomitantemente às leituras de trocas gasosas foram medidas umidade relativa e temperatura do ar do ambiente (Figura 2) com auxílio de um termohigrógrafo digital. De posse dos dados obtidos de trocas gasosas (g_s , A e E), foi calculado o percentual de redução, entre a primeira (0 DAE, quando as plantas estavam sob as mesmas condições hídricas) e a última leitura (71 DAE, dia anterior ao da coleta final do experimento).

A eficiência no uso da água da produtividade (EUA_p) foi calculada conforme Larcher (2004), a partir da seguinte equação:

$$EUA_p = \frac{MS_{planta}}{\text{Consumo de água}}$$

onde:

EUA_p = eficiência no uso da água da produtividade ($\text{g MS} \cdot \text{kg}^{-1} \text{H}_2\text{O}$);

MS_{planta} = total de matéria seca acumulada pela planta (g); e

Consumo de água = água evapotranspirada ao longo do cultivo (kg).

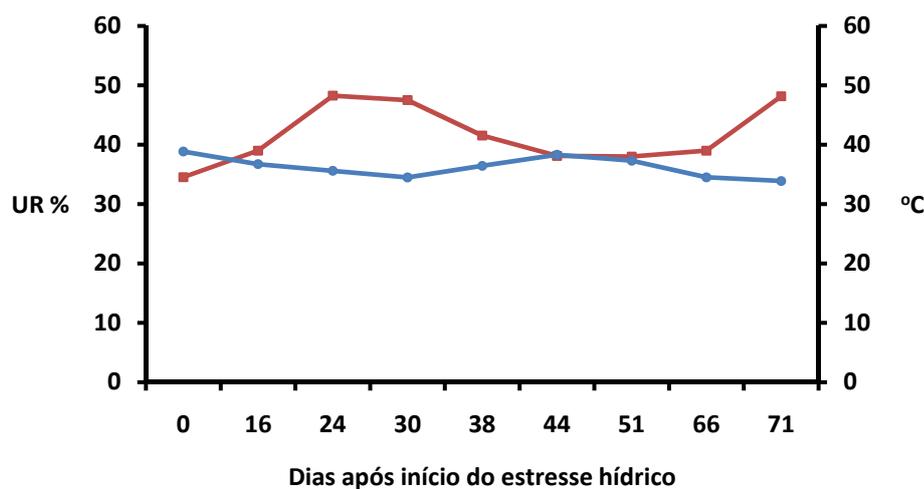


Figura 2 - Temperatura (—●—) e umidade relativa do ar (—■—) da casa-de-vegetação durante as medições de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila *a* em quatro variedades de cana-de-açúcar sob estresse hídrico.

3.6.3. Fluorescência da clorofila *a*

A emissão de fluorescência da clorofila *a* foi quantificada com a utilização de fluorômetro portátil de luz modulada (Opti-Sciences, modelo OS1-FL, Hudson, USA), a partir do qual foram obtidas a fluorescência inicial (F_0), a fluorescência máxima (F_m), a fluorescência variável (F_v) e o rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m), obtidas após adaptação das folhas ao escuro (≈ 20 minutos) com auxílio de presilhas plásticas. As medições ocorreram nas mesmas épocas daquelas de trocas gasosas, porém, em horário distinto, sempre entre 11 e 13 horas. Tal horário foi escolhido pelo fato de ser o mais crítico na região no tocante à temperatura e incidência da radiação solar, no qual ocorre, provavelmente, maior dano ao aparato fotossintético, refletindo, portanto, o status instantâneo do PSII. Foram realizadas duas leituras em cada planta, sempre na porção mediana da folha +2. As medições prosseguiram semanalmente até o dia anterior ao da coleta final do experimento (141 DAP).

Com os dados obtidos de fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m), foi calculado o percentual de redução, entre a primeira (0 DAE, quando as plantas estavam sob as mesmas condições hídricas) e a última leitura (71 DAE, dia anterior ao da coleta final do experimento).

3.6.4. Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi medido com uma bomba de pressão (Soil Moisture, Equipament Corporation, Santa Bárbara, USA) ao final do experimento em duas etapas: entre as 5 e 6 horas da manhã (potencial hídrico de base) e às 12h (potencial hídrico do meio-dia), ambos na folha +2 de plantas distintas (planta principal e planta secundária), que se encontravam em perfeito estado e no máximo de atividade fotossintética. As folhas foram cortadas na lígula e colocadas em sacos plásticos numerados, de acordo com a variedade e, em seguida, postas em caixa térmica com gelo para minimizar a perda de umidade, sendo levadas para laboratório, onde foram efetuadas as leituras.

3.6.5. Teores de pigmentos fotossintéticos

No dia da coleta, as folhas +2 da planta principal foram utilizadas para leitura do teor de clorofila com o clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, USA), sendo as médias obtidas de oito leituras em cada planta. A mesma folha foi utilizada para determinação dos teores de clorofilas (*a*, *b* e *total*) e de carotenóides através do método de extração com acetona (HENDRY & GRIME, 1993). Para tanto, amostras de 50mg de tecido foliar fresco, retirados da parte mediana da folha +2, foram picotadas e homogeneizadas em tubos de ensaio com tampa rosqueável, contendo 10 mL de acetona a 80% (v/v) e protegidos da luz com papel alumínio. Para extração, os tubos permaneceram em refrigerador a 4°C por 72h, sendo em seguida submetidos a agitação constante por 20 segundos. Após este período, foram determinadas as absorvâncias em espectrofotômetro a 480, 645 e 663 nm. Os teores de pigmentos fotossintéticos foram calculados pelas seguintes fórmulas:

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

$$\text{Clorofila } b = \frac{(22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times V}{MF} \quad (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MF})$$

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

$$\text{Carotenóides} = \frac{(A_{480} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V \times 10^3}{112,5 \times MF} \quad (\mu\text{mol. g}^{-1} \text{MF})$$

onde:

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

V = volume de acetona a 80% usado na extração; e

MF = peso da matéria fresca da qual foi extraída a clorofila.

3.7. Análises bioquímicas

3.7.1. Determinação de solutos orgânicos

Para determinação dos solutos orgânicos (prolina livre, carboidratos solúveis, N- α -aminossolúveis e proteínas solúveis por ligação ao corante), foi realizada a coleta das folhas +1 de cada planta. Foram utilizadas luvas cirúrgicas e tesoura devidamente esterilizada. As folhas foram cortadas sem a nervura central e colocadas em papel alumínio, devidamente identificados, para em seguida ser congelada em nitrogênio líquido e armazenada em congelador. Posteriormente o material vegetal foi liofilizado, para em seguida proceder-se as análises bioquímicas, conforme descritas abaixo.

3.7.1.1. Prolina livre

O extrato para determinação de prolina livre foi obtido pela adição de 8 mL de ácido sulfossalicílico a 3% em 100 mg de pó liofilizado das folhas, sendo a mistura deixada em repouso, com agitações periódicas (a cada 15 minutos), por uma hora à temperatura ambiente (25 °C). Após este período, o homogenato foi centrifugado a 3.000 x g por 5 min, à temperatura ambiente, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante (extrato) usado para a determinação de prolina livre pelo método descrito por Bates et al. (1973), através da reação com a solução de ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina, em 30 mL de ácido acético glacial, e 20 mL de ácido fosfórico 6 M).

Para a reação, foram usados tubos de ensaios com tampas rosqueadas, nos quais foram adicionados 2 mL de cada extrato, 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial, deixando-se a mistura em banho-maria (100°C) por 1 h para desenvolvimento da cor.

Em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 min para cessar a reação.

A extração do cromóforo foi feita pela adição de 2 mL de tolueno à mistura de reação, seguida de agitação vigorosa por 20 segundos. Após repouso e formação da mistura bifásica, a fase superior foi retirada com pipeta de Pasteur, para quantificação dos níveis de prolina livre, através de medidas da absorbância em 520 nm, sendo o tolueno utilizado como branco. Utilizou-se como padrão a prolina pura e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS. Cada repetição (amostra) foi representada por um extrato simples dosado em duplicata.

3.7.1.2. Carboidratos solúveis

Os carboidratos solúveis foram determinados a partir de amostras de 2 mg do tecido foliar liofilizado extraídos com 4 mL de água destilada. A mistura permaneceu em repouso durante uma hora, sendo submetidas a agitações periódicas (a cada 15 minutos), e posterior centrifugação a $3.000 \times g$ por 5 min, à temperatura ambiente. O precipitado foi descartado e o sobrenadante (extrato) usado para determinação dos carboidratos solúveis pelo método descrito por Dubois et al. (1956).

Em tubos de ensaios contendo 1 mL do extrato, foram adicionados 1 mL de fenol a 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A solução, então, sofreu vigorosa agitação, seguida de 20 min de repouso para o resfriamento da mesma. Os carboidratos solúveis foram quantificados pelas leituras da absorbância em 490 nm, sendo usado como branco a mistura de 1 mL de água destilada, 1 mL de fenol a 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Utilizou-se como padrão a D(+) glicose anidra e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS. Cada repetição (amostra) foi representada por um extrato simples dosado em duplicata.

3.7.1.3. N- α -aminossolúveis e proteínas solúveis

Para determinação dos teores de N- α -aminossolúveis e proteínas solúveis, amostras de 2 e 4 mg, respectivamente, do tecido foliar liofilizado foram homogeneizadas, em banho de gelo, com 2 mL de tampão Na-K-fosfato 0,01 M, pH 7,6, contendo NaCl 0,1 M, e mantidas durante uma hora à temperatura de 4°C, com agitações periódicas (a cada 15 minutos). Decorrido este período, os homogenatos foram centrifugados a $3.000 \times g$ por 5 min, à temperatura de 2°C, sendo os precipitados descartados e os sobrenadantes usados para as determinações dos osmorreguladores citados anteriormente.

Para determinação do N- α -aminossolúvel, tomou-se uma fração de 0,5 mL do sobrenadante de cada amostra, separadamente, e adicionou-se uma alíquota de 0,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e, após 1 h de repouso, as amostras foram centrifugadas a 12.000 x g por 5 min, à temperatura de 4°C, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante (extrato) usado para determinação de N- α -aminossolúvel. Em tubos de ensaio com tampa rosqueada, foram adicionados 0,5 mL do extrato; 0,5 mL do tampão de extração; 0,5 mL de tampão citrato de sódio a 0,2 M e pH 5; 0,2 mL de ninhidrina a 5%, em metilcelosolve a 100%; e 1 mL de KCN a 0,2 mM em metilcelosolve a 100%. Em seguida, os tubos foram deixados em banho-maria a 100°C, por 20 min.

Após resfriamento dos tubos em banho de gelo, por aproximadamente 10 min, foram adicionados aos mesmos 1,3 mL de etanol a 60% para fixar a cor desenvolvida (violeta). Os teores de N- α -aminossolúveis foram determinados pelas leituras de absorbância em 570 nm, e como branco utilizou-se a mistura de 1 mL do tampão de extração (Na-K-fosfato 0,01 M, pH 7,6, contendo NaCl 0,1 M) com 1,7 mL do reagente da ninhidrina (COCKING & YEMM, 1954). Como padrão foi utilizado a glicina e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS. Cada repetição (amostra) foi representada por um extrato simples dosado em duplicata.

Para determinação dos teores de proteínas solúveis foi usada uma fração de 0,1 mL do sobrenadante descrito anteriormente, não tratado com ácido tricloroacético a 10%, na qual se adicionou 1 mL do reagente coomassie blue (BRADFORD, 1976). Este reagente 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 completado para 1000 mL com água destilada.

As proteínas solúveis foram, então, determinadas pelas medidas de absorbância em 595 nm, utilizando-se como branco a mistura de 0,1 mL do tampão de extração (Na-K-fosfato 0,01 M, pH 7,6, contendo NaCl a 0,1 M) e 1 mL do reagente do coomassie. Como padrão foi utilizado a albumina sérica bovina (BSA, Sigma Chemical Company) e os resultados foram expressos em mg g^{-1} MS. Cada repetição (amostra) foi representada por um extrato simples dosado em duplicata.

4. RESULTADOS

4.1. Potencial hídrico foliar

De maneira geral, em função da deficiência hídrica severa, verificou-se redução superior a 40% no potencial hídrico foliar nos dois horários de leitura (Figuras 3A e 3B).

As respostas apresentadas pelas plantas submetidas tanto ao controle às 6h (-0,10 MPa) e 12h (-0,34 MPa) como ao estresse severo nos mesmos horários (-0,19 MPa e -0,59 MPa, respectivamente) foram semelhantes àquelas encontradas por Inman-Bamber & Smith (2005), em plantas irrigadas de cana-de-açúcar, as quais apresentaram valores de -0,05 MPa (6:30h) e -1,0 MPa (12h) e de -0,2 MPa (6:30h) e -1,5 MPa (12h) em plantas sem irrigação. Nesse sentido Bergonci et al. (2000), encontraram reduções superiores a 50% no potencial hídrico de folhas de milho cultivadas em casa-de-vegetação sob estresse hídrico, enquanto Cruz (2006), também em milho, encontrou reduções superiores a 70% em dois genótipos à medida que o conteúdo de água na folha foi reduzido de valores superiores a 90% para 35%. Assim, à medida que o solo perde umidade, soma-se à diminuição na disponibilidade hídrica, redução na absorção de água, devido à maior resistência ao fluxo, tanto por parte do solo quanto por parte da raiz (STEUDLE & PETERSON, 1998).

As respostas das variedades no potencial hídrico foliar ocorreram de forma distinta, quanto ao estresse severo imposto, onde a RB72454 apresentou maior valor (-0,12 MPa), enquanto a RB92579 apresentou o menor valor de potencial hídrico foliar (-0,21 MPa) às 6h (Figura 3A), demonstrando que esta variável pode ser uma característica inerente a cada genótipo. Nesse sentido, Smit & Singels (2006), encontraram correlação positiva entre o potencial hídrico da folha e o conteúdo de água disponível no solo em duas variedades de cana-de-açúcar em condições de campo, as quais atingiram potenciais de água próximos a -2,0 MPa, quando havia cerca de 20% de água disponível no solo. Entretanto, as medições desses autores foram realizadas ao meio-dia, justificando os menores valores observados.

Analisando os tratamentos dentro de cada variedade, verificou-se que o potencial hídrico foliar da antemãhã (6h) (Figura 3A) não sofreu alteração significativa na RB72454

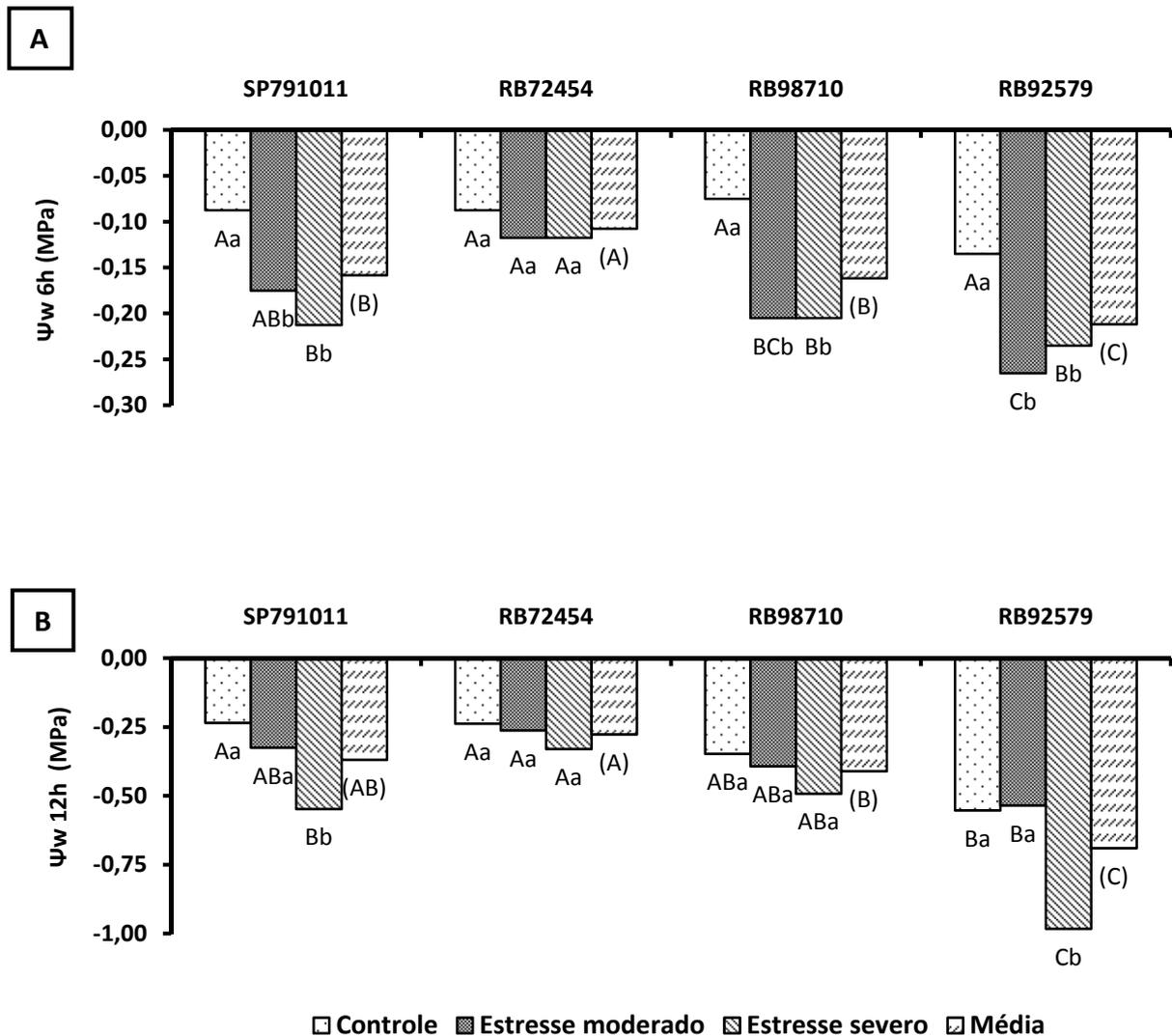


Figura 3 - Potencial hídrico foliar da antemã (A) e ao meio dia (B) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio. Médias seguidas de letras iguais, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas) e entre variedades (letras maiúsculas entre parênteses), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

mesmo sob condições de estresse severo, mostrando que essa variedade tem maior habilidade em manter o potencial hídrico foliar elevado. Em contrapartida, o potencial hídrico foliar foi reduzido nas demais variedades, sendo a RB98710 àquela que apresentou maior percentual de redução (61,9%).

Ao analisar o comportamento das variedades ao meio-dia (Figura 3B), observou-se que além da RB72454, a RB98710 não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, podendo indicar que este seja um mecanismo de tolerância à seca. Assim, pode ter ocorrido redução no potencial osmótico e, conseqüentemente, aumento da absorção de água mesmo sob estresse, enquanto as variedades SP79-1011 e RB92579 apresentaram reduções de Ψ_w ao meio-dia de 56,4 e 43,9%, respectivamente (Figura 3B).

Outro aspecto a ser abordado com detalhe, é o comportamento diferenciado da variedade RB92579, a qual sob condições de estresse severo apresentou valores de potencial hídrico foliar ao meio-dia de -0,98 MPa, sendo esse, talvez, um dos mecanismos apresentado pela planta para tolerar a deficiência hídrica do solo, pois as mesmas conseguem manter um gradiente de Ψ_w mais elevado entre o solo e a planta, proporcionando maior capacidade de absorção de água pelo sistema radicular (Figura 3B).

Siddique et al. (2000) também encontraram reduções significativas (68,5%) no potencial hídrico foliar em quatro variedades de trigo em resposta ao déficit hídrico do solo, atribuindo a uma possível mudança na pressão osmótica, que é um dos componentes de potencial hídrico. Ennahli & Earl (2005) encontraram reduções superiores a 60% no potencial hídrico em folhas de algodão entre os tratamentos de 75 e 5% de água disponível no solo. Nesse sentido, Bergonci et al. (2000) observaram que o potencial da água na folha de milho foi sensivelmente menor do que em plantas irrigadas, mostrando que pode ser indicador de déficit hídrico.

4.2. Efeito do déficit hídrico nas trocas gasosas e na EUA_p das plantas

De maneira geral, verificou-se redução nas variáveis de trocas gasosas [condutância estomática (g_s), transpiração (E) e fotossíntese (A)], assim como na eficiência do uso da água na produtividade (EUA_p) ao longo do período experimental (Figuras 4, 5 e 6; Tabela 1), bem como entre as medições realizadas no início do estresse hídrico (0 DAE) e no dia anterior ao da coleta, aos 71 DAE (Tabela 1). Porém, as reduções mais acentuadas ocorreram nas plantas submetidas ao tratamento de estresse hídrico severo (Tabela 1). Na mesma tabela observou-se, ainda, que as plantas submetidas ao tratamento controle, ou seja, sem restrição hídrica,

apresentaram decréscimo nos valores das variáveis de trocas gasosas, indicando uma possível limitação do tamanho do vaso, tendo em vista que na fase final do experimento as plantas encontravam-se mais desenvolvidas vegetativamente, fazendo com que as mesmas exaurissem água do solo mais rapidamente, proporcionando, talvez, a ocorrência de certa limitação hídrica em algumas horas do dia, apesar de as mesmas terem sido pesadas diariamente para correção da umidade perdida através da evapotranspiração.

Ao analisar o efeito do déficit hídrico dentro das variedades, verificou-se que com a restrição da água disponível no solo, ocorreu redução na condutância estomática em todas as variedades, porém a variedade RB72454 foi a única que apresentou reduções significativas entre os tratamentos, sobretudo entre o controle e o estresse severo (Tabela 1). Esses resultados mostram que, sob estresse severo, uma das primeiras respostas da RB72454 pode ser o fechamento estomático, de forma a minimizar a perda de água (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Por outro lado, as plantas das variedades SP79-1011, RB98710 e RB92579 apresentaram reduções significativas na condutância estomática, entre o início e o final do experimento, mostrando que mesmo as plantas do tratamento controle sofreram restrição hídrica ao final do experimento e estas variedades responderam prontamente com redução da condutância estomática e transpiração (Tabela 1).

Os resultados apresentados acima corroboram com Ennahli & Earl (2005) que encontraram em algodão, reduções na g_s superiores a 90% entre os níveis de 75 e 5% de disponibilidade hídrica do solo. Em adição, Smit & Singels (2006) observaram reduções na condutância estomática em duas variedades de cana-de-açúcar, afirmando que tal variável apresenta maior sensibilidade do que o potencial hídrico à medida que o solo torna-se mais seco. Por outro lado, Bergonci & Pereira (2002) apesar de também encontrarem redução na condutância estomática em milho, afirmam que o potencial hídrico foliar diminui mais rapidamente frente à fração de água disponível no solo para as plantas.

Outro aspecto que vale ser ressaltado é que sob condições controle, as variedades RB72454 e RB92579 apresentaram menores reduções percentuais nas taxas de abertura dos estômatos (25,96 e 38,41%, respectivamente), enquanto as variedades SP79-1011 e RB98710 apresentaram reduções mais elevadas na condutância estomática (64,76 e 64,75%, respectivamente) (Tabela 1). Tal comportamento das variedades também é verificado na Figura 4, que mostra a condutância estomática em função dos dias após o início do estresse hídrico. Na mesma figura, observou-se que apesar de ocorrer tendência de redução na g_s ao

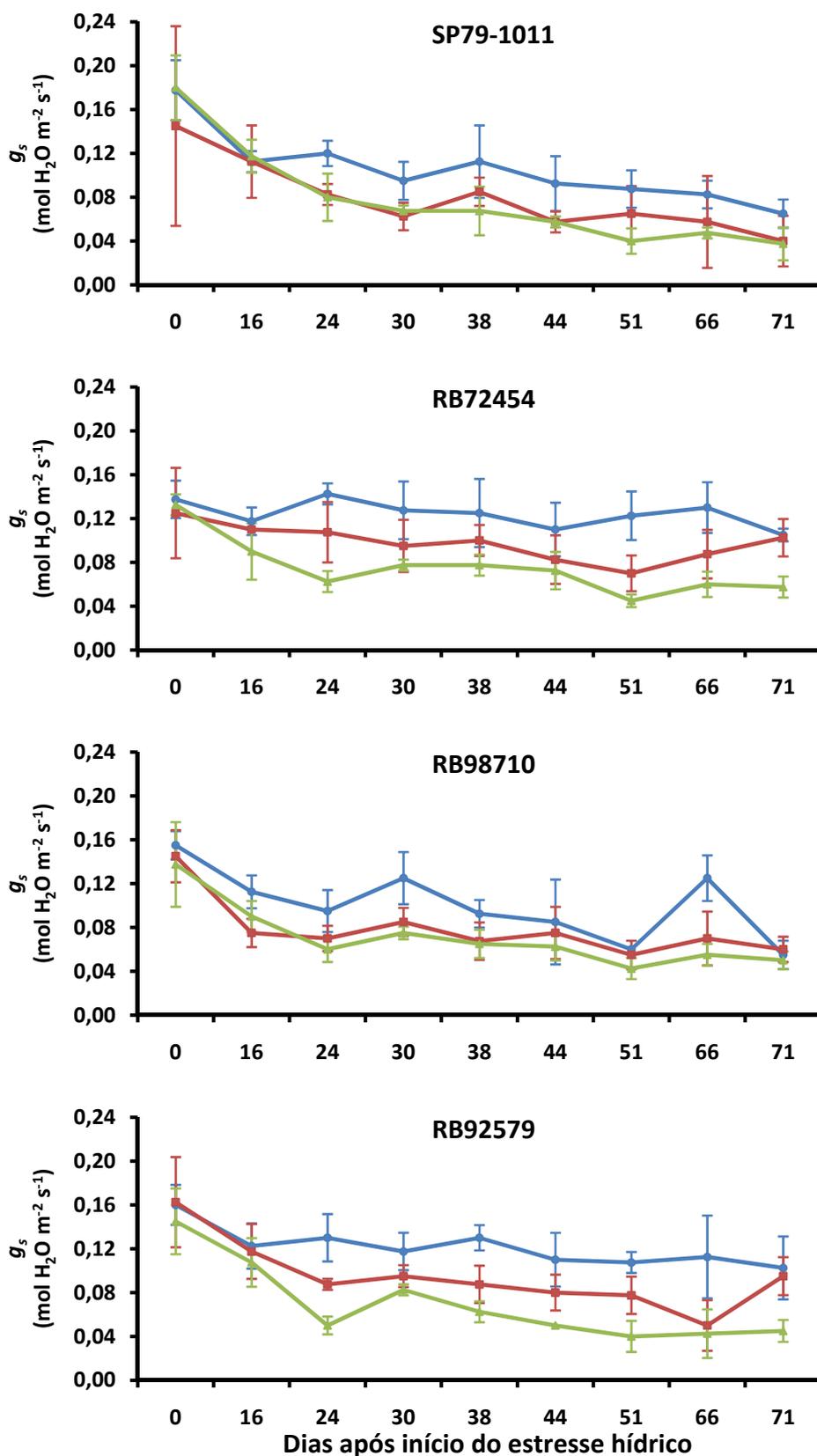


Figura 4 - Condutância estomática (g_s) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (—●—), estresse moderado (—■—) e estresse severo (—▲—), cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro observações.

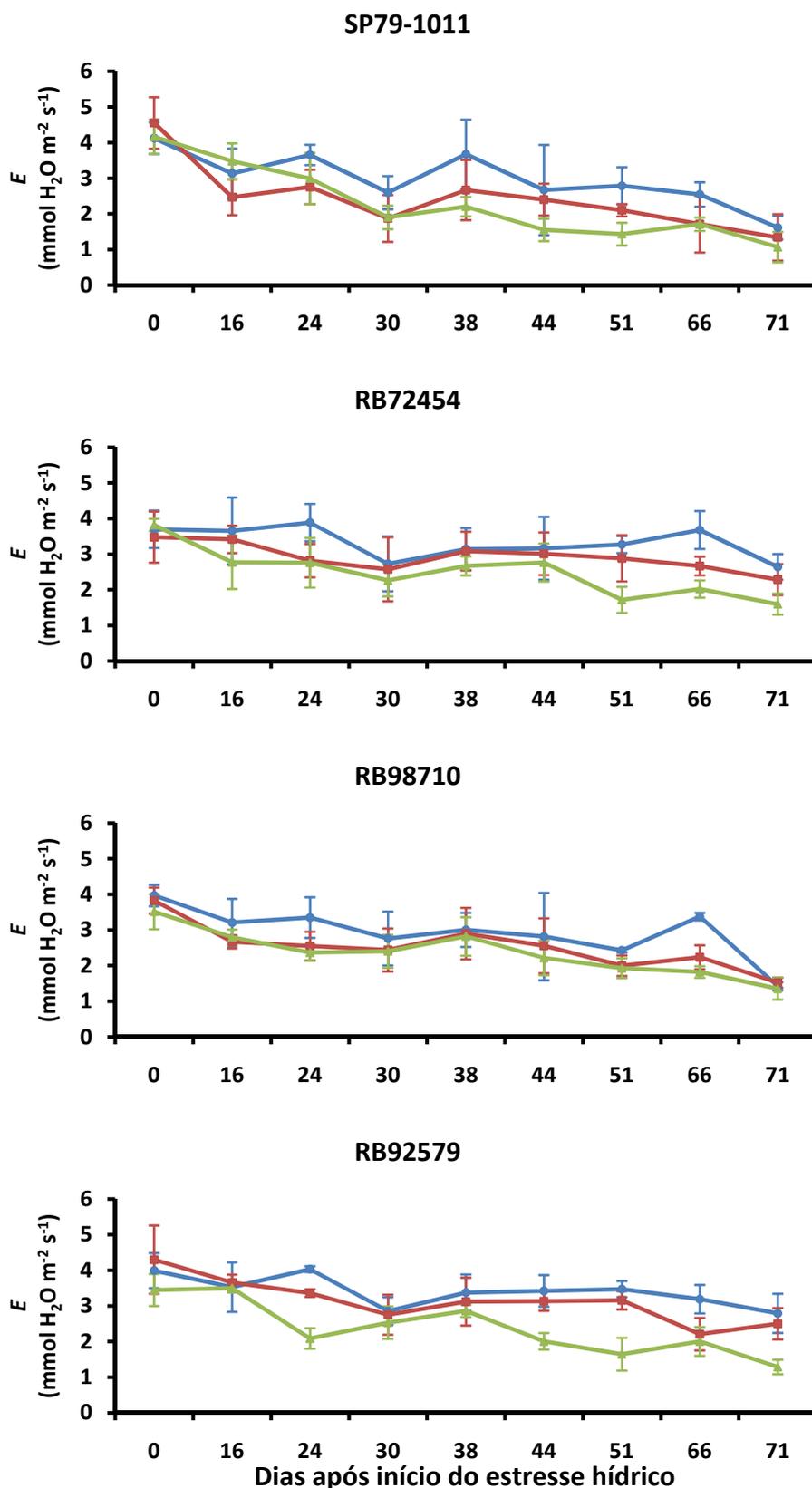


Figura 5 - Transpiração foliar (E) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (—●—), estresse moderado (—■—) e estresse severo (—▲—), cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro observações.

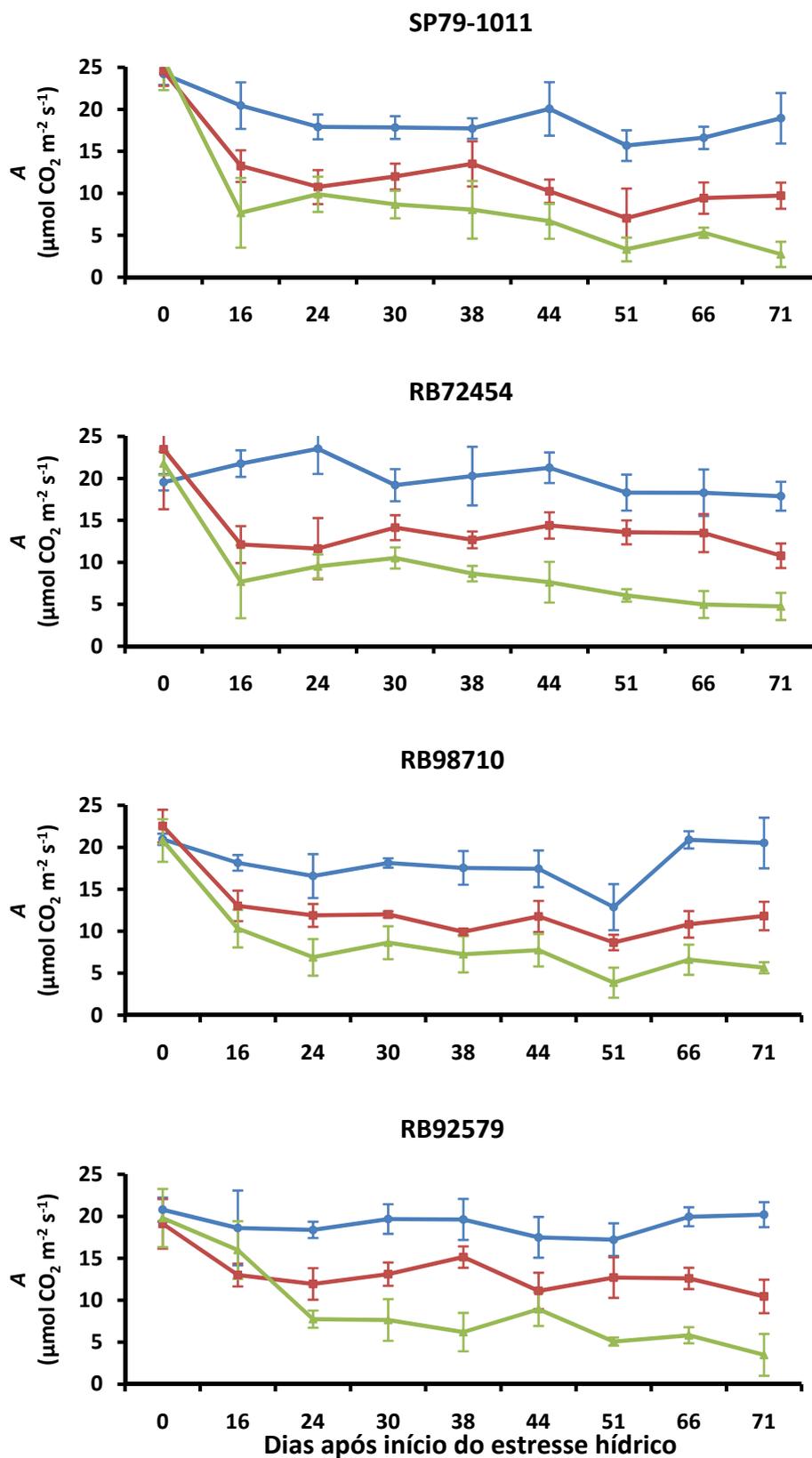


Figura 6 - Fotossíntese líquida (A) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (—●—), estresse moderado (—■—) e estresse severo (—▲—), cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro observações.

Tabela 1 - Redução nas variáveis de trocas gasosas [condutância estomática (g_s), transpiração foliar (E) e fotossíntese líquida (A)] entre 0 e 71 dias após a aplicação do estresse e eficiência no uso da água da produtividade (EUA_p) em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.

TROCAS GASOSAS					
Variedades	Trat.*	g_s^{**} Redução(%)	E^{**} Redução(%)	A^{**} Redução/Aumento (%)	EUA_p g MS/kg H ₂ O
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO					
SP79-1011	C	64,76 Aa	49,29 ABb	20,79 Ac	4,77 Aa
	EM	65,82 Aa	58,57 Aab	56,36 Ab	3,56 Ab
	ES	74,59 Aa	71,59 Aa	88,83 Aa	2,68 Ac
RB72454	C	25,96 Bb	34,33 Bb	+ 0,78 Ab	4,57 Aa
	EM	35,25 Ab	52,20 Aab	48,45 Aa	3,63 Ab
	ES	69,52 Aa	58,58 Aa	71,84 Aa	2,73 Ac
RB98710	C	64,75 Aa	64,16 Aa	18,20 Ac	4,72 Aa
	EM	53,33 Aa	59,78 Aa	43,83 Ab	3,80 Ab
	ES	68,37 Aa	68,57 Aa	70,52 Aa	2,68 Ac
RB92579	C	38,41 ABa	44,33 ABb	13,28 Ac	4,64 Aa
	EM	53,02 Aa	57,50 Aab	49,48 Ab	3,47 Ab
	ES	60,09 Aa	69,04 Aa	81,17 Aa	2,95 Ac
TRATAMENTOS					
	C	48,47 b	48,03 b	12,87 c	4,68 a
	EM	51,85 b	57,01 b	49,53 b	3,62 b
	ES	68,14 a	66,94 a	78,34 a	2,76 c
	CV (%)	32,01	19,19	29,11	5,77

*Tratamentos: C = controle; EM = estresse moderado; ES = estresse severo.

**Redução ou aumento (%) entre a primeira (imposição dos tratamentos) e a última leitura aos 71 dias.

***Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

longo do tempo, não houve, de maneira geral, diferença entre as variedades quanto à resposta aos tratamentos aplicados.

Ao analisar as reduções na transpiração foliar de forma isolada, verificou-se na Tabela 1 que as variedades apresentaram respostas diferenciadas. A variedade RB98710 não foi influenciada pelos tratamentos aplicados no tocante à transpiração foliar, semelhante ao que ocorreu com a condutância estomática. Por outro lado, as variedades SP79-1011, RB72454 e RB92579 apresentaram reduções mais pronunciadas, sobretudo quando submetidas ao estresse hídrico severo. Reduções significativas na transpiração foliar também foram observadas em genótipos de milho (CRUZ, 2006), assim como em variedades de cana-de-açúcar (ARIAS et al., 1996) submetidas à deficiência hídrica.

Nable et al. (1999), também encontraram reduções nas taxas transpiratórias em sorgo e cana-de-açúcar, sendo que nesta última, foram mais severas à medida que a fração de água disponível no solo decrescia. Bergonci & Pereira (2002), observaram que a transpiração relativa em plantas de milho diminui com a restrição hídrica do solo, tornando-se praticamente nula com 20% de água disponível no solo. ARIAS et al. (1996) relataram ainda, que a resposta da intensidade transpiratória em cana-de-açúcar foi diretamente relacionada com a disponibilidade hídrica, sobretudo, à partir dos três meses de plantio, havendo porém, redução na transpiração, por unidade de superfície, de acordo com a idade da planta. Essas reduções podem sofrer influência de outros fatores, tais como a reduzida área foliar em decorrência do estresse hídrico e a camada limítrofe que envolve as folhas.

A tendência de redução nas taxas transpiratórias, em todas as variedades, coincidiu com as reduções observadas na condutância estomática ao longo do período experimental, não havendo, porém, diferença entre as variedades (Figuras 4 e 5). Esta relação direta entre transpiração e condutância estomática é esperada, tendo em vista que à medida que os estômatos se fecham, diminui o fluxo de vapor d'água da planta para a atmosfera, e conseqüentemente a transpiração.

Mesmo sem limitação hídrica, verificou-se que a transpiração apresentou suave redução ao longo do período experimental (Figura 5), sendo a variedade RB72454 àquela que apresentou o menor percentual de redução (34,33%), assim como ocorreu quanto à condutância estomática na mesma variedade (Tabela 1). Isto pode acontecer, pois nos primeiros estádios de desenvolvimento, as plantas são menores e apresentam número reduzido de folhas, havendo mais radiação incidente, elevando, por conseguinte, a temperatura, impulsionando a maiores taxas transpiratórias como forma de resfriamento foliar e/ou pelo fato de que ao final do experimento as plantas do tratamento controle poderiam ter sido

submetidas a déficit hídrico, mesmo que temporário, devido ao seu maior tamanho, como já discutido anteriormente.

Na Tabela 1 verificou-se redução da taxa de fotossíntese líquida, entre as épocas de avaliação, em função dos dias de exposição ao estresse hídrico. Nas plantas submetidas ao tratamento controle houve redução de 12,87%, enquanto nos tratamentos de estresse moderado e estresse severo as reduções foram de 49,53 e 78,34%, respectivamente. Isto demonstra que a taxa de assimilação líquida de CO₂ foi fortemente afetada pela deficiência hídrica.

De maneira geral, pode ser verificado que a taxa fotossintética apresentou redução significativa em todas as variedades submetidas ao estresse hídrico (Figura 6), porém, nas variedades SP79-1011 e RB92579 essas reduções foram superiores a 80%, enquanto nas variedades RB72454 e RB98710 a fotossíntese foi reduzida em cerca de 70% com a imposição do estresse severo (Tabela 1). Na Figura 6 pode ser visualizada uma redução suave na taxa fotossintética das plantas sob controle, enquanto nos demais tratamentos observou-se redução mais acentuada, sobretudo no estresse hídrico severo, onde as taxas de assimilação líquida de CO₂ atingiram valores inferiores a 5 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹.

Na Figura 5 observou-se ainda que, em todas as variedades submetidas aos estresses, houve declínio acentuado na fotossíntese líquida desde o início da aplicação do estresse. Porém, sob condições de estresse moderado as variedades apresentaram tendência em manter a *A* constante, enquanto sob estresse hídrico severo essas reduções foram mais drásticas.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os observados por Ghannoum et al. (2003) que encontraram reduções progressivas e substanciais na fotossíntese em quatro gramíneas de metabolismo C₄ submetidas à deficiência hídrica. Os autores mostraram ainda que a taxa fotossintética pode ser mantida em níveis menores de disponibilidade hídrica (próximo a 25% AD) e que essa taxa pode não ser detectada em níveis mais elevados (60% AD), indicando que as respostas da fotossíntese são dependentes da espécie. Esse declínio da atividade fotossintética, em decorrência do déficit hídrico, ocorre paralelamente à diminuição do volume celular e, portanto, conjuntamente com a redução na turgescência (LARCHER, 2004).

Sob condições controle, ou seja, quando não houve limitação hídrica, verificou-se que a fotossíntese líquida permaneceu entre 19 e 24 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ (Figura 6), valores semelhantes aos encontrados em milho, por Cruz (2006), sob mesma disponibilidade hídrica do solo. Esses valores foram inferiores aos relatados por Larcher (2004), baseado em uma compilação de resultados de diversos autores, em que a fotossíntese líquida em gramíneas C₄

varia de 30 a 60 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, chegando em casos extremos a 80 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, desde que as plantas sejam cultivadas em condições favoráveis, tais como radiação suficiente para saturação do processo fotossintético, temperatura ótima e bom suprimento hídrico. Neste trabalho, um dos fatores que pode ter resultado em taxas fotossintéticas relativamente baixas, como observado, pode ter sido a utilização da fonte de luz de 995 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valor inferior aos 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ relatado como o valor a partir do qual ocorre a saturação lumínica para algumas gramíneas de metabolismo C_4 (Larcher, 2004).

A inibição da fotossíntese, induzida pelo estresse hídrico, pode ser devido à limitação estomática como verificado em quatro diferentes espécies de gramíneas por Ghannoum et al. (2003). Porém, no presente trabalho verificou-se que, tanto a g_s como a E nas plantas sem limitação hídrica apresentaram reduções superiores às observadas em A sob as mesmas condições, o mesmo não ocorrendo para as plantas submetidas aos tratamentos de estresse hídrico, onde as reduções nessas variáveis foram aproximadas (Tabela 1). Pode-se inferir que as plantas do tratamento controle, mesmo com os estômatos parcialmente fechados, apresentaram tendência em manter (RB72454) ou reduzir em menor proporção (SP79-1011, RB98710 e RB92579) a taxa de fotossíntese líquida. A assimilação de CO_2 depende não somente do grau de abertura dos estômatos, mas também do aumento da resistência à difusão de CO_2 , bem como da atividade enzimática (HEUER, 1997; LAWLOR & CORNIC, 2002; INMAN-BAMBER & SMITH, 2005).

Dessa forma, a limitação para a fotossíntese, como observado nas plantas sob estresse hídrico severo, parece ocorrer não apenas em função da baixa difusão de CO_2 , mas também devido à atividade da enzima PEP-carboxilase, que pode ser afetada sob limitação hídrica (JEANNEAU et al., 2002). Em adição, Giménez et al. (1992) demonstraram que em plantas de girassol (possuidoras de metabolismo C_3), a taxa de assimilação de CO_2 é progressivamente inibida com a redução da disponibilidade hídrica do solo, sugerindo que a fotossíntese depende em maior parte do suprimento de rubisco e não da quantidade de CO_2 na atmosfera.

Assim como as variáveis de trocas gasosas, a eficiência no uso da água na produtividade (EUA_p) apresentou reduções significativas entre os tratamentos de estresse hídrico aplicados (Tabela 1). Verificou-se ainda que, sob condições controle, as variedades apresentaram valores superiores a 4 g MS/kg H_2O , semelhantes aos relatados por Larcher (2004) em plantas de metabolismo C_4 , assim como a cana-de-açúcar.

Ao analisar os tratamentos dentro das variedades, verificou-se que a variedade RB92579 apresentou a menor redução (36,4%) na EUA_p , entre os tratamentos controle e

estresse hídrico severo, enquanto as variedades SP79-1011, RB72454 e RB98710 apresentaram reduções superiores a 40%, não havendo, porém, diferença significativa entre as variedades. Essas reduções na EUA_p indicam que as variedades utilizaram com menos eficiência a água, ou seja, produziram menor quantidade de matéria seca em virtude da baixa disponibilidade de água. Este fato também é sustentado por Cruz (2006), que em dois genótipos de milho encontraram valores próximos a zero quando havia 50% de água disponível no solo, atribuindo a tais genótipos maior suscetibilidade ao déficit hídrico.

ARIAS et al. (1996) reforçam esta idéia afirmando que, em cana-de-açúcar, existe grande variabilidade na forma como as plantas usam a água, pois a relação assimilação de CO_2 /consumo de água pode ser afetada por fatores próprios da planta bem como do ambiente onde vivem. Larcher (2004), em adição, relata que a melhor relação entre absorção de CO_2 e consumo de H_2O ocorre quando os estômatos estão parcialmente fechados, podendo ser demonstrada no início do estresse hídrico quando os dois processos de difusão são prontamente reduzidos, fazendo com que a EUA_p alcance valores mais altos. Assim, verifica-se que sob estresse hídrico severo, a desidratação das células do mesofilo inibe fortemente o seu metabolismo e a fotossíntese, e a EUA_p apresenta valores reduzidos (TAIZ & ZEIGER, 2004).

4.3. Eficiência fotoquímica potencial (fluorescência da clorofila *a*)

A eficiência fotoquímica potencial das variedades em função dos dias após início do estresse hídrico é mostrada na Figura 6, na qual foi verificada tendência de redução na relação F_v/F_m à medida que o estresse hídrico se prolongava.

De maneira geral, a redução na água disponível do solo influenciou a eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II (PSII), medida pela relação F_v/F_m , nas variedades de cana-de-açúcar, tanto ao longo do experimento (Figura 7), como entre as leituras observadas no início do estresse hídrico (0 DAE) e aos 71 DAE, último dia de medição (Tabela 2).

Ao analisar o efeito dos tratamentos dentro de cada variedade, verificou-se respostas diferenciadas, com tendência de aumento no percentual de redução da fluorescência da clorofila *a* nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB98710, sobretudo, comparando-se os tratamentos controle e estresse hídrico severo (Tabela 2). Por outro lado, na variedade RB92579 não foi observada alteração significativa entre os tratamentos, indicando que a maior parte da radiação esteja sendo utilizada na fase fotoquímica da fotossíntese, não havendo, portanto, comprometimento do PSII devido ao estresse hídrico. Essa habilidade em

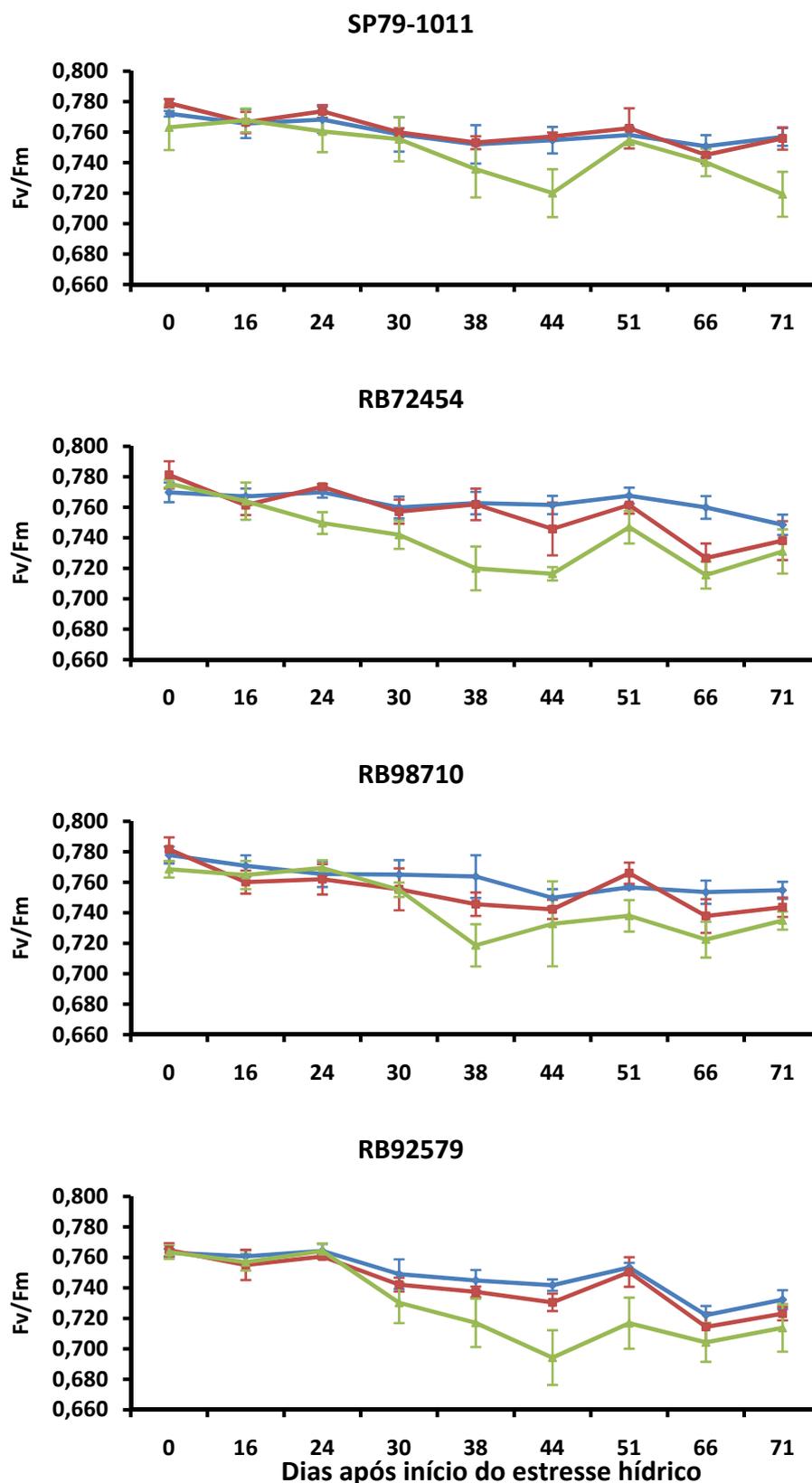


Figura 7 - Rendimento quântico da fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m) em folhas de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle, estresse moderado e estresse severo, cultivadas em casa-de-vegetação em função dos dias após início do estresse hídrico (DAE). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro observações.

Tabela 2 - Redução na fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m) entre 0 e 71 dias após a aplicação do estresse em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação.

Variedades	Tratamentos	F_v/F_m
		Redução(%)*
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO		
SP79-1011	Controle	1,96 Ab
	Estresse moderado	3,98 Aab
	Estresse severo	6,24 Aa
RB72454	Controle	1,77 Ab
	Estresse moderado	4,95 Aa
	Estresse severo	5,27 Aa
RB98710	Controle	2,64 Ab
	Estresse moderado	6,86 Aa
	Estresse severo	5,64 Aa
RB92579	Controle	3,52 Aa
	Estresse moderado	4,98 Aa
	Estresse severo	5,70 Aa
TRATAMENTOS		
	Controle	2,47 b
	Estresse moderado	5,19 a
	Estresse severo	5,71 a
CV (%)		37,17

*Redução (%) entre a primeira (imposição dos tratamentos) e a última leitura aos 71 dias.

**Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

manter valores semelhantes de F_v/F_m sob estresse hídrico, pode indicar alta eficiência no uso da radiação possivelmente pelas reações de assimilação de carbono (SILVA et al., 2007).

Observou-se ainda que, em todos os tratamentos a variedade RB92579 apresentou os menores valores de F_v/F_m durante o período experimental, o que pode explicar a não alteração observada na mesma variedade, podendo ser uma característica própria do genótipo.

Bolhàr-Nordenkampf et al. (1989¹) *apud* Silva et al. (2006) relatam que, quando a planta está com seu aparelho fotossintético intacto, a razão F_v/F_m deve variar entre 0,75 e 0,85, enquanto uma queda nesta razão reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII. Os valores de F_v/F_m observados nas variedades submetidas ao tratamento controle ($< 0,8$) (Figura 7), apesar de estarem dentro da amplitude citada anteriormente, diferem daqueles apresentados por Silva et al. (2007) que encontraram razões superiores a 0,8 em genótipos de cana-de-açúcar sob plena hidratação. Isto pode ter ocorrido por diversos fatores, dentre os quais o horário de avaliação e as condições climáticas no interior da casa-de-vegetação, sobretudo, as temperaturas elevadas observadas durante o momento de avaliação (Figura 2).

Na literatura, são encontrados resultados contraditórios na relação F_v/F_m em resposta a redução na disponibilidade hídrica do solo. Lichtenthaler & Miehé (1997) afirmam que as plantas em geral apresentam sintomas característicos em seu aparato fotossintético, tal como rápido decréscimo na relação F_v/F_m à medida que o solo seca, como observado em milho (CRUZ, 2006). Por outro lado, Ghannoum et al. (2003) não encontraram alterações significativas na eficiência fotoquímica potencial (F_v/F_m) em quatro espécies de gramíneas de ciclo C_4 , indicando que a capacidade de transporte de elétrons não foi alterada em função do estresse hídrico.

Quando houve redução estatisticamente significativa entre as épocas de avaliação nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB98710, estas foram superiores a 3% no estresse moderado e superiores a 5% no estresse severo. As reduções observadas neste trabalho são semelhantes àquelas apresentadas por Silva et al. (2007) em quatro genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis à seca, os quais observaram reduções significativas acima de 6%, tanto aos 45 como aos 90 dias após o início do déficit hídrico em condições de campo. Em adição, Cruz (2006) encontrou reduções na relação F_v/F_m superiores a 60% em milho entre os tratamentos com teor relativo de água na folha entre 90 e 40%. Esta alteração na atividade fotoquímica pode ser devido à fotoinibição nas plantas submetidas ao estresse hídrico severo, o que leva à formação

¹ BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R. et al. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.

de oxigênio reativo nos cloroplastos e, conseqüentemente, a danos físicos no PSII (Dubey, 1997).

Dessa forma, pode-se concluir que a variedade RB92579 apresentou maior sensibilidade na relação F_v/F_m em função do estresse hídrico, pois foram observados os menores valores de fluorescência da clorofila *a*, indicando danos ao aparato fotossintético, atribuindo-se ainda à menor eficiência do fotossistema II em razão de seu reduzido desempenho fotoquímico em relação às demais variedades avaliadas (SILVA et al., 2006). Porém, sabendo-se que é uma cultura de ciclo longo e que as avaliações foram realizadas apenas na fase inicial de crescimento vegetativo, recomenda-se um estudo mais detalhado da cultura ao longo de seu ciclo produtivo, tendo em vista que a mesma poderia expressar todo o seu potencial genético. Silva et al. (2007) reforçam esta idéia por acreditar que a partir de 90 dias do início da limitação hídrica seria a melhor época para avaliar o comportamento de variedades de cana-de-açúcar. Em adição, Heuer (1997) acredita que as alterações na relação F_v/F_m geralmente são percebidas quando o estresse é muito severo ou em estresse de média e longa duração.

Assim, verifica-se que a medição da fluorescência da clorofila *a* pode ser uma ferramenta confiável na indicação de tolerância ou suscetibilidade ao estresse hídrico (SILVA et al., 2007), tendo em vista que é uma técnica não destrutiva e de fácil e rápido emprego.

4.4. Teores de pigmentos fotossintéticos

De maneira geral, a redução na disponibilidade hídrica do solo fez com que houvesse decréscimo significativo nos teores de pigmentos fotossintéticos nas folhas, sejam eles medidos pelo clorofilômetro SPAD-502 ou por espectrofotometria, sem, no entanto, haver diferença na relação clorofila *a/b* (Tabela 3). Entretanto, as reduções mais pronunciadas foram observadas no tratamento de estresse severo, com 19,6% para SPAD-502, reduções superiores a 40% nos teores de clorofilas *a*, *b* e *total* e redução de 28,1% nos teores de carotenóides.

Ao analisar as respostas das variedades quanto às leituras do SPAD-502 em função do estresse hídrico aplicado, verificou-se que a RB72454 apresentou comportamento diferenciado das demais variedades, tendo em vista as reduções observadas nos tratamentos de estresse moderado (11,6%) e severo (33,4%), sendo esta última a mais marcante (Tabela 3). Na mesma tabela, verificou-se que a variedade RB92579 apresentou menores valores de unidades SPAD-502, sob condições controle, em relação aos demais genótipos. Resultados semelhantes nas leituras do SPAD-502 foram encontrados por O'Neil et al. (2006) em

Tabela 3 - Unidades SPAD, teores de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila *total* (Chl *Total*), relação clorofila *a/b* (Chl *a/Chl b*) e carotenóides em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.

Variedades	Trat.*	SPAD** (unid)	Pigmentos fotossintéticos **				Carotenóides ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)
			Chl <i>a</i> (mg g^{-1} MF)	Chl <i>b</i> (mg g^{-1} MF)	Chl <i>Total</i> (mg g^{-1} MF)	Chl <i>a/Chl b</i>	
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO							
SP79-1011	C	41,03 ABa	1,88 Aa	0,55 Ba	2,43 Ba	3,44 Aa	0,52 Ba
	EM	37,80 Aab	1,29 Bb	0,42 Bab	1,71 Bb	3,09 Aab	0,43 Ba
	ES	34,60 Ab	1,19 Ab	0,39 Ab	1,58 Ab	3,05 Ab	0,42 Aa
RB72454	C	45,15 Aa	2,12 Aa	0,89 Aa	3,01 Aa	2,46 Bb	0,65 Aa
	EM	39,93 Ab	1,38 Bb	0,45 Bb	1,83 Bb	3,09 Aa	0,47 Bb
	ES	30,08 Ac	1,07 Ab	0,35 Ab	1,42 Ab	3,04 Aa	0,42 Ab
RB98710	C	40,48 ABa	1,75 Aa	0,52 Ba	2,27 Ba	3,36 Aa	0,46 Ba
	EM	35,28 Ab	1,20 Bb	0,37 Bb	1,57 Bb	3,23 Aa	0,36 Ba
	ES	34,93 Ab	1,14 Ab	0,36 Ab	1,50 Ab	3,15 Aa	0,36 Aa
RB92579	C	38,50 Ba	2,07 Aa	0,65 Ba	2,72 ABa	3,18 Aa	0,66 Aa
	EM	37,05 Aab	1,86 Aa	0,60 Aa	2,46 Aa	3,09 Aa	0,63 Aa
	ES	33,25 Ab	1,27 Ab	0,43 Ab	1,69 Ab	2,97 Aa	0,44 Ab
TRATAMENTOS							
	C	41,29 a	1,95 a	0,65 a	2,61 a	3,11 a	0,57 a
	EM	37,51 b	1,43 b	0,46 b	1,89 b	3,13 a	0,47 b
	Redução/Aumento***	-9,2	-26,7	-29,2	-27,6	+0,6	-17,5
	ES	33,21 c	1,17 c	0,38 c	1,55 c	3,05 a	0,41 c
	Redução***	-19,6	-40,0	-41,5	-40,6	-1,9	-28,1
	CV (%)	7,34	13,74	15,09	13,03	7,26	13,39

*Tratamentos: C = controle; EM = estresse moderado; ES = estresse severo.

**Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***Percentual de redução (-) ou aumento (+) em relação ao controle.

híbridos de milho suscetíveis à seca, com redução média de 7,8%. Os mesmos autores concluíram que apesar de outros processos na planta, tais como divisão e expansão celular, responderem primeiro à seca, um declínio no índice SPAD-502 é uma medida rápida e sensível, que pode ser usada como ferramenta para seleção de tolerância a estresses.

Silva et al. (2007) também encontraram reduções significativas no índice SPAD-502 em oito genótipos de cana-de-açúcar, sendo quatro tolerantes e quatro suscetíveis à seca em condições de campo, nos Estados Unidos, onde aos 45 dias após início dos tratamentos de irrigação plena e estresse hídrico (225 dias do plantio), as reduções nos valores de leitura SPAD-502 foram significativas apenas nas variedades suscetíveis (média de 14,1%), enquanto aos 90 dias, reduções significativas foram encontradas tanto em um dos genótipos tolerantes como em todos os genótipos suscetíveis à seca, sendo as mesmas de 12,5 e 19,4%, respectivamente.

Os teores de clorofilas *a*, *b* e *total* apresentaram-se de forma semelhante às leituras do SPAD-502, ou seja, com reduções significativas à medida que aumentava o estresse hídrico (Tabela 3). As reduções observadas nos teores de clorofilas (superiores a 40%) foram semelhantes às obtidas por Cruz (2006) em milho, que encontrou reduções acima de 30% nos teores de clorofilas. No entanto, o comportamento das variedades, analisadas separadamente, foi diferenciado nos teores de clorofilas *a*, *b* e *total*.

A variedade RB92579 apresentou como característica marcante, maior estabilidade nos teores de clorofila *a*, *b* e *total*, tendo em vista que as plantas submetidas ao estresse moderado comportaram-se de forma semelhante às submetidas ao controle, apresentando valores superiores aos observados nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB98710 submetidas ao estresse moderado (Tabela 3).

Hendry & Price (1993) encontraram redução no teor de clorofila *total* de 46,7% em trigo sob déficit hídrico, enquanto Zhang & Kirkham (1996) encontraram reduções de 33,3% em girassol e de 20% em sorgo, ambas as espécies submetidas à deficiência hídrica aos 28 dias após o plantio. Em adição, Parida et al. (2007) encontraram decréscimos de 20% no teor de clorofila *total* em dois genótipos de algodão após sete dias de submissão ao déficit hídrico, atribuindo tal redução às mudanças na proporção de proteínas e lipídios do complexo pigmento-proteína, ou ainda devido ao aumento na atividade da clorofilase.

Assim, como a degradação da clorofila é uma das conseqüências do estresse hídrico, resultando em fotoinibição contínua e fotocclareamento (LONG et al., 1994² *apud* SILVA et

² LONG, S. P.; HUMPHRIES S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, n. 45, p. 633-662, 1994.

al., 2007), a resposta apresentada pela variedade RB92579 quanto aos teores de clorofilas, pode ser uma característica importante, pois a mesma poderia aumentar sua eficiência na absorção de radiação solar. As variedades SP79-1011 e RB72454 foram as únicas que apresentaram diferença significativa na relação clorofila *a/b* entre os tratamentos controle e estresse severo, sendo que, a RB72454 apresentou menores teores no controle, o que pode ser atribuído a uma característica da variedade.

O elevado acúmulo no teor de clorofila *b*, sob condições controle, na variedade RB72454 (0,89 mg g⁻¹ MF) fez com que a mesma apresentasse o menor valor na relação clorofila *a/b* (2,46 unidades), diferenciando-a das demais, as quais apresentaram valores médios dessa relação superiores a 3:1 (Tabela 3). Zotarelli et al. (2003) encontraram variações significativas na relação clorofila *a/b* em folhas de milho, com resultados semelhantes (2,23 ± 0,26) àqueles apresentados anteriormente para a variedade RB72454. Entretanto, a relação encontrada entre clorofila *a/b* da RB72454 é típica de plantas C₃ e não de C₄ (LARCHER, 2004).

O teor de carotenóides presente nas folhas, não apresentou diferença significativa, entre os tratamentos, nas variedades SP79-1011 e RB98710, enquanto que nas variedades RB72454 e RB92579 as reduções em função do estresse severo foram de 35,4 e 33,3%, respectivamente (Tabela 3). Reduções no teor de carotenóides em resposta à deficiência hídrica também foram obtidas por Cruz (2006) em milho (41,2%), por Zhang & Kirkham (1996) em girassol (23,7%) e em sorgo (23,1%), e por Parida et al. (2007) em algodão (30%).

Sem limitação hídrica (controle), as variedades RB72454 e RB92579 apresentaram os maiores valores (0,65 e 0,66 μmol g⁻¹ MF, respectivamente), ocorrendo o inverso com as variedades SP79-1011 e RB98710 (0,52 e 0,46 μmol g⁻¹ MF, respectivamente). Já em condições de estresse moderado, a variedade RB92579 apresentou valor significativamente superior às demais variedades e semelhante ao tratamento controle (Tabela 3).

Estes resultados sugerem que os níveis fisiológicos de carotenóides, semelhantes entre os tratamentos, nas variedades SP79-1011 e RB98710, assim como em sorgo e girassol (ZHANG & KIRKHAM, 1996) poderiam ser altos o suficiente para proteger as plantas contra a foto-oxidação. Ademais, o aumento ou manutenção dos teores dos pigmentos fotossintetizantes, sobretudo dos carotenóides, pode ser uma resposta das plantas como forma de prevenção dos efeitos dos estresses abióticos, pois tais pigmentos participam na fotoproteção dos vegetais (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

4.5. Efeitos do estresse hídrico no acúmulo de solutos orgânicos

De modo geral, observou-se que o comportamento das variedades, em função dos tratamentos de estresse hídrico aplicados, foi diferenciado quanto ao acúmulo de solutos orgânicos nos tecidos foliares (Tabela 4). Não houve diferença significativa entre os tratamentos controle e estresse severo na concentração de N- α -aminosolúvel e de proteínas solúveis, enquanto houve redução de 10,3% nos carboidratos solúveis presentes nas folhas entre os tratamentos de estresse moderado e estresse severo, havendo, ainda, aumento significativo no acúmulo de prolina livre nos tecidos foliares, sobretudo entre os tratamentos controle e estresse hídrico severo da ordem de 55,7% (Tabela 4).

4.5.1. Carboidratos solúveis

Analisando-se o acúmulo de carboidratos solúveis de forma isolada (Tabela 4), verificou-se comportamento diferenciado entre dois grupos de variedades: o primeiro, onde as variedades RB92579, RB98710 e SP79-1011 não apresentaram diferença entre os tratamentos; e o segundo, no qual a variedade RB72454 apresentou redução de 28,9% entre o controle e o estresse severo (Tabela 4). O aumento do teor de carboidratos solúveis pode ocorrer no início do estresse por dois motivos: em decorrência da paralisação do crescimento com certa manutenção da fotossíntese e, com a intensidade do déficit hídrico, em função da hidrólise de amido (PIMENTEL, 1999).

Outro aspecto a ser abordado é que, sob condições controle, ou seja, sem restrição hídrica, as variedades RB72454 e RB92579 caracterizaram-se por apresentar maior concentração de carboidratos solúveis que as demais (Tabela 4). Por outro lado, sob estresse severo a variedade RB92579 diferenciou-se das demais com acúmulo de 347,63 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS, mesmo não havendo diferença entre os tratamentos hídricos, evidenciando, talvez, que a mesma apresenta como característica própria, maior acúmulo de carboidratos solúveis.

4.5.2. N- α -aminosolúvel

Mesmo não havendo diferença significativa na concentração de N- α -aminosolúvel nos tecidos foliares de cana-de-açúcar (Tabela 4), assim como observado em milho sob limitação hídrica (CRUZ, 2006), uma observação pode ser válida. Como mostra a Tabela 4 houve tendência de aumento, nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB92579, e redução na

Tabela 4 - Teores de carboidratos solúveis, N- α -aminosolúvel, proteínas solúveis e prolina livre em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.

Variedades	Trat.*	SOLUTOS ORGÂNICOS**			
		Carboidratos Solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	N- α -aminosolúvel ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	Proteínas Solúveis (mg g^{-1} MS)	Prolina Livre ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO					
SP79-1011	C	254,17 Bab	64,35 Aa	11,54 Ba	2,11 Ab
	EM	292,29 Aa	67,82 Aa	15,00 Aa	1,89 Bb
	ES	229,85 Bb	68,11 Aa	11,86 Aa	3,91 Aa
RB72454	C	341,64 Aa	67,04 Aa	19,09 Aa	1,87 Ab
	EM	288,29 Aab	73,93 Aa	19,79 Aa	1,92 ABb
	ES	242,85 Bb	77,01 Aa	15,96 Aa	2,91 Ba
RB98710	C	262,22 Ba	76,16 Aa	14,37 ABa	2,07 Aa
	EM	287,47 Aa	72,10 Aa	14,61 Aa	1,91 ABa
	ES	269,50 Ba	55,50 Aa	19,00 Aa	2,40 Ba
RB92579	C	316,67 ABa	49,35 Aa	18,61 ABa	2,01 Ab
	EM	347,40 Aa	61,88 Aa	17,73 Aa	2,80 Aab
	ES	347,63 Aa	66,94 Aa	18,80 Aa	3,30 ABa
TRATAMENTOS					
	C	293,68 ab	64,23 a	15,90 a	2,01 b
	EM	303,86 a	68,93 a	16,78 a	2,13 b
Redução/Aumento***		+3,5	+7,3	+5,5	+6,0
	ES	272,46 b	66,89 a	16,40 a	3,13 a
Redução/Aumento***		-7,2	+4,1	+3,1	+55,7
CV (%)		12,09	21,72	23,12	19,65

*Tratamentos: C = controle; EM = estresse moderado; ES = estresse severo.

**Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***Percentual de redução (-) ou aumento (+) em relação ao controle.

variedade RB98710 na concentração deste soluto nas plantas submetidas ao estresse hídrico. Este comportamento observado na fase inicial de crescimento vegetativo pode não ser o mesmo quando a planta está submetida a déficits hídricos por períodos mais prolongados ou durante todo o seu ciclo de produção, fazendo com que um estudo mais detalhado, em condições de campo, seja necessário para verificar o real comportamento de tal soluto em variedades de cana-de-açúcar.

4.5.3. Proteína solúvel

A concentração de proteína solúvel não apresentou diferença significativa em função dos tratamentos impostos (Tabela 4), diferente do que ocorreu no estudo realizado por Arias et al. (1996), onde os autores encontraram redução de 54,1% no acúmulo de proteínas solúveis entre os tratamentos com 60% e 40% de umidade do solo, em cana-de-açúcar.

Ao analisar o comportamento das variedades sem limitação hídrica, verificou-se que a SP79-1011 apresentou menor valor de proteína solúvel ($11,54 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), enquanto ao avaliar as variedades independente do tratamento aplicado, percebe-se que a SP79-1011 caracterizou-se por apresentar menor concentração de proteínas ($12,8 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), níveis inferiores aos observados para as variedades RB92579 ($18,4 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), RB72454 ($18,3 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) e RB98710 ($16,0 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) (Tabela 4). Tal diversidade entre genótipos também foi observada por Arias et al. (1996) em cana-de-açúcar. Porém, pode-se concluir que esta variável não demonstrou, no presente trabalho, importância na caracterização de variedades, corroborando com Almeida & Crócomo (1994), os quais desaconselharam sua utilização como ferramenta de seleção de genótipos à seca.

4.5.4. Prolina livre

A variedade RB98710 foi a única que não apresentou aumento no teor de prolina em função do estresse hídrico (Tabela 4), enquanto nas demais o aumento só ocorreu sob estresse severo. Dentre os solutos orgânicos, a prolina livre talvez seja o primeiro a ter sua síntese e acúmulo mais pronunciados em função do estresse hídrico enfrentado pelas plantas. O acúmulo líquido de prolina livre sob estresse severo foi mais evidente na variedade SP79-1011 ($3,91 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$), enquanto que os menores valores de acúmulo foram observados nas variedades RB72454 ($2,91 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$) e RB98710 ($2,40 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$) (Tabela 4).

Incrementos significativos também foram observados em milho cultivado em casa-de-vegetação por Pimentel (1999), o qual acredita que o aumento no acúmulo de aminoácidos livres pode ser causado pelo aumento da hidrólise de proteínas em virtude de altas temperaturas durante o ciclo. Nesse sentido, também em milho, Arrazate et al. (2005) encontraram valores quatro vezes superiores no acúmulo de prolina entre os tratamentos com e sem irrigação, sob condições de campo, no México. Os autores mostraram ainda que, em variedades melhoradas de milho, o acúmulo de prolina livre tende a ser superior sob deficiência hídrica, pois um determinado genótipo atingiu valores vinte vezes maiores do que quando cultivado com irrigação.

Arias et al. (1996), também encontraram aumento de prolina em cana-de-açúcar sob condições de campo, em três épocas de cultivo, sendo a primeira avaliação, realizada nos primeiros três meses do ciclo da cultura, àquela que apresentou maiores teores, com tendência de redução à medida que a planta se desenvolvia. Os mesmos autores enfatizaram que as respostas ao estresse hídrico são dependentes tanto da idade das plantas como da variedade, pois, aos sete meses de cultivo foi observado comportamento semelhante entre os genótipos, enquanto aos nove meses foi observado redução na síntese de prolina à medida que o solo tinha seu conteúdo de água reduzido.

Em adição, Pinho & Ansel (1995), observaram acúmulo pronunciado de prolina tanto em milho como em sorgo à medida que o potencial hídrico do solo decrescia, havendo diminuição de tal soluto após a reidratação das plantas. Em contrapartida, Cruz (2006) não encontrou reduções significativas no teor de prolina com o decréscimo da disponibilidade de água, atribuindo tal fato à diminuição na atividade da enzima PEP-carboxilase, a qual já foi apontada como responsável pelo aumento da prolina, conduzindo a um ajustamento osmótico (JEANNEAU et al., 2002).

Na média geral, a variedade RB92579 apresentou maior acúmulo de prolina livre ($2,70 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$), enquanto na variedade RB98710 ocorreu o inverso ($2,13 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$), podendo este comportamento ser atribuído a característica intrínseca de cada genótipo. Esse comportamento da variedade RB92579 poderia sugerir um mecanismo de tolerância à seca, no qual a planta reduziria seu potencial osmótico em decorrência do acúmulo de solutos, reduzindo, por conseguinte, seu potencial hídrico (como foi verificado nas Figuras 7A e 7B), aumentando a absorção de água do solo. Porém, observou-se que os valores de prolina livre foram inferiores aos dos demais solutos analisados, inferindo que o acúmulo líquido de prolina não tenha influenciado o potencial osmótico.

Arias et al. (1996), mostraram que a relação entre aumento de prolina e resistência à seca em diferentes culturas, encontra opiniões divergentes, pois alguns pesquisadores encontraram relação direta entre a capacidade de acumular prolina e a tolerância ao déficit hídrico, enquanto outros acreditam que este aminoácido pode ser indicativo do estágio de desenvolvimento e de variedades de maior suscetibilidade. Nesse sentido, em estudos com cana-de-açúcar, seria recomendável considerar, quando se estuda folhas separadas, que ocorre incremento na concentração de prolina em virtude de estresse hídrico, porém deve-se sempre levar em consideração a idade da planta em estudo.

4.6. Efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e acúmulo de matéria seca

De forma geral, o número de perfilhos foi a única variável de crescimento que não foi afetada pelo estresse hídrico, enquanto o diâmetro do colmo (Φ_{colmo}), a altura das plantas (h_{colmo}) e a área foliar (AF) foram reduzidos de forma significativa em decorrência do decréscimo da disponibilidade hídrica no solo (Tabela 5). Porém, ao se analisar as variedades isoladamente, verificou-se respostas diferenciadas, sobretudo na RB72454 e na RB98710, sendo que a primeira, tanto sob controle (0,50 unidades) como em condições estressantes (1,13 unidades) apresentou o menor número de perfilhos quando comparada às demais variedades. Oliveira et al. (2004) também encontraram menores valores de perfilhamento para a variedade RB72454 em relação a dois outros genótipos, em várias épocas de coleta, sob condições de campo. Já nas variedades SP79-1011 e RB92579 a capacidade de perfilhamento não foi alterada em função do estresse hídrico, inferindo que as mesmas apresentam certo grau de tolerância no número de perfilhos.

A redução da matéria seca da parte aérea em maior grau na variedade RB92579 (59,2%), como será mostrada adiante, contrasta com a produção elevada de perfilhos, em termos absolutos, inferindo que um elevado grau de perfilhamento na fase inicial de crescimento vegetativo seja uma característica morfológica inadequada para obtenção de variedades tolerantes a estresses, pois, segundo Terauchi & Matsuoka, 2000³ *apud* Oliveira et al. (2007), não existe correlação positiva entre o número de perfilhos e o aumento da produtividade para a cultura da cana-de-açúcar, em virtude de a mesma ser submetida a um gasto energético muito elevado. Nesse sentido, Oliveira et al. (2004) relatam que, ao analisar o ciclo completo da planta, nem sempre as variedades que apresentam maior capacidade de perfilhamento,

³ TERAUCHI, T.; MATSUOKA, M. Ideal characteristics for the early growth of sugarcane. **Japanese Journal of Crop Science**, n. 69, p. 286-292, 2000.

Tabela 5 - Número de perfilhos, diâmetro do colmo (Φ_{colmo}), altura de planta (h_{colmo}) e área foliar (AF) de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.

Variedades	Tratamento*	Perfilhos** (unid)	Φ_{colmo} ** (mm)	h_{colmo} ** (cm)	AF** (dm ²)
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO					
SP79-1011	C	2,50 Aa	1,85 BCa	41,87 Ba	29,35 Ba
	EM	2,50 Aa	1,67 ABab	39,05 Aa	24,65 ABa
	ES	2,63 Aa	1,43 Ab	28,75 Ab	14,33 Ab
RB72454	C	0,50 Bb	2,25 Aa	51,25 Aa	37,62 Aa
	EM	1,88 Aa	1,98 ABa	43,13 Ab	28,82 Ab
	ES	1,13 Bab	1,37 Ab	31,74 Ac	17,24 Ac
RB98710	C	3,00 Aa	1,73 Ca	43,11 Ba	29,13 Ba
	EM	1,88 Ab	1,65 Ba	38,89 Aa	20,99 Bb
	ES	2,75 Aab	1,35 Aa	29,18 Ab	13,58 Ac
RB92579	C	3,13 Aa	2,13 ABa	52,60 Aa	33,33 ABa
	EM	2,75 Aa	1,89 ABa	44,26 Ab	23,65 ABb
	ES	3,50 Aa	1,48 Ab	31,44 Ac	12,29 Ac
TRATAMENTOS					
	C	2,28 a	1,99 a	47,21 a	32,36 a
	EM	2,25 a	1,80 b	41,33 b	24,52 b
	Redução***	-1,3	-9,5	-12,5	-24,2
	ES	2,50 a	1,41 c	30,28 c	14,36 c
	Redução/Aumento***	+9,6	-29,1	-35,9	-55,6
	CV (%)	22,42	10,52	9,10	18,28

*Tratamentos: C = controle; EM = estresse moderado; ES = estresse severo.

**Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***Percentual de redução (-) ou aumento (+) em relação ao controle.

serão mais produtivas no final da safra.

Com uma redução de 29,1%, o diâmetro do colmo foi umas das variáveis menos afetadas pelo estresse hídrico (Tabela 5). Na mesma tabela, observou-se que a variedade RB98710 não apresentou redução significativa no diâmetro do colmo, enquanto as demais variedades tiveram reduções significativas, sendo, porém, a variedade RB72454 mais sensível, com redução de 39,1%. Resultados diferentes foram obtidos por Oliveira et al. (2004), os quais concluíram que as variedades que emitem o menor número de perfilhos, na fase inicial de crescimento, possuem melhores condições de formar colmos com diâmetros maiores. Vale ressaltar que em termos absolutos, as variedades SP79-1011 e RB98710 foram as variedades que apresentaram o menor diâmetro de colmos, mesmo sob condições controle, talvez pelo fato do diâmetro do colmo ser menos suscetível a variações ambientais instantâneas (BENINCASA, 2003), podendo explicar o comportamento desta última variedade, pois não foi verificada diferença entre os tratamentos aplicados.

Quando se avaliou a altura do colmo principal, constatou-se que a deficiência hídrica severa promoveu redução média de 35,9% no crescimento do mesmo, sendo que as variedades SP79-1011 (31,3%) e RB98710 (32,3%) sofreram a menor inibição, enquanto a variedade RB92579 foi a mais sensível na altura do colmo, com redução superior a 40% (Tabela 5). Decréscimos na altura das plantas também foram observados por Arias et al. (1996) em variedades de cana-de-açúcar, em Cuba, onde os mesmos observaram reduções de até 30% na altura das plantas ao comparar os tratamentos controle (80% cc) e estresse moderado (60% cc) com o de estresse severo (40% cc).

As variedades RB72454 e RB92579 apresentaram os maiores valores no tratamento controle, enquanto a SP79-1011 e a RB98710 apresentaram menores valores de altura do colmo principal (Tabela 5). Assim, as variedades que não apresentaram diferença na capacidade de perfilhamento, em função dos tratamentos aplicados (SP79-1011 e RB92579), poderiam ter investido maior quantidade de energia para o crescimento e manutenção dos perfilhos em detrimento do crescimento em altura e diâmetro do colmo principal, corroborando com os dados obtidos por Oliveira et al. (2004).

Dos parâmetros de crescimento, a área foliar foi o que apresentou maior decréscimo em decorrência da menor disponibilidade hídrica do solo, sendo esta redução de 24,2% para o estresse hídrico moderado e 55,6% para o estresse hídrico severo (Tabela 5).

De maneira geral, a variedade RB72454 foi a que apresentou o maior valor médio de área foliar (27,89 dm²), isto pode ter sido em decorrência do menor perfilhamento apresentado pela variedade, a qual pode ter desviado energia para produção de folhas em detrimento de

novos perfilhos, sendo esta uma característica própria da variedade em apresentar folhas individuais maiores e mais largas, bem como pode apresentar número maior de folhas por perfilho. Este fato, entretanto, poderia resultar em maior acúmulo de matéria seca da parte aérea, sobretudo em função da matéria seca das folhas nesta variedade, o que de fato não ocorreu, talvez pelo fato de que o que impulsionou o maior acúmulo de matéria seca da parte aérea da variedade RB92579, apesar da área foliar menor que a da variedade RB72454, foi a matéria seca dos colmos+bainhas e não das folhas, como será discutido mais adiante. Este aumento na área de exposição das folhas observado na variedade RB72454 pode ser uma característica intrínseca da variedade, como também observado por Oliveira et al. (2007) na mesma variedade em condições de campo.

Quando submetidas à severa deficiência hídrica do solo, a variedade SP79-1011 foi a que apresentou menor percentual de redução na área foliar (51,2%), enquanto a variedade RB92579 apresentou redução de 63,1%. Reduções significativas na área foliar também foram encontradas por Smit & Singels (2006), em duas variedades de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico, na África do Sul e por Galbiatti et al. (2004) em híbridos de milho.

A explicação para esta elevada redução na área foliar, promovida pela deficiência hídrica, pode estar no fato de que a taxa de crescimento foliar e, conseqüentemente, a área foliar seja uma das primeiras variáveis afetadas por estresse hídrico (MUNNS, 2002), sendo ainda, um dos mecanismos de defesa das plantas a estresses ambientais (WAHID, 2004; INMAN-BAMBER & SMITH, 2005), pois nas folhas é o local onde ocorre a regulação dos processos essenciais, sendo responsáveis por 90% da massa seca acumulada pelas plantas, resultante da fotossíntese (ARIAS et al., 1996; BENINCASA, 2003; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Entretanto, era de se esperar que a diminuição da área foliar em função da redução do alongamento foliar, influenciasse na produção de matéria seca da variedade RB92579, pois segundo Galbiatti et al. (2004) a menor área foliar proporciona menor distribuição de fotoassimilados para os tecidos vegetativos, ocorrendo menor taxa de fotossíntese líquida. Porém, tal variedade apresentou maior produção de matéria seca, como será visto mais adiante, indicando que a mesma pode apresentar-se mais eficiente na conversão de energia luminosa em energia química.

O comprimento do limbo foliar e o número total de folhas emitidas são apresentados na Figura 8. Verificou-se que após início do estresse hídrico, quando as plantas haviam emitido aproximadamente sete folhas, houve tendência de redução tanto no comprimento do limbo foliar como na produção final de folhas em decorrência dos tratamentos aplicados,

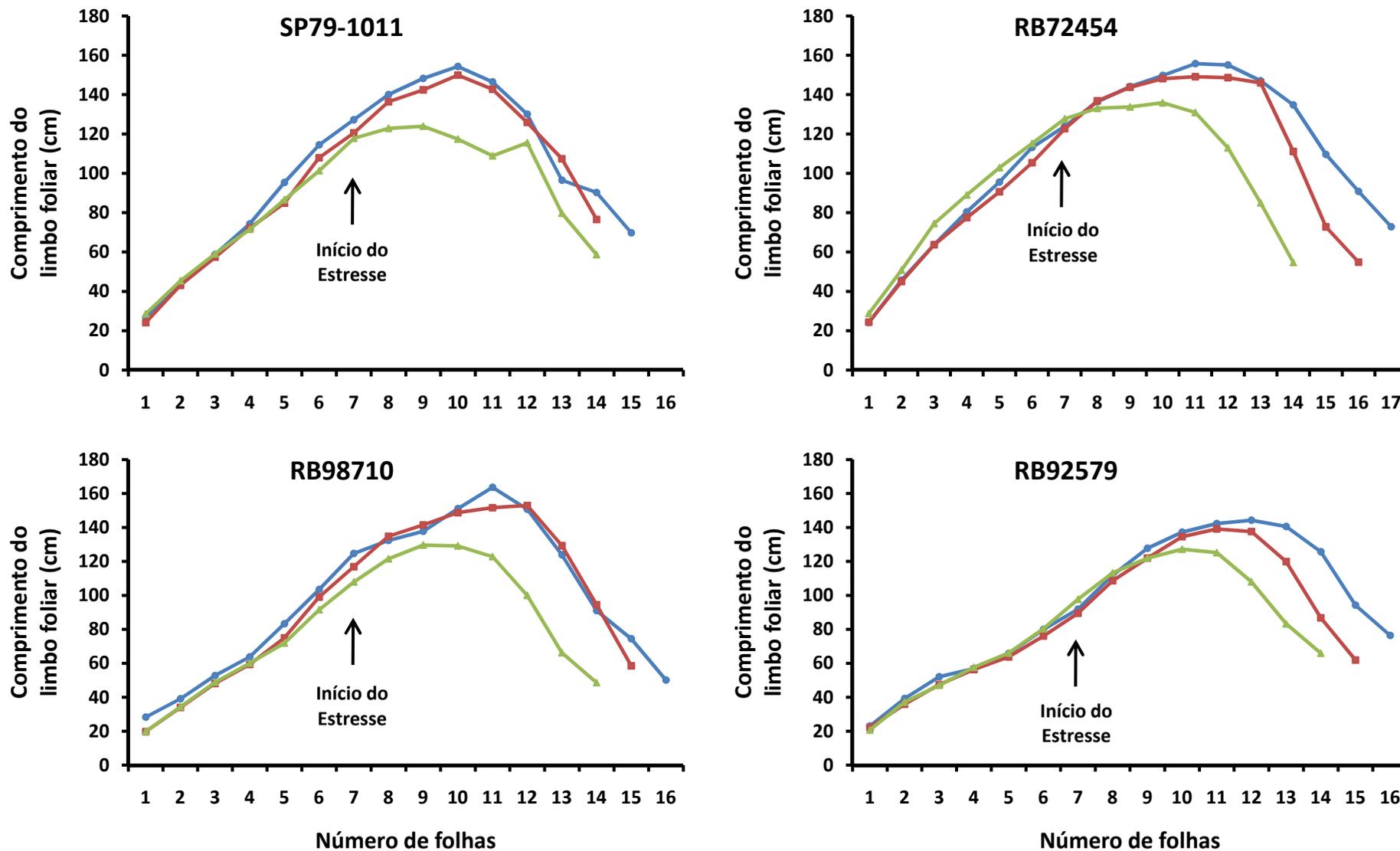


Figura 8 - Número total de folhas emitidas e comprimento do limbo foliar em quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (—●—), estresse moderado (—■—) e estresse severo (—▲—), cultivadas em casa-de-vegetação durante 141 dias.

sendo mais evidente no tratamento de estresse hídrico severo. Sob condições controle, o número total de folhas emitidas durante o experimento variou entre 15 e 17, enquanto no tratamento de estresse hídrico severo as plantas emitiram apenas quatorze folhas.

Ao analisar as variedades de forma isolada, verificou-se comportamento diferenciado entre as mesmas. Em condições de deficiência hídrica severa, verificou-se que as variedades SP79-1011 e RB72454 apresentaram redução no comprimento das folhas imediatamente após início do estresse hídrico, sendo, porém, mais pronunciada na variedade SP79-1011 (Figura 8). Por outro lado, as variedades RB98710 e RB92579 apresentaram redução no comprimento do limbo foliar mais tardiamente, sobretudo na última variedade, onde a redução tornou-se mais evidente a partir da décima folha emitida. Arias et al. (1996), também observaram redução na emissão de folhas em seis variedades de cana-de-açúcar, sob condições de campo, em função do déficit hídrico, sobretudo quando as plantas foram cultivadas com 40% de água disponível no solo. Nesse sentido, também em condições de campo, Inman-Bamber (2004), Inman-Bamber & Smith (2005) e Smit & Singels (2006), observaram redução na emissão de folhas em cana-de-açúcar quando a irrigação foi interrompida.

Estes resultados mostram que uma das primeiras respostas das plantas frente ao déficit hídrico é a redução da taxa de extensão e divisão celular, tendo como consequência decréscimo no crescimento das folhas (TAIZ & ZEIGER, 2004). Em adição, a tendência de redução no número de folhas emitidas é consequência direta da pouca disponibilidade hídrica, podendo ainda favorecer a senescência das mesmas (ARIAS et al., 1996). Assim, o número reduzido de folhas, em função do déficit hídrico, pode ter influenciado, sobremaneira, a área foliar da planta, como foi discutido anteriormente (Tabela 5).

Em decorrência da deficiência hídrica, a produção de matéria seca por partes e total das plantas de cana-de-açúcar sofreu redução significativa (Tabela 6). As reduções observadas no tratamento de estresse moderado para folhas, colmo + bainhas (C+B) e parte aérea (PA) foram superiores a 20%, enquanto no tratamento de estresse severo essas reduções foram acima de 50%. Arias et al. (1996), afirmam que existe alta correlação entre a produção de matéria seca e o consumo de água em cana-de-açúcar, tendo em vista que os mesmos também observaram reduções nas variáveis de crescimento em função da menor disponibilidade hídrica do solo, sendo constatado também neste estudo, onde EUA_p apresentou redução significativa em função do estresse hídrico.

A produção de matéria seca da raiz, de maneira geral, apresentou comportamento diferenciado das demais variáveis em virtude dos tratamentos aplicados, pois não foi observada diferença entre os tratamentos controle e estresse moderado, havendo, porém,

Tabela 6 - Produção de matéria seca em raízes, colmos + bainhas (C+B), folhas e parte aérea (PA) e relação raiz/parte aérea (R/PA) de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle (80 a 100% cc), estresse moderado (40 a 60% cc) e estresse severo (0 a 20% cc) cultivadas em casa-de-vegetação aos 141 dias após o plantio.

Variedades	Tratamento*	Massa Seca (g)**				R/PA
		Folhas	C + B	PA	Raízes	
VARIEDADES x ESTRESSE HÍDRICO						
SP79-1011	C	40,14 Aa	19,20 Ba	59,34 Ba	27,71 Aa	0,47 Aa
	EM	33,17 Ab	17,74 Aa	50,91 Aa	24,64 Aa	0,48 Aa
	ES	18,11 Ac	9,17 Ab	27,28 Ab	13,64 Ab	0,50Aa
RB72454	C	31,31 Ba	22,69 Ba	54,00 Ba	26,76 Aa	0,49 Aa
	EM	26,99 Aa	19,55 Aa	46,55 Aa	21,68 Aa	0,46 Aa
	ES	16,37 Ab	12,66 Ab	29,02 Ab	13,44 Ab	0,47 Aa
RB98710	C	35,35 ABa	18,63 Ba	53,98 Ba	21,86 Aa	0,41 Ab
	EM	27,77 Ab	16,07 Aa	43,83 Ab	22,20 Aa	0,51 Aab
	ES	17,17 Ac	10,41 Ab	27,59 Ac	14,97 Aa	0,54 Aa
RB92579	C	37,21 ABa	33,18 Aa	70,38 Aa	25,86 Aa	0,37 Aa
	EM	26,15 Ab	20,69 Ab	46,85 Ab	22,40 Aa	0,48 Aa
	ES	15,48 Ac	13,23 Ac	28,71 Ac	13,79 Ab	0,48 Aa
TRATAMENTOS						
	C	36,00 a	23,42 a	59,42 a	25,55 a	0,43 b
	EM	28,52 b	18,51 b	47,03 b	22,73 a	0,48 ab
	Redução/Aumento***	-20,8	-21,0	-20,9	-11,0	+11,6
	ES	16,78c	11,37 c	28,15 c	13,96 b	0,50 a
	Redução/Aumento***	-53,4	-51,5	-52,6	-45,4	+16,3
	CV (%)	15,42	16,34	14,47	25,39	15,81

*Tratamentos: C = controle; EM = estresse moderado; ES = estresse severo.

**Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, tanto para tratamentos dentro da variedade (letras minúsculas), como para variedades dentro de tratamento (letras maiúsculas), não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***Percentual de redução (-) ou aumento (+) em relação ao controle.

redução superior a 40% no tratamento de estresse severo. As reduções observadas na matéria seca das raízes e da parte aérea influenciaram, seja aumentando ou diminuindo, a relação raiz/parte aérea, sobretudo comparando-se as plantas submetidas à menor disponibilidade hídrica do solo àquelas bem hidratadas (Tabela 6).

Observando a Tabela 6, verificou-se que a variedade RB72454 foi a que apresentou o menor valor médio de matéria seca das folhas independente do tratamento. Por outro lado, ao analisar todas as variedades, verificou-se que as mesmas tiveram redução significativa entre os três tratamentos, com exceção da RB72454 cujo controle e estresse moderado apresentaram-se semelhantes.

A variedade RB92579 apresentou-se como a mais sensível na produção de matéria seca das folhas, com redução de 58,4%, enquanto a variedade RB72454 apresentou o menor percentual de redução (47,7%), comparando-se os tratamentos controle e estresse severo. Reduções na matéria seca de folhas também foram observadas por Galbiatti et al. (2004), que encontraram decréscimo de 28,5% entre o tratamento controle e o tratamento que não recebeu irrigação durante a fase de crescimento vegetativo em milho.

Quanto à matéria seca de C+B, observou-se que, quando bem suprida de água (tratamento controle), a variedade RB92579 apresentou rendimento mais elevado em relação às demais variedades (Tabela 6), o que pode refletir em maior produtividade ao fim do cultivo, sendo esta variável de grande importância para a agroindústria de cana-de-açúcar.

Analisando as variedades isoladamente, observou-se comportamento semelhante entre as mesmas, com exceção da RB92579 que apresentou redução na matéria seca de C+B de 60,1%, enquanto que as variedades RB72454 e RB98710 apresentaram o menor percentual de redução (44%), entre os tratamentos controle e estresse severo (Tabela 6).

Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2007), os quais encontraram redução na matéria seca de colmos + bainhas de até 20,9% entre o tratamento controle e de estresse hídrico em oito variedades de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica. Também Galbiatti et al. (2004), observaram redução de aproximadamente 25% na matéria seca de colmos em milho, ao estudar o efeito de diferentes períodos de irrigação (durante todo o ciclo da cultura e após terminada a fase de crescimento vegetativo) no desenvolvimento, produção e qualidade de sementes. Da mesma forma, Robertson et al. (1999), estudando a fisiologia e produtividade de cana-de-açúcar submetida a deficiência hídrica em três experimentos no início e no meio do ciclo da cultura, na Austrália, encontraram redução média na matéria seca de colmos superior a 30%.

Avaliando a parte aérea (PA = C+B+Folhas) como um todo, verificou-se que ocorreu redução nos valores entre os tratamentos aplicados, sobretudo entre o controle e o estresse hídrico severo (52,6%), sendo esta redução superior àquela encontradas por Galbiatti et al. (2004) em milho (12,1%) e por Inman-Bamber (2004) (18,1%) e Robertson et al. (1999) (25%) que encontraram reduções na biomassa final de cana-de-açúcar submetida a estresse hídrico. Entretanto, tais autores realizaram experimentos sob condições de campo, o que pode explicar o menor percentual de redução encontrado pelos mesmos, em virtude, talvez, das condições ambientais que não foram controladas, havendo, assim, maior variabilidade dos dados.

Observou-se ainda que a variedade RB92579 apresentou maior produção de matéria seca da parte aérea quando submetida ao tratamento controle, evidenciando que tal genótipo, quando bem suprido de água, destaca-se dos demais. Ao avaliar as variedades isoladamente, verificou-se que a SP79-1011 e a RB72454 apresentaram comportamento semelhante entre si em relação à resposta à deficiência hídrica, pois não houve diferença entre o controle e o estresse moderado, enquanto as variedades RB98710 e RB92579 apresentaram-se mais sensíveis, pois foi verificada diferença entre todos os tratamentos (Tabela 6).

Os efeitos do estresse hídrico, em curto prazo, podem ser reversíveis, não interferindo, talvez, em perdas de rendimento (NABLE et al., 1999), confirmando os relatos de Bergonci et al. (2001), que apesar de encontrarem reduções na matéria seca da parte aérea (entre 24,6 e 46,3%) em cinco experimentos de estresse hídrico em milho, concluíram que o déficit hídrico que ocorre no período vegetativo interfere pouco no rendimento final da cultura. Em contrapartida, Santos & Carlesso (1998) e Robertson et al. (1999), afirmam que a imposição do déficit hídrico quando a cultura da cana-de-açúcar está estabilizada pode proporcionar impactos deletérios no rendimento final, pois afeta o desenvolvimento das estruturas vegetativas das plantas.

Com relação às raízes, a variedade RB98710 foi a única que não apresentou diferença entre os tratamentos aplicados (Tabela 6), podendo, talvez, ser um indicativo de tolerância à seca, pois as plantas submetidas ao estresse hídrico severo podem ter investido energia para produção e prolongamento do sistema radicular, aumentando assim a área de exploração de água no solo. As demais variedades (SP79-1011, RB72454 e RB92579) submetidas ao estresse hídrico severo apresentaram comportamento semelhante, com reduções significativas na matéria seca das raízes em relação aos demais tratamentos, sendo que a variedade SP79-1011 apresentou-se mais sensível, com redução de 50,8%.

Por outro lado, Silva et al. (2005) em estudo sobre a distribuição do sistema radicular em variedades de cana-de-açúcar sob condições de campo em Alagoas, concluíram que a variedade RB92579 possui como característica intrínseca, apresentar quantidades significativas de raízes em camadas mais profundas do solo, seja na linha de plantio ou a uma distância de 30 cm da mesma. Dessa forma, os mesmos autores afirmam que o aprofundamento das raízes, como mecanismo de tolerância à deficiência hídrica, é de grande importância nos solos do Nordeste, fazendo com que esta variedade se diferencie de outras cultivadas na região. Assim, a limitação da exploração do solo devido ao cultivo em vasos plásticos, como realizado neste trabalho, pode ter influenciado a variedade RB92579, a qual não conseguiu expressar todo o seu potencial, resultando em menor produção de matéria seca tanto da parte aérea como do sistema radicular, sobretudo em condições de estresse hídrico severo.

A relação entre matéria seca da raiz e da parte aérea sofreu alteração significativa, entre os tratamentos controle e de estresse hídrico severo, apenas na variedade RB98710, apresentando aumento de 24,1% (Tabela 6). Este resultado era esperado em virtude dos dados apresentados anteriormente de matéria seca do sistema radicular, mostrando, sobremaneira, que a resposta apresentada por tal variedade pode está vinculada a menor inibição do sistema radicular, pois não foi verificada diferença na matéria seca das raízes entre os tratamentos, em função da disponibilidade hídrica do solo.

5. CONCLUSÕES

Dos resultados experimentais obtidos com as variedades de cana-de-açúcar (SP79-1011, RB72454, RB98710 e RB92579) submetidas à deficiência hídrica, na fase inicial de crescimento vegetativo, sob condições de casa-de-vegetação, pode-se concluir que:

O estresse hídrico severo reduz significativamente a condutância estomática, transpiração, fotossíntese líquida e a eficiência no uso da água da produtividade, independente da variedade.

As variedades SP79-1011 e RB98710 apresentam maior sensibilidade estomática, reduzindo a condutância estomática e a transpiração, aos 71 DAE, mesmo sob condições controle. Entretanto, sob tais condições a fotossíntese é pouco afetada indicando que as plantas são capazes de manter a taxa fotossintética mesmo com os estômatos parcialmente fechados.

O estresse hídrico, seja moderado ou severo, provoca pouca redução na eficiência fotoquímica potencial das variedades estudadas.

A variedade RB72454 mantém o potencial hídrico foliar, ao amanhecer e ao meio-dia, mais elevado do que o das demais variedades, independente da condição hídrica. A variedade RB92579 apresenta os menores valores de potencial hídrico, sob condições de estresse hídrico, indicando que a variedade tem habilidade de se ajustar osmoticamente.

A deficiência hídrica reduz os teores de clorofilas em todas as variedades e não altera os teores de carotenóides nas variedades SP79-1011 e RB98710, proporcionando às mesmas, maior proteção contra a foto-oxidação, sob tais condições.

O estresse hídrico eleva os níveis de prolina livre nas variedades SP79-1011, RB72454 e RB92579.

O déficit hídrico provoca redução no crescimento das quatro variedades de cana-de-açúcar, sendo que, a produção de matéria seca e a área foliar são as variáveis mais afetadas.

A variedade RB98710 apresenta aumento na relação raiz/parte aérea quando submetida a estresse hídrico severo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por se tratar de uma cultura de ciclo longo, recomenda-se um estudo mais aprofundado dessas variáveis durante todo o ciclo produtivo da cana-de-açúcar, tendo em vista que a mesma pode apresentar respostas diferenciadas nas fases subseqüentes ao crescimento vegetativo, o qual foi objeto de estudo neste trabalho.

Estudos futuros em cana-de-açúcar poderão investigar o efeito do estresse hídrico na atividade de enzimas responsáveis pela assimilação de CO₂ atmosférico, mostrando a existência de outras formas de limitação da transformação de CO₂ em carboidratos, impostas pelo déficit hídrico.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. DE; CRÓCOMO, O. J. Caracterização bioquímica de cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.): isoenzimas, proteína solúvel e valor brix. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 3, p. 422-429, 1994.

ARGENTA, G. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

ARIAS, M. I. B.; DELGADO, E. O.; CARMENATE, R. V. **Cambios fisiológicos de la caña de azúcar ante el déficit hídrico**. 1. ed. México: Universidad Autónoma Chapingo, 1996. 135 p.

ARRAZATE, C. H. A. et al. Comparación de la tolerancia a la sequía de cuatro variedades de maíz (*Zea mays* L.) y su relación con la acumulación de prolina. **Interciencia**, v. 30, n. 9, p. 79-91, 2005.

ARTLIP, T. S.; WISNIEWSKI, M. E. Induction of proteins in response to biotic and abiotic stresses. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of Plant and Crop Physiology**. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 2001, p. 657 - 680.

BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BELTRÃO, N. E. DE M.; FIDELES FILHO, J.; FIGUEIRÊDO, I. C. DE M. Uso adequado de casa-de-vegetação e telados na experimentação agrícola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 547-552, 2002.

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

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

BERGONCI, J. I. et al. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 949-56, 2001.

BERGONCI, J. I.; PEREIRA, P. G. Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 10, p. 229-235, 2002.

BIANCHI, C. A. M. et al. Ajuste osmótico em milho cultivado em diferentes sistemas de manejo de solo e disponibilidade hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 645-651, 2005.

BOHNERT, H. J.; SHEN, B. Transformation and compatible solutes. **Scientia Horticulturae**, v. 78, n. 1, p. 237-260, 1999.

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

BRAY, E.A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1035-1040, 1993.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 48-54, 1997.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005. cap. 2, p. 95-104.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO_CCTA_1629_1112121492.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2008.

COCKING, E. C.; YEMM, E. W. Estimation of amino acids by ninhydrin. **Biochemical Journal**, v. 58, p. 12-13, 1954.

CRUZ, R. F. D. DA. **Indução e recuperação do stresse hídrico em variedades portuguesas de milho**. 2006. 182 p. Dissertação Mestrado-Universidade do Minho, Portugal, 2006.

DUBEY, R. S. Photosynthesis in plant under stressful conditions. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of Photosynthesis**. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 1997. p.859-875.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

ENNAHLI S.; EARL H. J. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress. **Crop Science**, v. 45, p. 2374-2382, 2005.

FAUCONNIER, R.; BASSEREAU, D. **La caña de azúcar: técnicas agrícolas y producciones tropicales**. Barcelona: Blume, 1975. 433 p.

FAO. **Food production and security**. 2000. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spush/topic1.htm#brazil>>. Acesso em: 20 mar. 2008.

FUMIS, T. DE F.; PEDRAS, J. F. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 449-453, 2002.

GÁBORČÍK, N. Relationship between Contents of Chlorophyll (a+b) (SPAD values) and Nitrogen of Some Temperate Grasses. **Photosynthetica**, v. 41, n. 2, p. 285-287, 2003.

GALBIATTI, J. A. et al. Efeito de diferentes períodos de irrigação no desenvolvimento, produção e qualidade de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 2, p. 301-308, 2004.

GIMÉNEZ, C.; MITCHELL V. J.; LAWLOR, D. W. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. **Plant Physiology**, v. 98, p. 516-524, 1992.

GHANNOUM, O. et al. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C₄ grasses. **New Phytologist**, v. 159, p. 599-608, 2003.

GHEYI, H. R. Problema de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T. S.; ASSIS JÚNIOR, R.N.; ROMERO, R.E.; SILVA, J.R.C. (Eds.). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza, CE: UFC, 2000. p. 329-346.

GONÇALVES, E. R. **Estresse salino na fase inicial de crescimento vegetativo da cana-de-açúcar**. 2006. 54 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - UFAL, Alagoas, 2006.

HASEGAWA, P. M. et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biological**, v. 51, p. 463-499, 2000.

HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in comparative plant ecology - a laboratory manual**. 1 ed. London: Chapman & Hall, 1993, 252 p.

HERMANN, E. R.; Câmara, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v. 17, p. 32-34, 1999.

HEUER, B. Photosynthetic carbon metabolism of crops under salt stress. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of Photosynthesis**. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 1997. p. 887-896.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 mar. 2008.

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

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

JEANNEAU, M. et al. Manipulating PEPC levels in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 376, p. 1837-1845, 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP: RiMa, 2004. 531 p.

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

LICHTENTHALER, H. K.; MIEHÉ, J. A. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 316-320, 1997.

LISSON, S. N. et al. The historical and future contribution of crop physiology and modelling research to sugarcane production systems. **Field Crops Research**, v. 92, p. 321-336, 2005.

MAAS, E. V.; HOFFMAN, G. J. Crop salt tolerance - current assessment. **Journal of Irrigation and Drainage Division**, v. 103, p. 115-134, 1977.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – A practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

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

NABLE, R. O.; ROBERTSON, M. J.; BERTHELSEN, S. Response of shoot growth and transpiration to soil drying in sugarcane. **Plant and soil**, v. 207, p. 59-65, 1999.

O'NEIL, P. M.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, v. 46, p. 681-687, 2006.

OLIVEIRA, R. A. DE. et al. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, em cana-planta, no Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v. 5, n. 1-2, p. 87-94, 2004.

OLIVEIRA, R. A. DE. et al. Área foliar em três cultivares de cana-de-açúcar e sua correlação com a produção de biomassa. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 2, p. 71-76, 2007.

PARIDA, A. K. et al. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. **Plant Biotechnology Reports**, v. 1, p. 37-48, 2007.

PIMENTEL, C. Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 2021-2027, 1999.

PIMENTEL, C. Respostas fisiológicas à falta d'água: limitação difusiva ou metabólica? In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005. cap. 1, p. 13-21.

PINHO, J. L. N. DE.; ANSEL, D. Evolução do teor de prolina em cultivares de milheto (*Pennisetum americanum* L.) e sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] em resposta ao estresse hídrico. **Ciência Agrônômica**, v. 26, n. 1-2, p. 1-9, 1995.

PRISCO, J. T. Alguns aspectos da fisiologia do “stress” salino. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 3, p. 85-94, 1980.

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

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. 1995. Disponível em: <<http://www.residenciaagronomica.ufpr.br/bibliografia/MATURAD.pdf>>. Acesso em: 20 mar 2008.

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.

SCHOLES, J. D.; HORTON, P. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence: simultaneous measurements. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Ed.). **Methods in comparative plant ecology - a laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. p.130-135.

SEAG-ES. **Cana-de-açúcar**. Secretaria de Agricultura do Espírito Santo. Disponível em: <http://www.seag.es.gov.br/setores/cana-de-acucar/?cd_matia=88&cd_site=53>. Acesso em: 20 mar 2008.

SIDDIQUE, M. R. B.; HAMID, A.; ISLAM, M. S. Drought stress effects on water relations of wheat. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 45, p. 31-39, 2000.

SINGELS, A. et al. The effect of crop start date, crop class and cultivar on sugarcane canopy development and radiation interception. **Field Crops Research**, v. 92, p. 249-260, 2005.

SILVA, J. V. et al. Distribuição do sistema radicular em variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., 2005, Recife. **Anais...** Recife: DataAgros, 2005. 1 CD-ROM.

SILVA, M. M. P. DA. et al. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 67-74, 2006.

SILVA, M. DE 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.

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

STEUDLE, E. Water uptake by roots: effects of water deficit. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 350, p. 1531-1542, 2000.

STEUDLE, E.; PETERSON, C.A. How does water get through roots?. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 322, p. 775-788, 1998.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

SZABOLCS, I. Soil and salinization. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of Plant and Crop Stress**. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 1994. p.3-11.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719 p.

TAYLOR, C. B. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. **Plant Cell**, v. 8, p. 1221-1224, 1996.

TEJERA, N. A. et al. Comparative analysis of physiological characteristics and yield components in sugarcane cultivars. **Field Crops Research**, v. 102, p. 64-72, 2007.

TESTER, M.; BACIC, A. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. **Plant Physiology**, v. 137, p. 791-793, 2005.

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

VAN DEN BERG, A. K.; PERKINS, T. D. Evaluation of a portable chlorophyll meter to estimate chlorophyll and nitrogen contents in sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) leaves. **Forest Ecology and Management**, v. 200, p. 113-117, 2004.

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

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. et al. Biological mechanisms of drought stress response. **JIRCAS Working Report**, v. 23, n. 1-8, 2002.

YEO, A. R. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. **Scientia Horticulturae**, v. 78, n. 159-174, 1999.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M. B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. **Journal of Plant Physiology**, v. 149, p. 489-493, 1996.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.

ZOTARELLI, L. et al. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1117-1122, 2003.

Bibliografia elaborada segundo orientações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT – NBR 6023 – AGO 2002).