



HUGO RAFAEL BENTZEN SANTOS

**ABORDAGEM MULTIVARIADA DE
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS
FOLIARES DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB
ESTRESSE HÍDRICO**

LAVRAS-MG

2015

HUGO RAFAEL BENTZEN SANTOS

**ABRODAGEM MULTIVARIADA DE CARACTERÍSTICAS
FISIOLÓGICAS FOLIARES DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB ESTRESSE
HÍDRICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa

LAVRAS-MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Santos, Hugo Rafael Bentzen.
Abordagem Multivariada de Características Fisiológicas
Foliares de Cana-de-açúcar sob Estresse Hídrico / Hugo Rafael
Bentzen Santos. – Lavras : UFLA, 2015.
70 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.
Orientador(a): João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa.
Bibliografia.

1. Saccharum spp. 2. Fotossíntese. 3. Peroxidação lipídica. 4.
Prolina. 5. ACP. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

HUGO RAFAEL BENTZEN SANTOS

**ABORDAGEM MULTIVARIADA DE CARACTERÍSTICAS
FISIOLÓGICAS FOLIARES DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB ESTRESSE
HÍDRICO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 20 de novembro de 2015.

Dra. Milene Alves de Figueiredo Carvalho	EMBRAPA Café
Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Dr. Luiz Edson Mota de Oliveira	UFLA
Dra. Vânia Aparecida Silva	EPAMIG

Dr. João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa
Orientador

LAVRAS-MG

2015

*A minha família que sempre proporcionou um
lar repleto de honestidade e felicidade, além de ter apresentado
valores que levo no meu crescimento
pessoal e profissional.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre ter iluminado meus caminhos e por ter me dado força e proteção para eu ter chegado neste ponto da minha vida, e que com certeza da mesma forma iluminará os caminhos que irei seguir adiante;

Aos meus pais e minha fonte de inspiração, Manoel Santos e Graça Bentzen, por todo o suporte necessário, para que eu trilhasse de maneira correta meu caminho durante a minha vida;

Aos meus irmãos Erika, Leonardo e Camila por todos os momentos de felicidades compartilhadas;

A Universidade Federal de Lavras e aos professores pela oportunidade concedida de poder fazer o doutorado, disponibilizar as instalações para realização deste trabalho e por todo conhecimento adquirido;

À empresa Bocaina Agroindústria e Comércio de Cachaça Ltda pela concessão do material vegetal de suma importância para a realização deste trabalho;

Ao meu orientador Dr. João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa, pela orientação e exemplo de profissionalismo a ser seguido;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de apoio financeiro através de bolsa e recursos para a execução do projeto de doutorado;

A toda equipe do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Funcionamento de Ecossistema (Ane Marcela, Mário, Maíra, Ana Luisa, Nayara, Suelen, Vanessa, Daynara, Geovanni, Bernardo, Vicente, Fernanda) pela ajuda na condução e análises realizadas no experimento, especialmente ao pós doutorando Jean pela ajuda na realização da análise estatística;

A equipe do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas, principalmente a pós doutoranda Kamila por toda ajuda para a realização das enzimas antioxidantes;

Aos colegas da Fisiologia Vegetal pela convivência,

Aos meus amigos Marília, Michele, Márcio, Lucas e Paulo pelos momentos divertidos vividos e fizeram que os anos passassem rapidamente em Lavras;

E a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho....

Muito Obrigado!

*"A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original"*

Albert Einstein

RESUMO

A cana-de-açúcar é uma das commodities agrícolas mais importantes do mundo, sendo a principal matéria-prima para produção de açúcar e bioenergia. A expansão da área de cultivo e o aumento da produtividade para esta cultura têm sido comprometidas devido à baixa disponibilidade hídrica presente em algumas áreas. Os eventos de seca dos últimos quatro anos que afetam fortemente a produtividade de canaviais implantados no Sudeste do Brasil, tem induzido a procura por cultivares mais tolerantes às secas sazonais contribuindo para redução de impactos negativos sobre a produção da cultura. Dessa forma, objetivou-se verificar a capacidade de ajuste de curto prazo de respostas fisiológicas foliares que permitam a homeostase das três cultivares de canas-de-açúcar mais cultivadas em Minas Gerais frente a diferentes níveis de restrição hídrica impostos por polietilenoglicol-PEG 6000. Conduzido em casa de vegetação, o experimento foi realizado com as cultivares RB 867515, SP 80-1816 e SP 81-3250 submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico induzidos por PEG (primeiro ciclo 0; -0,1; -0,3 e -0,6MPa / terceiro ciclo 0; -0,2; -0,6 e -1,2MPa) e reidratação. Foram avaliados os aspectos fisiológicos foliar e comportamental das cultivares, através de suas trocas gasosas, potencial hídrico foliar, atividade das enzimas do sistema antioxidantes, teor de peróxido de hidrogênio e quantidade de malonaldeído e os dados submetidos à análise de componentes principais. A cultivar RB 867515 apresentou as maiores reduções nas trocas gasosas, em relação às demais cultivares, chegando a ter diminuição em 90 e 97% para a fotossíntese e condutância estomática respectivamente. O potencial hídrico foliar chegou a atingir -1,98MPa na cultivar SP 81-3250 a déficit hídrico de -1,2 MPa. A peroxidação lipídica chegou a ser superior 192% no tratamento a -1,2MPa na cultivar SP 81-3250. O aumento de prolina para os tratamentos mais estressados foi pronunciado para as cultivares SP 80-1816 e RB 867515, enquanto em estresse intermediário a acúmulo de carboidratos e proteínas foi mais pronunciado na SP 82-3150. Durante a reidratação todas as variáveis fisiológicas estudadas voltaram a ter níveis normais iguais ao do tratamento controle. Mostrando uma rápida readaptabilidade das plantas. As cultivares SP 80-1816 e SP 81-3250 apresentaram a maior e a menor plasticidades a altos níveis de déficit hídrico em curto prazo, respectivamente. A RB 867515 juntamente com a SP 80-1816 aumentaram os níveis de prolina no intuito de diminuir as enzimas antioxidantes no tratamento mais severo, enquanto a SP 81-3250 teve um aumento no teor de carboidratos e proteína na tentativa de manter sua turgescência em tratamentos intermediários.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Fotossíntese. Peroxidação lipídica. Prolina. ACP.

ABSTRACT

The sugarcane is one of the most important agricultural commodities in the world, being the main raw material for sugar production and bioenergy. The expansion of cultivated area and increased productivity for this crop have been limited by low water availability present in some areas. Drought events of the past four years strongly have affected the productivity of sugarcane deployed in southeastern Brazil, has induced the demand for more cultivars tolerant to seasonal droughts contributing to reduction of negative impacts on crop production. Thus, the aim of this work was to analyze short-term adjustment capacity of foliar physiological responses that would allow the homeostasis of three most cultivated varieties of sugar-cane in Minas Gerais subjected to different water stress levels imposed by polyethylene glycol-PEG 6000. The experiment was conducted in a greenhouse, RB 867515, SP 80-1816 and SP 81-3250 cultivars were submitted to different levels of water stress induced by PEG (first cycle 0, -0.1, -0.3 and -0.6MPa / third cycle 0, -0.2, -0.6 and -1.2MPa) and rehydration. The variables analyzed were leaf physiological and behavioral aspects of cultivars, through its gas exchange, leaf water potential, antioxidant enzyme activities, hydrogen peroxide content and amount of malondialdehyde and all data was submitted to principal component analysis. The cultivar RB 867 515 showed the largest decreases in gas exchange, compared to other cultivars, decreased by 90 and 97% for photosynthesis and stomatal conductance, respectively. The leaf water potential reached up to -1.98MPa in the cultivar SP 81-3250 during stress -1.2MPa. Lipid peroxidation was even higher than 192% in the treatment -1.2MPa the cultivar SP 81-3250. The increase of proline for the most stressed treatments was pronounced for SP 80-1816 and RB 867515 cultivars, while in intermediate stress the accumulation of carbohydrates and protein was more pronounced in the SP 82-3150. During rehydration all physiological variables returned to normal levels equal to the control showing a quick resilience of plants. SP 80-1816 and SP 81-3250 cultivars showed the highest and lowest plasticity to high levels of water stress during short term, respectively. RB 867515 along with the SP 80-1816 increased proline levels in order to reduce the antioxidant enzymes in the most severe treatment, while SP 81-3250 had an increase in carbohydrate and protein content in an attempt to maintain its turgor when placed in intermediary treatments.

Keywords: *Saccharum* spp. Photosynthesis. Lipid Peroxidation. Proline. PCA.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática do período experimental, explicitando os tratamentos para cada ciclo e quais variáveis fisiológicas foram analisadas em cada tempo.....**31**
- Figura 2.** Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar durante o período experimental da casa de vegetação**38**
- Figura 3.** Análise de componente principal - ACP das variáveis fisiológicas: fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), teor relativo de água (TRA), proteína (PTN), carboidratos (CHOs), peroxidação lipídica (MDA), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), potencial hídrico foliar (Potencial), prolina (PRO), catalase (CAT), dismutase do superóxido (SOD) e peroxidase do ascorbato (APX), de três cultivares de cana-de-açúcar submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000**40**
- Figura 4.** Comportamento da fotossíntese líquida em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000**42**
- Figura 5.** Comportamento da condutância estomática em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**44**
- Figura 6.** Comportamento do potencial hídrico foliar em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**46**
- Figura 7.** Peroxidação lipídica em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**48**
- Figura 8.** Quantidade de prolina livre em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**50**
- Figura 9.** Quantidade de carboidratos solúveis totais em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**53**
- Figura 10.** Quantidade de proteínas totais em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.....**54**
- Figura 11.** Score da análise de componente principal do comportamento de três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000**57**

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1.	A cana-de-açúcar	14
2.2.	Disponibilidade Hídrica.....	17
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1.	Trocas Gasosas.....	32
3.2.	Potencial Hídrico Foliar e Teor Relativo de Água	32
3.3.	Solutos Orgânicos	33
3.4.	Enzimas do Metabolismo Antioxidante.....	34
3.5.	Peróxido de Hidrogênio e Peroxidação Lipídica.....	35
3.6.	Análise Estatística	36
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59
	ANEXOS.....	69

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma das principais culturas agrícolas do Brasil e do mundo devido à sua excepcional habilidade em produzir matéria seca. A cana é matéria prima para cerca de 80% do açúcar produzido mundialmente, além de ser fonte de bioenergia (etanol e eletricidade) contribuindo, dessa forma, para alimentação e o fornecimento de energia renovável para suprir as demandas de grande parte da população mundial (FAROOQ et al., 2015).

Com as estimativas de crescimento populacional para cerca de 9 bilhões em 2050, sabe-se que a demanda por alimento e energia renovável também irá aumentar. Devido à necessidade em aumentar a produtividade nas áreas já cultivadas e pela busca por novas áreas para o cultivo da cana-de-açúcar no Brasil, o entendimento dos padrões de comportamento fisiológico das cultivares mais plantadas à condições adversas é imprescindível sob dois aspectos: i) para identificação de cultivares produtivas e ao mesmo tempo aptas para cultivo em diferentes ambientes e ii) para compreender e mitigar, através de manejo, os impactos potenciais de eventos de seca sobre a produtividade.

Para a cana-de-açúcar cultivada na Bacia do Rio Grande, no Sudeste do Brasil, a disponibilidade da água é o fator ambiental mais limitante para a produtividade (MELO et al., 2015; PENNACCHI et al., 2015). Os eventos de seca dos últimos quatro anos afetaram fortemente a produtividade de canaviais implantados no Sudeste do Brasil, mesmo que a produção total tenha sido elevada pela abertura de novas áreas (CONAB, 2014). Isso indica que o plantio de cultivares mais tolerantes à secas sazonais pode contribuir para redução de impactos negativos de eventos de seca sobre a produção da cultura (AZEVEDO et al., 2011; EFEOĞLU; EKMEKÇI; ÇIÇEK, 2009).

A redução de água disponível no solo acarreta diminuição do potencial hídrico foliar, limitações na fotossíntese devido à razões estomáticas e não

estomáticas, provocando impacto negativo no crescimento e desenvolvimento das plantas, com consequente diminuição de produtividade.

Além disso, a baixa disponibilidade hídrica promove estresse oxidativo nas células, devido ao extravasamento de eletrólitos em direção ao O₂ durante os processos fotossintético e respiratório levando ao aumento na formação de espécies reativas de oxigênio – EROs (MURSHED; LOPEZ-LAURI; SALLANON, 2013).

Nesse contexto, questiona-se como as principais cultivares de cana-de-açúcar plantadas no estado de Minas Gerais (40% do total composto por três cultivares: RB 867515, SP 80-1816 e SP 81-3250) se comportarão durante e após eventos de escassez de água de diferentes intensidades, mas com duração semelhante? E como eventos recorrentes afetam sua capacidade de ajuste à essa condição adversa?

Estudos utilizando abordagens experimentais capazes de testar e avaliar de forma isolada os impactos dos fatores adversos são indispensáveis para uma compreensão mais precisa e detalhada dos mecanismos fisiológicos capazes de conferir ajustes às plantas, impedindo ou reduzindo respostas negativas sobre a produção de matéria seca. Uma das técnicas empregada para esse tipo de abordagem diz respeito ao cultivo em meio contendo Polietilenoglicol (PEG) (HAMAYOUN; DALIRI; MEHRABI, 2011; PATADE; BHARGAVA; SUPRASANNA, 2011; MONTEIRO et al., 2014; PYNGROPE; BHOMIKA; DUBEY, 2013; SOLIMAN; HENDAWY, 2013).

Assim, objetivou-se verificar a capacidade de ajuste de curto prazo de respostas fisiológicas foliares que permitam a homeostase das três cultivares de cana-de-açúcar mais cultivadas em Minas Gerais frente a diferentes níveis de restrição hídrica imposta por PEG.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea pertencente à divisão Magnoliophyta, classe Liliopsida, subclasse Commelinidae, ordem Cyperales, família Poaceae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum* (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). O gênero *Saccharum* é composto por seis espécies (Cronquist, 1981) e de alguma maneira um ou mais tipos de espécies podem estar participando geneticamente das cultivares atuais (CHAVES, 2007).

Apresenta ciclo semiperene cujo desenvolvimento completo pode variar de nove a trinta e seis meses. Planta alógama que apresenta uma elevada rusticidade, sendo cultivada numa ampla faixa de latitude de 35° N a 30° S e em altitudes que variam desde o nível do mar até 1.000 metros, dessa forma, adaptada ao clima tropical, quente e úmido, com temperatura entre 19 °C a 32 °C (MARQUES; MARQUES; TASSO JÚNIOR, 2001). Essa ampla faixa de cultivo é devido ao fato das cultivares atuais serem formadas por híbridos interespecíficos criados pelos programas de melhoramento genético, onde foram incorporadas características para maior resistência e/ou maior adaptabilidade às diversas condições ambientais, além do aprimoramento das características agrônômicas (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 1999).

O ciclo vegetativo da cana-de-açúcar pode ser dividido em quatro estádios: o primeiro caracteriza-se pela brotação e emergência da gema. No segundo ocorre o perfilhamento e o estabelecimento da arquitetura foliar. O estádio subsequente é caracterizado pelo crescimento da planta e o quarto ocorre quando os colmos estão no ponto de colheita (FAUCONIER; BASSEREAU, 1975).

Por ser uma planta de metabolismo C4, a cana-de-açúcar apresenta elevada taxa fotossintética e maior eficiência na utilização de gás carbônico (CO₂)

da atmosfera, permitindo ser muito bem adaptada a produção de biomassa em regiões tropicais. Esta cultura, embora adaptada às condições de elevada intensidade luminosa e altas temperaturas, necessita de grandes quantidades de água, uma vez que somente 30% do peso constitui-se de massa seca e 70% de água, dependendo do estágio fenológico. A capacidade de assimilação hídrica pelas folhas da cana-de-açúcar é superior às outras gramíneas, de forma que o orvalho e os chuveiros, que não atingem o solo, também podem ser absorvidos. No entanto, as raízes, através dos pelos absorventes, apresentam maior capacidade de absorção de água (SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006).

A cana-de-açúcar é uma cultura eficiente e econômica no uso da água, mesmo assim apresenta um alto consumo, necessitando de cerca de 2000 mm por ano para ter um pleno desenvolvimento (HEMAPRABHA; NAGARAJAN; ALARMELU, 2004), sendo portanto, necessários 250 g de água para formar 1 g de matéria seca durante seu crescimento (ENDRES et al., 2010).

Importância Econômica

A cana-de-açúcar é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo tropical, gerando milhares de empregos diretos e indiretos. É uma das melhores opções de fonte de energia renovável e produção de biocombustíveis, o que pode justificá-la como uma importante cultura no Brasil e no mundo, cujas perspectivas são extremamente favoráveis a médio e longo prazo. Além disso, a cana-de-açúcar é uma importante fonte de renda e desenvolvimento, pois é a principal matéria-prima para a fabricação do açúcar, na produção de energia elétrica (bagaço, briquete), combustível (etanol), bebida (aguardente e cachaça - esta última denominação exclusivamente brasileira), pode ser utilizada como forrageira na forma in natura e também na construção civil. Estudos têm apontado ainda o potencial das cinzas do bagaço de cana-de-açúcar como possível

substituto do cimento e areia (CARDONA; QUINTERO; PAZ, 2010; DIOLA; SANTOS, 2010; SALES; LIMA, 2010).

A cana-de-açúcar é cultivada em mais de 120 países, tendo o Brasil como maior produtor mundial, detendo pouco mais de um terço da cana cultivada mundialmente e continua no caminho para aumentar sua produção e consequentemente a de açúcar e etanol. Além do Brasil, destacam-se na produção de cana-de-açúcar os países Índia, China, Paquistão, México, Tailândia, Colômbia, Austrália, Indonésia, Estados Unidos da América, África do Sul e Filipinas.

Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2015), a previsão da safra 2015/2016 é de 663,110 milhões de toneladas, o que representa um incremento de 4,5% em relação à safra anterior, com uma produtividade média estimada em 73.214 kg/ha. A área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira está estimada em 9.057,2 mil hectares, distribuídos em todos estados produtores.

O Estado de São Paulo é o maior produtor com 51,3% (4.648,2 mil hectares), seguido por Goiás com 10% (908 mil hectares), Minas Gerais com 9% (817,7 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 7,9% (713,7 mil hectares), Paraná com 6,8% (613,4 mil hectares), Alagoas com 4,2% (380,3 mil hectares), Pernambuco com 3% (273,4 mil hectares) e Mato Grosso com 2,5% (230,3 mil hectares).

A previsão para a produção de açúcar é de 37,67 milhões de toneladas, já para a produção de etanol deverão ser produzidos 28,82 bilhões de litros, onde a divisão dos produtos será de 12,08 bilhões de litros de etanol anidro e 16,74 bilhões de litros de etanol hidratado (CONAB, 2015).

O Estado de Minas Gerais tem evoluído nos últimos 10 anos, apresentando grande destaque para a cultura canavieira, passando da quarta posição na safra 2004/2005 para a terceira posição na safra 2013/2014, entretanto

chegou a alcançar o segundo lugar em produção de cana-de-açúcar três vezes seguidas nas safras de 2009/2010 e a de 2011/2012. O estado apresenta uma área de produção de aproximadamente 818 mil ha alcançando o terceiro lugar na safra 2015/2016, porém é o segundo colocado na produção de açúcar, totalizando quase 27 milhões de toneladas, perdendo apenas para o estado de São Paulo (CONAB, 2015).

Essa evolução nos últimos 10 anos, pode ser caracterizada principalmente pelo aumento no número de implantações de usinas no estado. Existia cerca de 21 usinas até o ano de 2003 e nos anos seguintes mais 19 usinas foram implantadas, nas mais diversas áreas de cultivo de Minas Gerais. As principais áreas de cultivo canavieiro são o Triângulo Mineiro, Noroeste de Minas e o Alto do Parnaíba correspondendo juntos a mais de 80% da produção estadual e nessas mesmas áreas esta presente cerca de 70% de todas as usinas implantadas no estado (SIAMIG, 2012). Esse aumento no número de usinas esta relacionada diretamente a uma expansão na área de cultivo e, conseqüentemente, promove incremento na mão-de-obra para o setor sucroenergético mineiro saltando de 49 mil trabalhadores em 2004 para aproximadamente 78 mil em 2011.

DISPONIBILIDADE HÍDRICA

O déficit hídrico é considerado o fator ambiental mais importante na limitação da expansão e desenvolvimento agrícola (BATISTA et al., 2010; GHANNOUM, 2009; NOGUEIRA et al., 2001) pois provoca alterações na composição química, biológica e física do solo. Além disso, modifica o metabolismo e comportamento vegetal, que de acordo com Wang, Vinocur e Altman (2003) acarreta em mudanças fisiológicas, bioquímicas e moleculares, cuja irreversibilidade e efeitos dependerão do genótipo, duração, severidade, velocidade de imposição e estágio de desenvolvimento da planta (KRAMER;

BOYER, 1995; KUMARI et al., 2014; PIMENTEL, 2004; SANTOS; CARLESSO, 1998; TESTER; BACIC, 2005).

Quando a ocorrência do déficit hídrico é rápida, os mecanismos morfofisiológicos são severamente afetados e a planta necessita se adaptar a essa nova situação. Desta forma, plantas conduzidas sob irrigação normalmente apresentam menor adaptação a situações de déficit hídrico no solo em relação a plantas submetidas ao déficit hídrico gradual ou à deficiência de água no solo no início do seu ciclo. A adaptação das plantas ao déficit hídrico constitui um importante mecanismo de resistência para a manutenção do processo produtivo em condições de baixa disponibilidade de água às plantas (SANTOS; CARLESSO, 1998).

As plantas de maneira geral, assim como a cana-de-açúcar, podem ser afetadas por vários fatores abióticos de estresse, tais como baixa e alta temperaturas, salinidade, radiação, seca, inundação e toxicidade por metais pesados, acarretando redução de produtividade e causando perdas socioeconômicas na produção da cana-de-açúcar em todo o mundo. Contudo, as perdas devido ao déficit hídrico, ultrapassam as perdas de todos os outros fatores combinados, uma vez que na maioria das áreas onde se desenvolve o cultivo de cana-de-açúcar é comum apresentarem uma pluviosidade escassa ou irregular, ocasionando, muitas vezes, uma deficiência hídrica no solo (AZEVEDO et al., 2011; BARBOSA et al., 2014; MAHAJAN; TUTEJA, 2005; MEDEIROS et al., 2014; WOOD, 2005;).

As plantas submetidas à redução no suprimento de água podem estabelecer estratégias para minimizar as necessidades fisiológicas e conseguir sobreviver com perda mínima do seu conteúdo líquido. Diversos pesquisadores (NOGUEIRA; SANTOS, 2000; INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; MENDES et al., 2007; SILVA et al., 2008; GUO et al., 2010; LI et al., 2010; MARTINS et al., 2010) vêm estudando os efeitos do estresse hídrico sob as variáveis

fisiológicas das mais diversas espécies de plantas, na sua grande parte em culturas de importância comercial.

Segundo Teare e Peet (1983), a diminuição no conteúdo de água na célula, geralmente quando alcança níveis abaixo de 75%, pode provocar mudanças estruturais e em casos extremos levar morte da planta. Algumas mudanças fisiológicas que ocorrem nas plantas quando submetidas a déficit hídrico estão relacionados à:

(i) Respostas Estomáticas e Fotossíntese (Trocias Gasosas) – a resposta estomática pode estar envolvida tanto num suprimento de água insatisfatório, quanto devido a uma alta demanda evaporativa, ocasionando o fechamento dos estômatos. O fechamento estomático considerado como primeira linha de defesa do vegetal para evitar o dessecamento, porém, isto causa uma maior redução do fluxo de H₂O para fora da folha do que no fluxo de CO₂ que chega aos cloroplastos, reduzindo mais a taxa transpiratória que a taxa fotossintética (NOBEL, 2009). No entanto, protege o aparato fotossintético e a ultraestrutura cloroplástica, diminuindo o efeito da falta de água, através do aumento da eficiência do uso da água e permitindo uma recuperação mais rápida, na reidratação (PIMENTEL, 2004; BENEŠOVÁ et al., 2012).

Restrição na concentração interna de CO₂, como uma consequência indireta do fechamento estomático, promove aumento na susceptibilidade aos danos fotoquímicos, devido aos níveis altos de energia radiante que chegam ao PSII promovendo conjuntamente baixas taxas na assimilação de CO₂. Em condições de déficit hídrico a transpiração decresce, pois esta associada à turgescência das células-guarda. A taxa da resistência difusiva estomática se eleva devido à desidratação e conseqüente fechamento dos estômatos o que dificulta a saída de água e aumenta a temperatura foliar, pois como a transpiração foi reduzida, uma menor dissipação de calor para atmosfera será promovida (CAIRO, 1995; SILVA et al., 2004).

A fotossíntese e conseqüentemente o crescimento da planta estão entre os processos que são afetados pela baixa disponibilidade hídrica no solo. O déficit hídrico pode afetar a fotossíntese diretamente ou indiretamente pelo decréscimo na disponibilidade de CO₂. Essa redução de CO₂, para a realização da fotossíntese, pode ser causada pela limitação da difusão do gás também nos espaços intercelulares da folha, devido à redução na abertura estomática, o que acarreta em alterações no metabolismo de carbono (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009), principalmente quando na planta é imposta a uma situação leve de seca. No entanto, quando essa baixa disponibilidade hídrica é intensificada as limitações da fotossíntese passa a ser relacionada aos processos não estomáticos, principalmente devido a uma redução da condutância mesófila e de danos causados ao aparato fotoquímico (SILVA et al., 2010). Uma vez que menor condutância pode reduzir a quantidade de CO₂ que chega ao local de carboxilação onde a RUBISCO atua.

A condutância mesófila que é definida como a capacidade/facilidade que o CO₂ tem em passar pelas fases líquida e gasosa do citosol, e por diversas barreiras que esse CO₂ encontrará até chegar dentro do cloroplasto como os espaços intercelulares, a parede celular, o plasmalema e a própria camada que reveste o cloroplasto. Porém, quando a planta está em condições de baixa disponibilidade hídrica são apresentadas a sua anatomia foliar modificações que vem a dificultar essa passagem do CO₂ como o engrossamento da parede celular e células menores e mais densamente agrupadas (LAWSON; BLATT, 2014).

Além dos fatores supracitados, a diminuição da fotossíntese sob estresse hídrico pode estar relacionada com redução de tamanho e proporção que ficam as folhas ou então pode estar ligada a uma maior senescência das folhas diminuindo a captação e diminuição da área fotossinteticamente ativa (XING; WU, 2012).

(ii) Crescimento – Muitas plantas tentam evitar ou escapar do estresse hídrico através da redução de sua área foliar, que é um importante fator de

produção, acarretando assim uma menor formação de fotoassimilados que promoveriam seu pleno desenvolvimento. Sob déficit hídrico, o equilíbrio entre a produção de assimilados e a demanda durante o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos é severamente afetado pela redução da área foliar fotossinteticamente ativa. As folhas de cana-de-açúcar quando submetidas à deficiência hídrica tornam-se mais espessas, ocorre um enrolamento que segundo Lisson et al. (2005) reduz a projeção da área foliar diminuindo a radiação incidente sobre as mesmas. Essas folhas tendem a formar substâncias de proteção na superfície como suberina, cutina e resinas reduzindo a perda de água pela epiderme.

O déficit hídrico tende a estimular o crescimento do sistema radicular para as zonas mais profundas, essa expansão radicular ocorre por causa do secamento da superfície do solo, o que leva as raízes a promoverem uma absorção de água nas camadas mais profundas do solo que ainda tem água disponível (CALVACHE et al., 1997). Segundo Ball, Oosterhuis e Mauromoustakos (1994) as raízes pequenas são mais sensíveis ao déficit hídrico do que as raízes médias e grandes. A razão entre a biomassa das raízes com a parte aérea tende a ser maior nas plantas sob déficit hídrico, sendo esta razão dependente do balanço entre a absorção de água pelas raízes e a fotossíntese pela parte aérea.

(iii) Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w) – O potencial hídrico representa a energia livre associadas as moléculas de água, sendo que maior Ψ_w maior energia livre para realizar trabalho, da mesma forma que menor Ψ_w menor energia livre para realizar trabalho. O potencial hídrico da folha, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera, decresce na presença do déficit de água. Embora haja variação ao longo do dia, esse parâmetro descreve o estado hídrico da folha, e tem sido muito utilizado em estudos das relações hídricas dos vegetais, sobretudo quando as plantas são submetidas a algum tipo de estresse hídrico (BERGONCI et al., 2000).

Diversos autores (BERGONCI et al., 2000; FERNANDES; CAIRO; NOVAIS, 2015; SILVA et al., 2001; SMIT; SINGELS, 2006) têm provado que com o aumento da escassez hídrica no solo acaba por refletir na turgescência e condutância acarretando numa menor alocação de seiva nas folhas, apresentando gradativamente uma diminuição do potencial hídrico foliar.

(iv) Ajustamento Osmótico – Quando as plantas estão sujeitas ao déficit hídrico tendem a responder com acúmulo de compostos não tóxicos de baixo peso molecular, conhecidos como solutos compatíveis. Esse aumento na concentração intracelular de solutos osmoticamente ativos, acarreta na diminuição do potencial osmótico e conseqüentemente ajuda a manter o potencial hídrico em níveis normais ou mais elevados, devido fenômeno este chamado de ajustamento osmótico (BRAY, 1993; CHAVES FILHO; STACCIARINI-RERAPHIN, 2001; NOGUEIRA; SILVA, 2002, QUEIROZ et al., 2011). O ajustamento osmótico produz um potencial osmótico mais negativo, ajudando assim a manter o movimento da água para as folhas e raízes, devido à manutenção da absorção de água, graças à diferença de concentração dos potenciais osmóticos e hídrico e conseqüentemente favorecendo a manutenção da turgescência dos mesmos órgãos, garantindo a integridade da membrana plasmática e crescimento nas regiões meristemáticas.

De acordo com Queiroz et al. (2008), a habilidade que algumas espécies tem em se ajustar osmoticamente suas células sob condições de estresse hídrico é uma resposta bioquímico-fisiológica que indica a capacidade destas plantas em tolerar períodos curtos de seca, proporcionando à planta a continuar a expansão celular, favorecendo o crescimento vegetal.

Este ajustamento osmótico é atribuído à síntese e absorção dos solutos orgânicos de baixo peso molecular tais como: açúcares, prolina, aminoácios, alcoóis, entre outros compostos (SILVA et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2008). O acúmulo desses solutos compatíveis por não serem nocivos ao metabolismo

celular, podem se acumular em altas concentrações e diminuir o potencial osmótico no interior das células, mantendo a absorção de água e a pressão de turgor das células, o que concorre para a continuidade dos processos fisiológicos, ainda que em níveis menores (MARIJUAN; BOSCH, 2013).

Durante muito tempo a prolina era considerada um soluto compatível inerte que protegia apenas estruturas subcelulares e macromoléculas em situação de estresse osmótico. No entanto, diversos estudos tem mostrado que o acúmulo de prolina pode influenciar na tolerância das plantas em diversos tipos de condições adversas. Em razão de sua sensibilidade de resposta a condições de estresses tanto abióticos quanto bióticos, o aminoácido prolina é o soluto compatível mais estudado.

A prolina é um osmoprotetor orgânico que tem sua biossíntese realizada no citosol da célula, contudo quando sob condições desfavoráveis a sua produção pode ocorrer também nos cloroplastos (SZÉKELY et al., 2008). A prolina é sintetizada a partir do glutamato, principalmente quando a planta é exposta a estresse osmótico, ou então sintetizada por meio de uma rota alternativa a partir da ornitina. (SZABADOS; SAVOURE, 2010).

Tem se observado o acúmulo de prolina em grande número de espécies expostas a diversos tipos de estresses ambientais tais como salinidade, seca, temperaturas extremas, radiações UV, metais pesados e estresse oxidativo (SZABADOS; SAVOURE, 2010). Vários estudos mostram que a prolina pode funcionar como uma chaperona molecular capaz de proteger a integridade de proteína contra a desnaturação durante estresse hídrico severo e aumentar as atividades de diferentes enzimas. Além disso, pode atuar como fonte de carbono e de nitrogênio usados pelas células para crescimento da planta após períodos de estresse (ZADEHBAGHRI; AZARPANAH; JAVANMARDI, 2014).

O acúmulo prolina pelas plantas, durante estresses, fornece energia para a sobrevivência e crescimento e, assim, ajuda as plantas a tolerar condição

adversa que esta sendo submetida. O conteúdo de prolina pode ser considerado bom indicador para determinar cultivares tolerantes à seca (KUMAR; KARAJOL; NAIK, 2011; LUM et al., 2014)

(v) Espécies Reativas de Oxigênio - O Oxigênio (O_2) é essencial para a vida das plantas e de todos os seres aeróbicos. Em plantas superiores e algas, a fotossíntese ocorre em cloroplastos, os quais contêm um sistema de membrana de tilacóides altamente organizado que abriga todos os componentes do aparato fotossintético capaz de capturar e coletar a energia luminosa. Durante a transferência de elétrons, alguns desses elétrons podem ser transferidos do fotossistema I (PS I) para o oxigênio (que está sendo gerado nos cloroplastos), formando assim o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Esse processo pode provocar mais reações em cadeia, gerando mais espécies reativas de oxigênio (EROs) e quando em excesso pode vir a causar estresse oxidativo (PANDA; KHAN, 2009).

As principais EROs são formadas a partir de várias reações tendo por base o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que leva a formação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), do radical hidroxila (OH^{\cdot}) e de outras espécies reativas tais como o oxigênio singlete (1O_2), radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}), radical alcoxila (RO^{\cdot}), radical peróxido (ROO^{\cdot}) e hidroperóxido orgânico ($ROOH$) (BHATTACHARJEE, 2012). As EROs são produzidas continuamente em baixas concentrações, quando em condições ótimas de crescimento para a planta, como subprodutos de diversos processos metabólicos (fotossíntese, respiração, fotorrespiração e beta oxidação dos ácidos graxos) que estão ocorrendo em diferentes compartimentos celulares, tais como cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, parede celular, retículo endoplasmático e apoplasto (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; DEDEMO et al., 2013; MILLER et al., 2010). A remoção dessas EROs formadas são mantidas a níveis reduzidos devido aos sistemas antioxidante de defesa.

O equilíbrio entre a produção e remoção das EROs pode ser alterado por

vários fatores de estresse biótico ou abiótico, como a seca, salinidade, radiação UV, metais pesados, altas temperaturas, deficiência nutricional, poluição do ar, estresse mecânico, herbicidas e ataque de patógenos acarretando no aumento e consequentemente acúmulo dessas EROs sendo prejudicial a células das plantas (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; GILL; TUTEJA, 2010).

As EROs por serem altamente reativas e tóxicas podem reagir com uma vasta gama de biomoléculas, modificando ou bloqueando suas funções, causando danos aos componentes celulares tais como peroxidação lipídica de membranas, inativação de enzimas devido a desnaturação, oxidação de carboidratos, danos na conformação dos ácidos nucleicos e do complexo do fotossistema II (PS II) (GILL; TUTEJA, 2010). Por outro lado, as EROs podem agir como sinalizadoras em vários processos intrínsecos de crescimento e desenvolvimento, além de atuarem como mensageiros secundários envolvidos na ativação de genes de resposta ao estresse e rotas de defesa.

Como resposta a essa produção excessiva de EROs, as plantas desenvolveram um mecanismo eficiente para a remoção ou mesmo para minimizar os efeitos tóxicos promovidos, chamado de sistema antioxidante. O termo antioxidante pode ser considerado para descrever qualquer composto capaz de eliminar as EROS sem passar por uma conversão que promova radicais prejudiciais (DEDEMO et al, 2013). O sistema antioxidante nas plantas apresenta duas linhas de defesa, o sistema antioxidante não enzimático e o enzimático.

Os antioxidantes enzimáticos tem a função de mitigar os danos causados pelo excesso de EROs nos mais diversos compartimentos celulares através da manutenção do balanço entre produção e destruição dessas EROs com a finalidade de manter a homeostase da célula. Nesta linha de defesa encontra-se a dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.1), além da redutase da glutatona (GR, EC 1.6.4.2), redutase monodehidroascorbato (MDHAR, EC 1.6.5.4) entre outras

(DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

A SOD (EC 1.15.1.1) é a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos das EROs, catalisando a remoção do $O_2^{\cdot-}$ através de sua dismutação em O_2 e H_2O_2 . Evitando dessa forma a formação futura de OH^{\cdot} através da reação de Haber-Weiss e/ou de Fenton quando na presença de íons de Fe^{2+} e Fe^{3+} (KOPPENOL, 2001). SODs são classificadas em três isoformas de acordo com o íon metálico que se liga, podendo ser Mn-SOD (mitocôndrias), Fe-SOD (cloroplasto) e Cu/Zn-SOD (citosol, peroxissomos e cloroplasto).

O H_2O_2 formado pela reação catalisada pela dismutase do superóxido, pela beta oxidação dos ácidos graxos e fotorespiração nos peroxissomos, dentre outras formas é dismutado em água (H_2O) e O_2 , por meio da enzima CAT (EC 1.11.1.6) (DEDEMO et al., 2013). A catalase apresenta três formas (CAT1, CAT2 e CAT3) dependendo do lugar que é encontrada, contudo apenas a CAT 2 (peroxissomos e citosol) e CAT3 (mitocôndria) são encontradas em tecidos fotossintéticos (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Assim como a catalase, a APX promove a remoção do H_2O_2 . No entanto, a APX (EC 1.11.1.1) atua diretamente na remoção do peróxido de hidrogênio dos cloroplastos e citosol, enquanto a CAT atua principalmente nos peroxissomos. Por apresentar uma maior afinidade por peróxido de hidrogênio que a catalase, a APX remove o H_2O_2 reduzindo-o em H_2O e dehidroascorbato, usando o ácido ascórbico como agente redutor.

Por outro lado, o sistema antioxidante não enzimático protege não apenas os diferentes componentes da célula dos danos causados pelas EROs, mas também participa diretamente no crescimento e desenvolvimento das plantas devido a ajustes nos processos celulares como mitose, alongação, senescência e morte celular. Estão compreendidos nessa classificação os compostos de baixo peso molecular como o ascorbato, glutatona, α -tocoferol, carotenóides, flavonoides (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

A resposta das plantas estressadas a esses sistemas de defesa varia dependendo da duração e severidade do estresse imposto, do tecido ou órgão que esta sendo estressado e do seu estágio de desenvolvimento, assim como a habilidade que esse tecido tem em se aclimatar ao embalanceamento de energia causados pelas EROs (BOARETTO et al., 2014; MILLER et al., 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizadas as três cultivares de cana-de-açúcar mais plantadas no estado de Minas Gerais (RB 867515; SP81-3250 e SP80-1816), que somam mais de 40% de área plantada no Estado e que apresentam as seguintes características agrônômicas de acordo com a Tabela 1

Tabela 1 Características agrônômicas das cultivares utilizadas neste experimento.

Características	RB 867515	SP 80-1816	SP 81-3250
Brotação	Boa	Muito Boa	Muito Boa
Perfilhamento	Médio	Médio	Alto
Velocid. de Crescimento	Rápido	Rápido	Rápido
Porte	Alto	Alto	Alto
Habito de Crescimento	Ereto	Ereto	Semi-decumbente
Fechamento Entrelinhas	Bom	Excelente	Bom
Tombamento	Eventual	Eventual	Eventual
Produção Agrícola	Alta	Alta	Alta
Maturação	Média	Média	Média
Teor de Açúcar	Alto	Alto	Alto
Teor de Fibra	Médio	Alto	Alto
PUI	Longo	Médio	Médio
Floração	Eventual	Nunca	Frequente
Adaptabilidade	Ampla	Ampla	Restrita
Estabilidade	Boa	Boa	Boa
Resistencia à Seca	Média	Média	Média
Ambiente para a Produção	Sem restrição	Média restrição	Média restrição

Foram coletados mini rebolos em novembro de 2014 na Cachaçaria Bocaina que fica localizada no município de Lavras-MG e postos para emergir e enraizar em vermiculita. Após 45 dias da emergência, as plantas foram selecionadas com base na sua sanidade e condições biométricas e transferidas para vasos plásticos contendo 5 litros de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) com pH entre 5,0 – 5,5 em aeração constante para aclimatização e

posterior submissão aos tratamentos.

Durante o período de aclimação, as plantas foram submetidas semanalmente a níveis crescentes de disponibilidade dos nutrientes essenciais na solução nutritiva: Inicialmente em 1/3 da força iônica, progredindo para 1/2 força iônica até força iônica completa. Na quarta semana procedeu-se à imposição dos tratamentos conforme descrito no fluxograma da Figura 1.

A redução do potencial osmótico da solução nutritiva pela adição de polietilenglicol 6000 (PEG 6000) de acordo com a metodologia descrita por Villela et al. (1991), a qual levou em consideração a quantidade de PEG 6000 utilizado (g) para a quantidade de solução nutritiva presente no vaso (5L) de acordo com a temperatura média diária (30°C) da água (Tabela 2.).

Tabela 2 Especificação dos tratamentos utilizados quanto à concentração de Polietilenoglicol (PEG - 6000) segundo Villela; Doni Filho e Sequeira (1991), à temperatura de 30°C.

Potencial Osmótico Ψ_{os} (MPa)	Concentração PEG 6000 (g L⁻¹)
0	0
-0,1	85,365
-0,2	127,780
-0,3	160,511
-0,6	234,637
-1,2	339,705

Os tratamentos consistiram em três ciclos de submissão das plantas às condições hídricas, sendo cada ciclo compreendido por um período de 7 dias. O esquema experimental está esquematizado na Figura 1.

Inicialmente as plantas foram submetidas aos seguintes potenciais

osmóticos: 0; -0,1; -0,3 e -0,6 MPa. Após sete dias nessas condições, as plantas foram submetidas a um período de reidratação, no qual todas as plantas foram postas de volta a condição controle, que consistiu na substituição da solução de cultivo com PEG 6000 por uma sem adição do PEG 6000. No terceiro ciclo as plantas voltaram a ser submetidas a estresse hídrico, contudo o potencial osmótico imposto foi o dobro do aplicado no primeiro ciclo, sendo então as plantas submetidas as seguintes condições: 0, -0,2; -0,6 e -1,2 MPa.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial 3(cultivares) x 4(tratamentos) x 3(ciclos), com 10 repetições por tratamento, sendo cada parcela experimental (vaso plástico) composta por duas plantas.

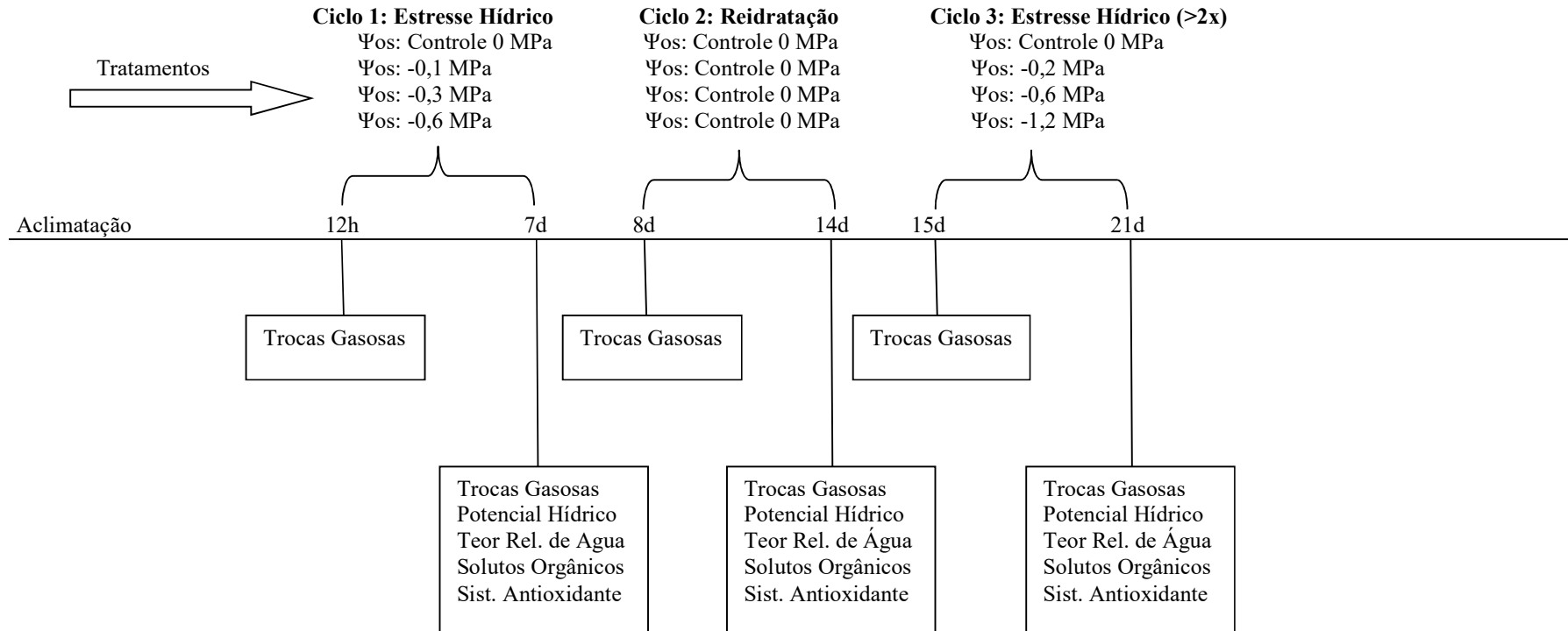


Figura 1 Representação esquemática do período experimental, explicitando os tratamentos para cada ciclo e quais variáveis fisiológicas foram analisadas em cada tempo.

Trocas Gasosas

Durante o experimento foram realizadas seis análises de trocas gasosas, sendo às 12 horas após a indução de cada ciclo e ao final de cada ciclo (7, 14 e 21 dias após indução dos tratamentos, respectivamente).

As medições das taxas fotossintéticas foram realizadas com o auxílio do analisador portátil de CO₂ a infravermelho - IRGA (Licor modelo Li-6400XT) entre os horários de 8 h às 11:30 h. As medidas de taxas de fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), foram realizadas na folha +1, que é a primeira folha onde se observa o colarinho visível, das plantas de cana-de-açúcar.

Potencial Hídrico Foliar e Teor Relativo de Água

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi realizado na folha +1, às 12 horas de acordo com a metodologia descrita por Scholander (1964). As folhas foram coletadas e imediatamente foi determinado seu potencial hídrico. A determinação do Ψ_w foi feita com o auxílio da câmara de pressão do tipo Scholander, modelo 1000 (PMS Instrument Company - Albany, OR, USA), os valores obtidos em Bar pelo equipamento foram transformados para MPa.

Da mesma forma que o potencial hídrico, o teor relativo de água (TRA) também foi obtido às 12 horas. Foram utilizadas as mesmas folhas empregadas na determinação do potencial hídrico foliar. A determinação do TRA foi feita seguindo a metodologia descrita por Silveira et al. (2009), para tanto foram tomados 6 fragmentos de 1 cm² cada e imediatamente pesados em balança analítica para a obtenção do Peso da Massa Fresca (PMF).

Em seguida, os fragmentos foliares foram colocados em placa de Petri contendo papel de filtro saturado com 10 mL de água deionizada e mantidos em refrigeração durante 48 horas. Após esse período os discos foram colocados em papel toalha para a retirada do excesso de água e pesados, obtendo-se assim o

Peso da Massa Túrgida (PMT). Por fim, os discos foram colocados em sacos de papel e levados a estufa de circulação forçada de ar a 65 °C durante três dias, obtendo-se o Peso da Massa Seca (PMS). De posse destes dados, o TRA foi calculado, através da seguinte fórmula:

$$\text{TRA (\%)} = \frac{\text{PMF} - \text{PMS}}{\text{PMT} - \text{PMS}} \times 100$$

Solutos Orgânicos

Amostras das mesmas folhas +1 utilizadas para a realização do Ψ_w e do TRA foram coletadas sem a nervura central para a determinação dos carboidratos solúveis totais, proteínas solúveis e prolina livre. Para a realização dessas análises, o extrato foi preparado através da maceração de 0,5 g de folha fresca em nitrogênio líquido e homogeneizado com 2 mL de Tampão Fosfato de Potássio 0,1M. O homogenado foi então centrifugado a 11000 rpm por 10 minutos a 4°C, o sobrenadante foi coletado e congelado para posterior realização das análises.

Os carboidratos solúveis totais foram determinados pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D(+)-glicose como padrão. Diferentes alíquotas foram adicionadas aos tubos de ensaio e em seguidas acrescentados 500 μ L de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, esses tubos foram então agitados em vórtex e postos em água a temperatura ambiente para esfriar por 15 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas a 490 nm.

A concentração de prolina livre foi determinada pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico (BATES, 1973), com modificações, utilizando-se a prolina como padrão. Diferentes alíquotas foram adicionadas aos tubos de ensaio e em seguidas acrescentados 1 mL de ninhidrina ácida (ninhidrina + ácido acético glacial e ácido fosfórico 6 M) e 1 mL de ácido acético glacial. Os tubos foram

levados ao banho-maria a 100°C por 1 hora e após esse período resfriados em banho de gelo. Após a reação ter esfriado foram adicionados 2 mL de tolueno aos tubos e agitados para que acontecesse a separação das fases. Após a separação a parte menos densa foi coletada e foi feita a leitura em espectrofotômetro à 520nm.

Para determinação de proteínas solúveis pelo método da ligação ao corante Coomassie Brilliant Blue (BRADFORD, 1976) utilizou-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão e comprimento de onda de 595 nm. Para tanto alíquotas do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de reagente de Bradford, agitado em vórtex e deixado reagir por 15 minutos.

Enzimas do Metabolismo Antioxidante

Para as análises enzimáticas foram coletadas amostras da folha +1 e imediatamente após a coleta estas folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C até o momento para a determinação da atividade das enzimas do sistema antioxidante. Foram pesados 0,2 g da amostra e macerado em nitrogênio líquido, em seguida foi adicionado o tampão de extração composto de: EDTA 0,01M; Fosfato de Potássio 0,4M (pH 7,8); Ácido Ascórbico 0,2M e Água destilada. O homogeneizado foi centrifugado a 1300 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado e armazenado a -20°C, para posteriores análises das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX)

A atividade da SOD foi estimada pela capacidade da enzima em exibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), de acordo com a metodologia proposta por Giannopolitis e Reis (1977), com modificação. Uma alíquota de 10µL do sobrenadante foi adicionada ao meio de incubação contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH7,8), metionina 70 mM, EDTA 10 µM, NBT 1mM, Riboflavina 0,2 mM e água destilada. Os tubos contendo o meio de incubação mais a amostra ou somente o meio de incubação com água (branco)

foram iluminados com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos. As leituras foram realizadas a 560 nm. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio.

A CAT foi avaliada segundo Havir e McHale (1987), para isso uma alíquota de 9 μL do sobrenadante foi adicionada ao meio de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), peróxido de hidrogênio 250mM e água destilada. A atividade dessa enzima foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar foi de $36 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Já a atividade da APX foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos (NAKANO; ASADA, 1981). Para isso uma alíquota de 9 μL do sobrenadante foi adicionada ao meio de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 10 mM, peróxido de hidrogênio 2 mM e água destilada. O coeficiente de extinção molar utilizado foi de $2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Peróxido de Hidrogênio e Peroxidação Lipídica

Tanto para a quantificação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) quanto para a quantificação da peroxidação lipídica inicialmente foram macerados 0,2 g da folha +1 em nitrogênio líquido, homogeneizados em 1500 μL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 12000 g por 15 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado e armazenado a -20°C , para posteriores análises.

A determinação da peroxidação lipídica foi feita por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), conforme descrito por Buege; Aust (1978). O TBA, forma complexos de cor avermelhada, com aldeídos de baixo peso molecular, como malonaldeído (MDA) que é produto secundário do processo de peroxidação. Foi necessário para realização dessa

análise 250 μL do sobrenadante foram pipetados em 1000 μL do meio de reação contendo TBA 0,5% e TCA 10%. Essa mistura foi então aquecida em banho-maria a 95°C por 30 minutos e em seguida resfriada rapidamente em gelo. As leituras foram realizadas em absorvância de 535 e 600 nm e os cálculos para a determinação da peroxidação lipídica foram expressos da seguinte forma:

$$[\text{MDA}] = \frac{(A_{535} - A_{600})}{(\epsilon \times b)}$$

Onde: ϵ = coeficiente de extinção molar ($1,56 \times 10^{-5} \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e

b = comprimento ótico (1)

Para determinar o conteúdo de H_2O_2 45 μL do sobrenadante foi adicionado ao meio de reação composto por tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e iodeto de potássio 1M. A concentração de H_2O_2 foi determinada pela absorvância das amostras a 390nm com base na curva-padrão de peróxido de hidrogênio de acordo com a metodologia descrita por Velikova, Yordanov e Edreva, 2000.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise de componentes principais (ACP) realizadas utilizando o software R versão 3.2.0 e os pacotes devtools, kassambara/factoextra, factoextra e ggbiplot. Foram calculadas as medianas das variáveis, que foram utilizadas para criação da matriz de correlação da PCA. Desta forma, as componentes de maior variância foram utilizadas para criação do biplot onde as observações foram submetidas aos testes de contribuição e coseno, que aferem a importância de cada observação para a componente e a sua representatividade dentro da componente. Para as variáveis foi realizado o círculo

de correlação para medir a representatividade da variável dentro da componente e observados os auto-valores que configuram a importância da variável dentro da componente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização do experimento a casa de vegetação apresentou variação de temperatura entre 16,8 – 46,4 °C e com temperatura média de 26,2°C (Figura 2A). Enquanto que a umidade relativa ficou entre 22,4 – 95,3% e com umidade relativa média de 71,5% (Figura 2B).

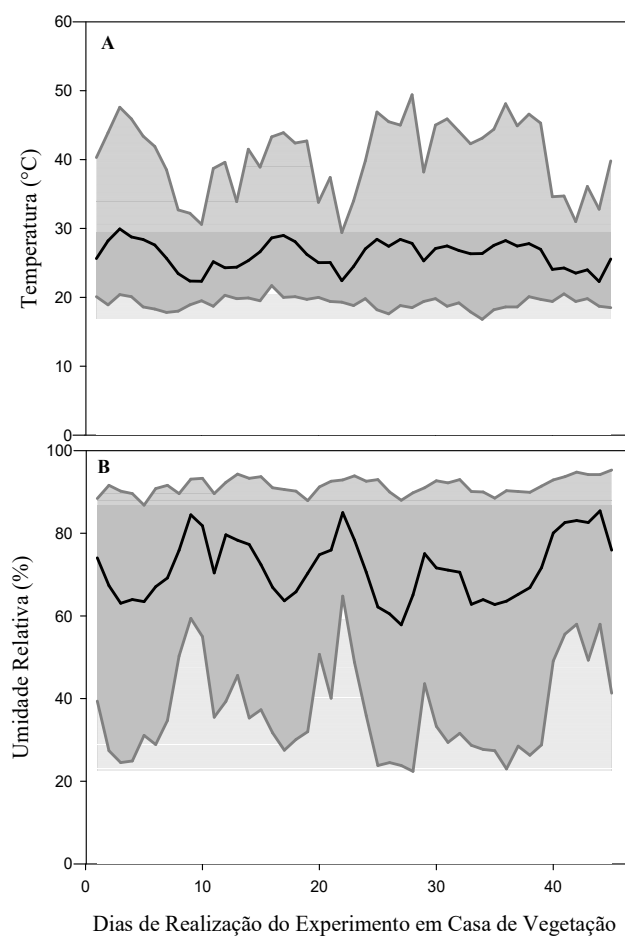


Figura 2 Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período experimental da casa de vegetação.

A análise de componentes principais (APC), realizada a partir do conjunto de dados que foi composto pelas 13 variáveis estudadas forneceu um total de 481 observações. Desta PCA foram extraídos 12 componentes com autovalores, respectivos de 5,64; 1,80; 1,37; 1,09; 0,85; 0,41; 0,28; 0,25; 0,15; 0,07; 0,05; 0,03. Sendo que os quatro primeiros componentes apresentaram autovalores maiores que 1 e que juntos explicaram mais de 82% da variação. Dessas quatro componentes principais, as duas primeiras agregaram 62% da variação e, portanto, foram utilizadas para a descrição dos resultados.

Considerando tais resultados, utilizou-se a APC como dupla finalidade: explorar os padrões temporais das variáveis fisiológicas foliares mais relevantes e estudar o comportamento fisiológico das cultivares de cana-de-açúcar em condições de estresse hídrico buscando ampliar o conhecimento sobre os mecanismos capazes de propiciar maior plasticidade frente ao déficit hídrico.

Explorando padrões temporais das variáveis fisiológicas mais relevantes

A CP1 explicou 47% das observações, sendo responsável pela regência dos diferentes tratamentos ou intensidades de déficit hídrico. Enquanto a CP2 representou os ciclos/tempo de exposição ao déficit hídrico e explicou 15% das observações.

Foi verificada a nítida oposição que as variáveis fisiológicas têm na resposta para os diferentes níveis de estresse hídrico, como pode ser observado no mapa das variáveis (Figura 3).

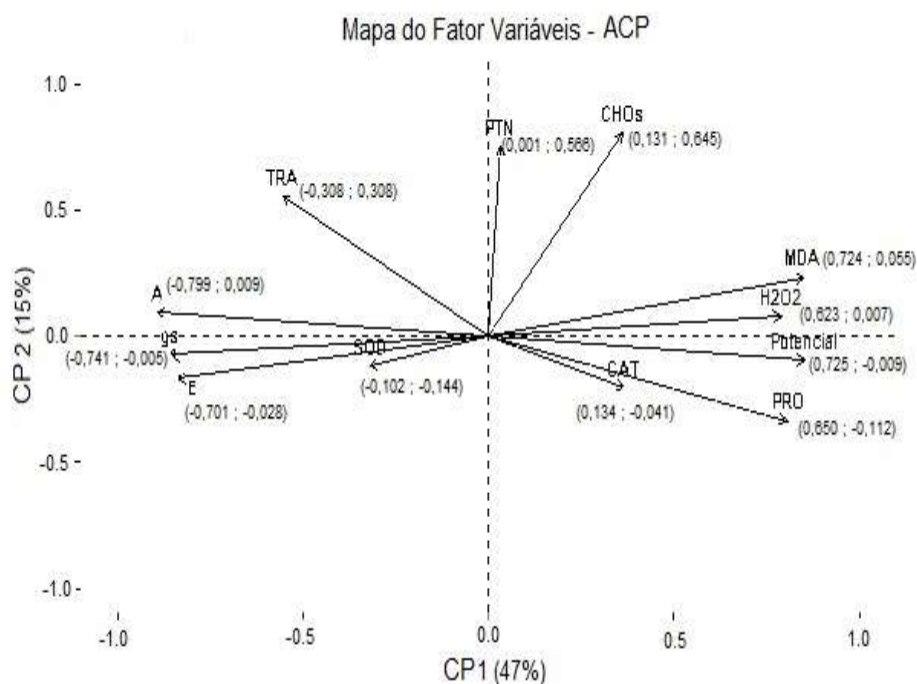


Figura 3 Análise de componente principal - ACP das variáveis fisiológicas: fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), teor relativo de água (TRA), proteína (PTN), carboidratos (CHOs), peroxidação lipídica (MDA), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), potencial hídrico foliar (Potencial), prolina (PRO), catalase (CAT), dismutase do superóxido (SOD) e peroxidase do ascorbato (APX), de três cultivares de cana-de-açúcar submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000. *Valores dentro dos parênteses correspondem aos autovalores obtidos no CP1 e CP2.

A maioria das variáveis estudadas compõem a CP1, porém de modo antagonico. As variáveis que estão do lado esquerdo do mapa (A, gs, E) são mais importantes na definição das respostas das cultivares quando estão em condições ótimas (controle). Enquanto as variáveis situadas do lado direito (Potencial, PRO, H₂O₂ e MDA) são as mais significativas para definição dos padrões de comportamento fisiológico das cultivares quando estão em condições adversas,

não favorável ao seu pleno desenvolvimento.

Na CP2, por representar a influência do ciclo, destacam-se as variáveis relacionadas a ajustes fisiológicos relacionados à manutenção da estabilidade ca dos processos foliares, em níveis de déficit hídrico intermediários (SOD, TRA, PTN, CHOs e CAT).

Na cultivar RB 867515 após a imposição do estresse (12h) apenas o tratamento a -0,6MPa diferiu dos demais, contudo ao fim do primeiro ciclo todos os tratamentos reduziram em relação ao controle, chegando a alcançar 54% de redução para o -0,6MPa. A cultivar SP 80-1816 foi a mais estável em relação à taxa fotossintética, uma vez que os tratamentos hídricos diferiram apenas do controle e não entre eles chegando ao final do primeiro ciclo com redução de 39% para o tratamento a -0,6MPa apresentando A de $24,83 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Diferentemente da SP 81-3250 que apresentou redução inicial de 89% chegando a apresentar A de $4,40 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, conseguindo se recuperar ao fim do ciclo com redução de 46% em relação ao controle (Figura 4).

Na reidratação, segundo ciclo, todas as cultivares conseguiram recuperar as suas taxas fotossintéticas e os tratamentos sob estresse chegaram a alcançar valores próximos ou superiores das apresentadas pelo controle (Figura 4). Este fato pode ser interpretado de maneira que o aparato fotossintético permaneceu intacto durante o estresse hídrico.

Para o terceiro ciclo, a redução mostrada na A foi maior que as apresentadas no primeiro ciclo, uma vez que a intensidade de déficit hídrico dobrou, para uma mesma duração. Essas reduções chegaram a 90; 85 e 87%, respectivamente, para as cultivares RB 867515, SP 80-1816 e SP 81-3250. Tal comportamento evidencia que as plantas de cana-de-açúcar reduziram sua fotossíntese a um nível suficiente apenas pra sua sobrevivência (Figura 4). A fotossíntese é o processo chave para o metabolismo primário, e neste estudo o processo fotossintético foi afetado pela intensidade do déficit hídrico.

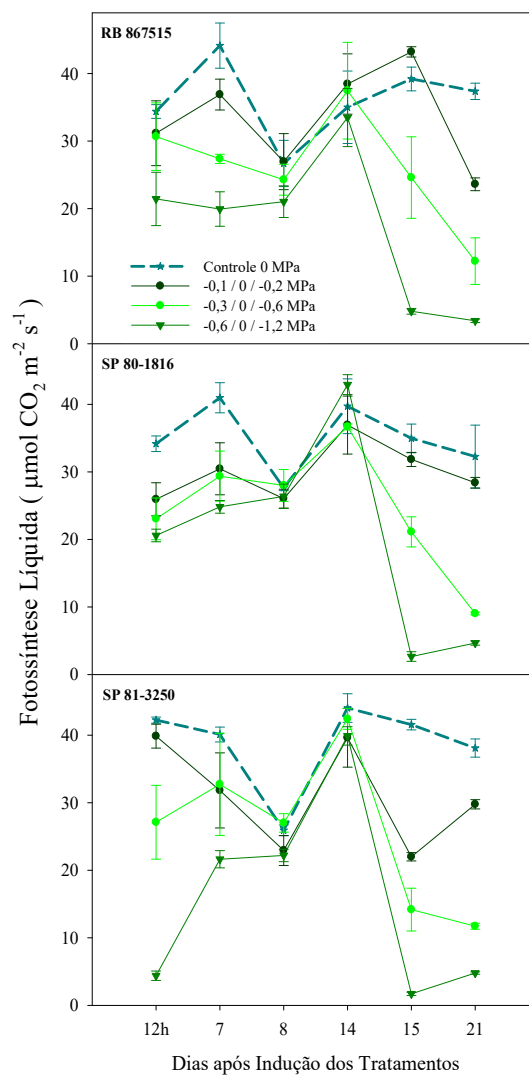


Figura 4 Comportamento da fotossíntese líquida em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

Uma vez que a entrada de CO₂ na célula para realizar a fotossíntese

depende diretamente da condutância estomática, a A se comportou de maneira semelhante à gs. Verificou-se que no primeiro ciclo, assim como, no terceiro ciclo ocorreu um decréscimo na gs, para a cultivar RB 867515 apresentando as maiores reduções 76 e 97%, respectivamente, para o primeiro e segundo ciclo (Figura 5). Enquanto que as cultivares SP 80-1816 e SP 81-3250 se comportaram de forma semelhante, com reduções de 67 e 88%, respectivamente, para o primeiro e segundo ciclo, quando comparado o tratamento -0,6 e -1,2MPa ao controle (Figura 5).

As três cultivares apresentaram alta sensibilidade estomática ao déficit hídrico. Estudos realizados por outros autores com diversas cultivares de cana-de-açúcar, tolerantes e sensíveis à disponibilidade hídrica do solo, mostraram independente de sua caracterização estas tem mostrado reduções na sua gs. Este mecanismo é uma estratégia comum das plantas para reduzir a perda de água pela transpiração na tentativa de manter a atividade fotossintética (EKSTEEN; SINGELS; NGXALIWE, 2015; GRAÇA et al., 2010; SANTOS et al., 2015), não estando relacionado a um indicativo de tolerância.

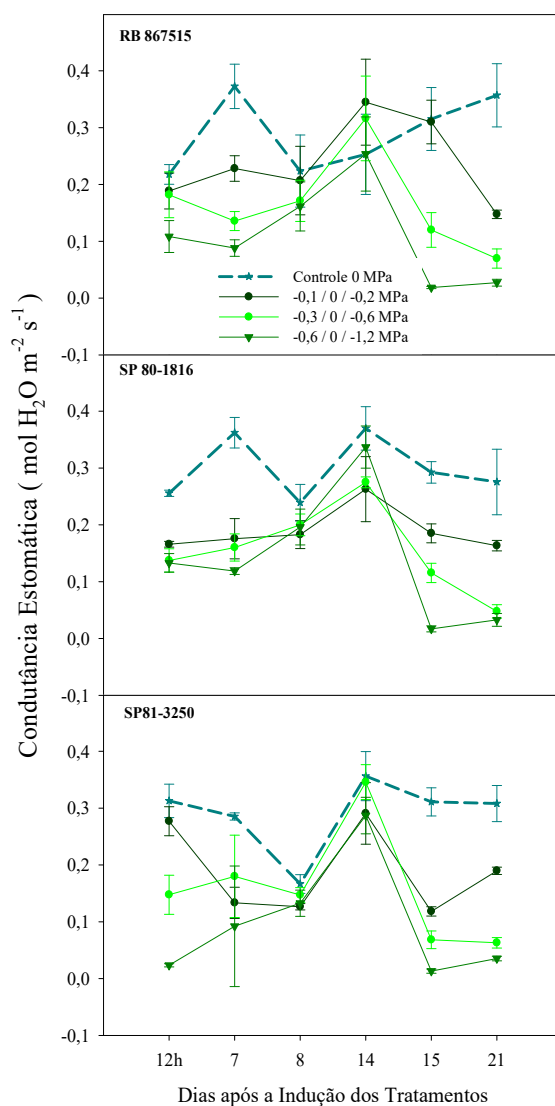


Figura 5 Comportamento da condutância estomática em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

Estas reduções do potencial hídrico foliar podem ser atribuídas à menor regulação do controle de abertura estomática ocasionando maiores perdas de água das folhas por transpiração, bem como à menor capacidade de absorção, levando à perda de turgescência das folhas. Os valores apresentados neste trabalho são menores que $-1,5\text{MPa}$, e segundo Martins et al. (2010) a partir desse valor ocorrem condições limitantes de disponibilidade de águas às plantas. Assim como foi mostrado em seu experimento com milho onde o potencial hídrico foliar em plantas estressadas alcançou valores de $-1,81\text{MPa}$.

Redução no potencial hídrico foliar foi verificada para todas as cultivares tanto no primeiro quanto no terceiro ciclo, nas quais essas reduções chegaram a alcançar valores médios de $-1,74$; $-1,90$ e $-1,98$ MPa no terceiro ciclo no tratamento $-1,2$ MPa, respectivamente para RB 867515, SP 80-1816 e SP 81-3250 (Figura 6). Na reidratação as cultivares SP conseguiram aumentar o seu potencial hídrico foliar próximo aos valores observados para o tratamento controle, enquanto o tratamento a $-0,6\text{MPa}$ da cultivar RB não chegou a e reidratar por completo, ficando seu potencial abaixo dos demais (Figura 6).

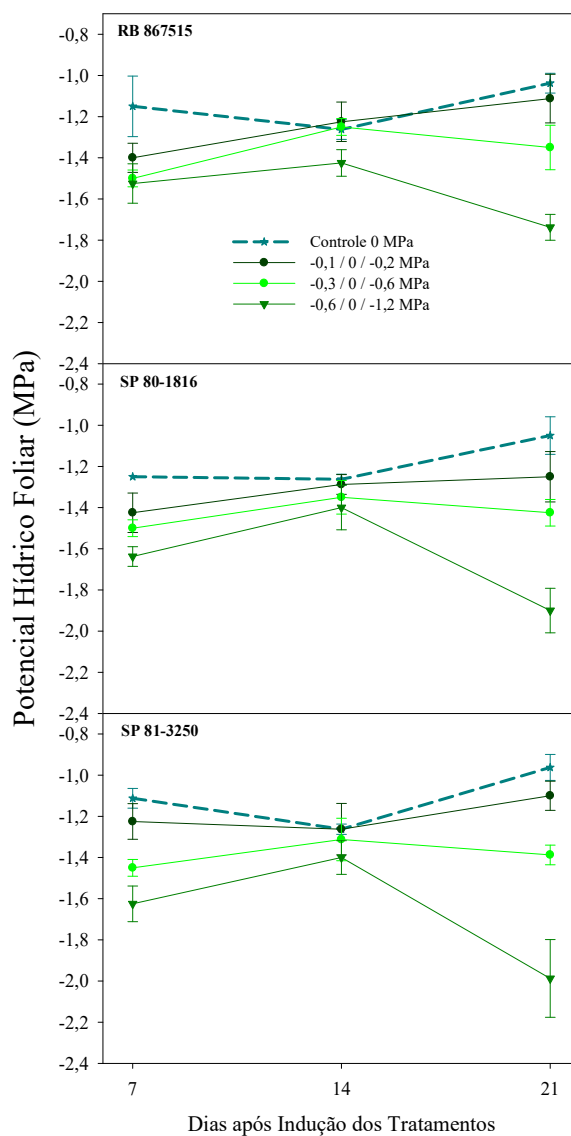


Figura 6 Comportamento do potencial hídrico foliar em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

Reduções nas trocas gasosas das plantas influenciam diretamente a tensão de água que está presente no xilema, devido a menor absorção de água pelas raízes, causado pela diminuição da transpiração foliar. Uma vez que o potencial hídrico foliar reflete as condições da dinâmica do processo de transporte no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo-se no principal componente responsável pelo fluxo de água na planta.

A peroxidação lipídica, caracterizada pelo incremento na quantidade de malonaldeído aumentou nas plantas em condições de estresse hídrico (Figura 7). Ao fim do primeiro ciclo as cultivares RB 867515 e SP 81-3250 apresentaram incremento na quantidade de malonaldeído de 87 e 110% respectivamente, enquanto que a SP 80-1816 mesmo tendo aumentado a quantidade de MDA em 25% nas plantas mais estressadas, não foi suficiente para conferir uma diferença em comparação ao controle (Figura 7).

No terceiro ciclo a SP 81-3250 apresentou o maior aumento (192%) no tratamento a -1,2MPa, seguido da RB 867515 (127%) e da SP 80-1816 (76%) quando comparados ao controle. A reidratação das plantas no segundo ciclo manteve a produção de MDA a níveis de tratamento controle nas cultivares, contudo SP 80-1816 apresentou na reidratação um aumento no tratamento a -0,3MPa que pode estar relacionado a uma estratégia de reparo de danos oxidativos às membranas em níveis moderados de estresse, após sua remoção, ou ainda a sinalizações de combate à oxidação, desencadeadas por estresse de pequena intensidade (Figura 7).

A preservação da hidratação dos tecidos durante período de déficit hídrico é essencial para o funcionamento dos processos celulares, contudo, o aumento na produção de EROs ocasionado pelo déficit hídrico, provoca inativação de enzimas, danos nos componentes celulares e diminui a capacidade defensiva das plantas (ERICE et al., 2010), neste estudo ocorreu simultaneamente um acréscimo no conteúdo do malonaldeído (MDA) nas cultivares quando em

condições de baixa disponibilidade hídrica.

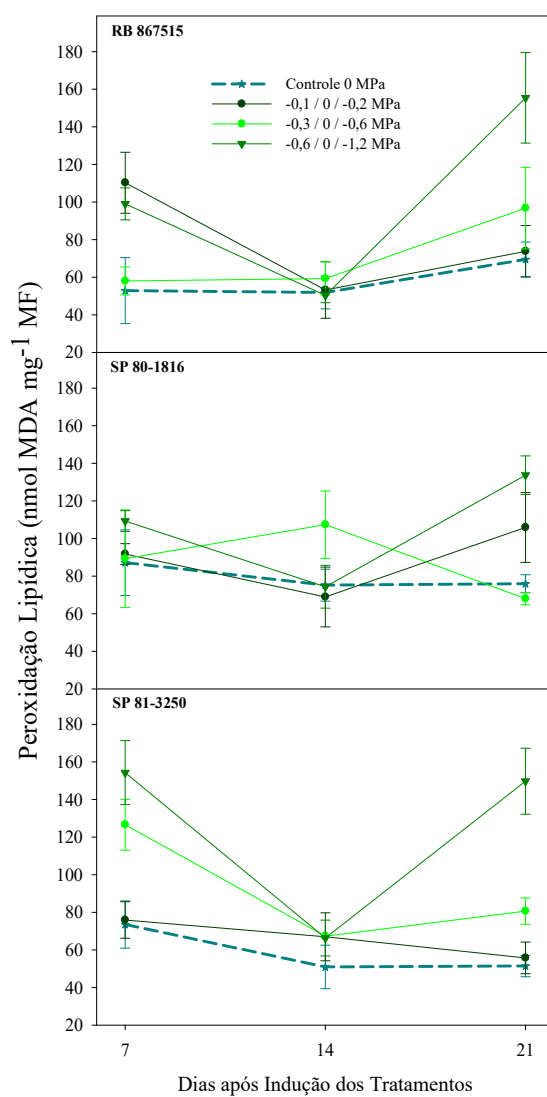


Figura 7 Peroxidação lipídica em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

A peroxidação lipídica pode causar danos nas membranas subcelulares afetando negativamente a cadeia respiratória nas mitocôndrias, a fixação de carbono nos cloroplastos e causar degradação de clorofila, enquanto que se o dano ocorrer na membrana plástica pode provocar liberação de eletrólitos e morte celular (CIA et al., 2012).

As cultivares de cana-de-açúcar que apresentam menor conteúdo de MDA podem ser consideradas mais tolerantes, uma vez que a peroxidação lipídica tem sido usada como um marcador para triagem de cultivares tolerantes à seca (LATA et al., 2011; SHAO et al, 2005). Dessa forma pode-se afirmar que neste estudo a cultivar SP 81-3250 como apresentou o maior conteúdo de MDA foi a mais sensível das três cultivares, seguido pela RB 867515 e pela SP 80-1816.

Não houve incremento significativo na cultivar SP 80-1816 para a quantidade de prolina nas folhas entre os tratamentos proposto para o primeiro ciclo, contudo para as demais cultivares o aumento chegou a ser maior que 148 e 200%, respectivamente para RB 867515 e SP 81-3250, quando comparando controle a -0,6MPa (Figura 8). Após sete dias de reidratação a quantidade de prolina ficou em níveis normais de acordo com o tratamento controle para todas as cultivares, porém ao ser imposto novo ciclo de estresse dessa vez a cultivar SP80-1816 passou a apresentar a maior quantidade de prolina no tratamento a -1,2MPa (0,776 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF - 1041%), seguido pela RB 867515 com incremento de 671% e a SP 81-3250 (270%) (Figura 8).

Esse menor incremento para a cultivar SP 81-3250 na quantidade de PRO sob nível de estresse rico alto, pode ser explicado pelo fato da cultivar tentar manter o seu aparato fotossintético ao máximo funcionamento para incremento de CO₂, ao passo que fica por segundo plano uma tentativa de diminuir os danos do estresse oxidativo em suas células. Fato este sugerido pela menor porcentagem de queda de suas trocas gasosas no tratamento mais severo.

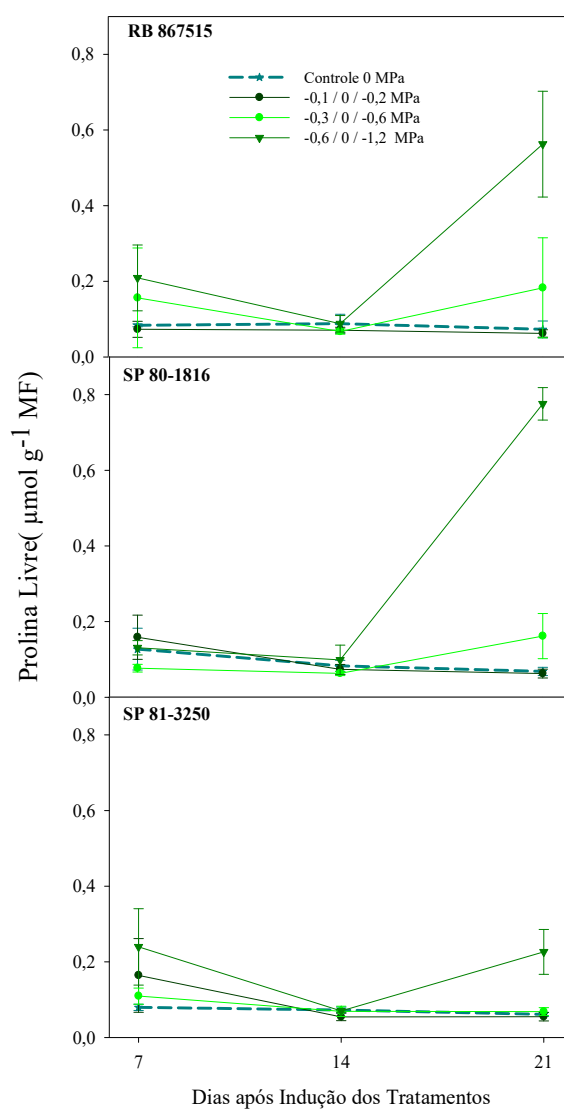


Figura 8 Quantidade de prolina livre em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

As respostas de tolerância bioquímica das culturas à seca têm sido correlacionadas às mudanças nas rotas metabólicas das plantas, levando a uma maior produção de açúcares, poliaminas e aminoácidos. Tal acúmulo de aminoácidos tem sido sugerido para ajudar na tolerância do estresse nas plantas, através do ajustamento osmótico, melhorando o estado hídrico celular das plantas, ajudando a desintoxicação de EROs ou através da regulação do pH intracelular (ALIA; MOHANTY; MATYSIK, 2001; MOLINARI et al., 2007). Neste estudo, foi detectado o aumento no conteúdo de prolina nas três cultivares quando sob déficit hídrico.

A seca induz o acúmulo de prolina e o aumento deste aminoácido pode estar relacionado com a indução ou ativação de enzimas envolvidas na sua biossíntese, pelo decréscimo de sua oxidação ou através da diminuição de seu uso para a síntese de proteínas (INGS et al., 2013; JAIN et al., 2015). Zhang & Chen (1998), Queiroz et al. (2011) e Jain et al. (2015) observaram o incremento no conteúdo de prolina nas folhas das cultivares de cana-de-açúcar com o aumento da supressão de água no solo, da mesma forma que verificada neste trabalho. Ressalta-se, neste estudo, os menores níveis de peroxidação lipídica está relacionado com o aumento na quantidade de prolina produzida.

O aumento de prolina é importante nas plantas em condições de déficit hídrico, pois ela pode promover a proteção das plantas contra os danos induzidos pelo oxigênio singleto e radicais livre, sendo dessa forma a prolina é um importante composto estabilizador das estruturas proteicas, assim como protetor das membranas e estruturas subcelulares contra a desidratação (KAVI KISHOR et al., 2005; ASHRAF; FOOLAD, 2007). Devido a isto tem se sugerido que o aminoácido prolina funcione como um indicador de estado hídrico da planta do que indicador do nível de tolerância das plantas aos estresses abióticos (SILVENTE et al., 2012).

Não foi verificada variação significativa na quantidade de carboidratos

solúveis totais e nem de proteínas solúveis para as cultivares de cana-de-açúcar estudadas com a imposição do estresse hídrico (Figuras 9 e 10). Contudo foi verificado na cultivar SP 81-3250 um aumento para as concentrações de carboidratos e de proteína.

A não degradação de proteínas à medida que o estresse hídrico aumenta, fato não apresentado pela cultivar, pode estar associado a um possível ajustamento osmótico da cultivar SP 81-3250 nos tratamentos de estresse mais severo. Possivelmente, esse acúmulo de proteína está relacionado com as menores reduções das trocas gasosas e menor acúmulo de prolina em suas folhas, sendo este osmólito mais importante para essa cultivar.

O acúmulo de carboidratos e de proteína ajuda na proteção contra a desidratação dos tecidos, funcionando como estabilizador de membrana celular e ajuda na manutenção do turgor da célula.

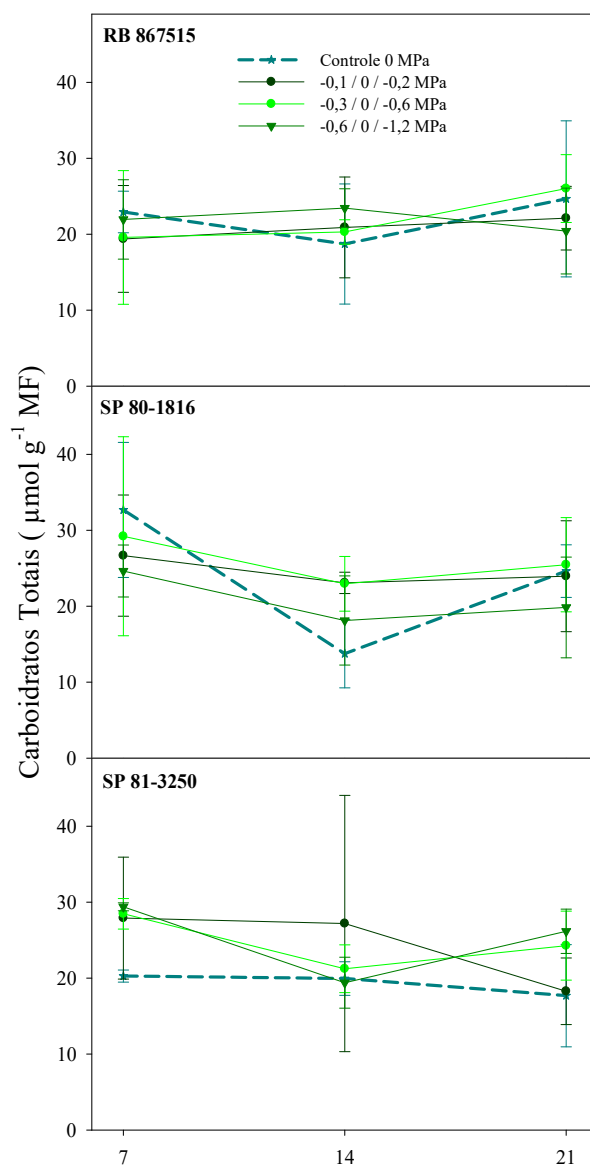


Figura 9 Quantidade de carboidratos solúveis totais em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

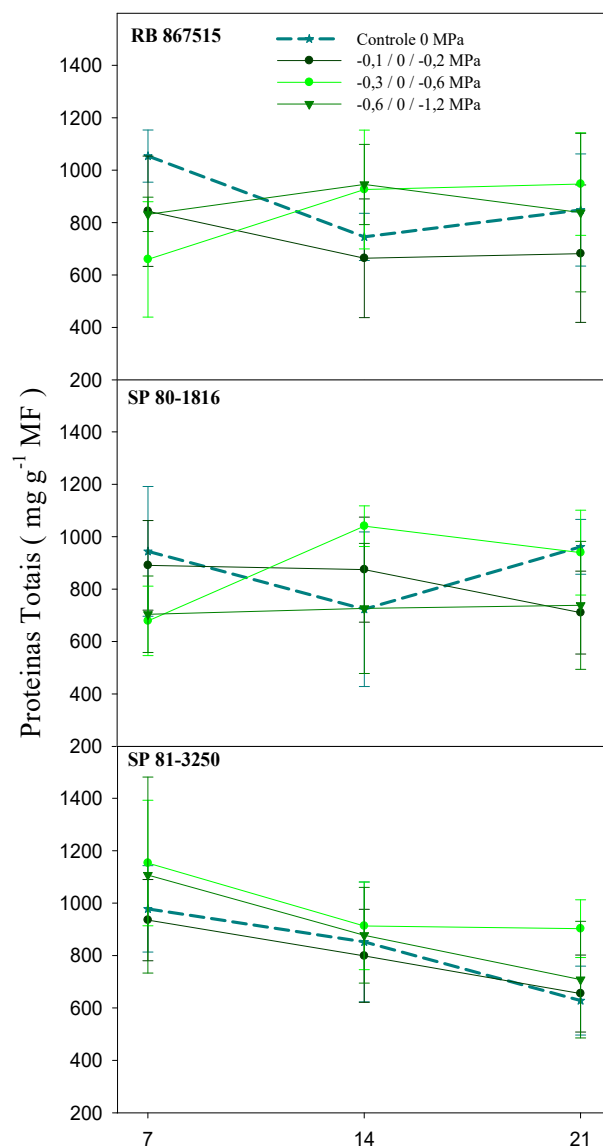


Figura 10 Quantidade de proteínas totais em três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000.

* -- / -- / -- corresponde aos níveis de déficit hídrico respectivamente para primeiro, segundo e terceiro ciclos.

Estudo Integrativo do Comportamento Fisiológico das Cultivares

A CPI mostra que a partir do tratamento a $-0,1\text{MPa}$ cultivares RB 867515 e SP 80-1816 passaram a modular suas respostas fisiológicas em função da condição de estresse apresentando scores positivos, no entanto para a SP 81-3250 o déficit hídrico só começou a ser efetivo na alteração de respostas quando as plantas estavam a $-0,3\text{MPa}$. Mesmo com esse retardo para sofrer as consequências do déficit hídrico, quando no tratamento a $-0,6\text{MPa}$, a cultivar SP 81-3250 foi a que mais sentiu os efeitos da restrição hídrica (Figura 11A).

Durante o período de reidratação as cultivares se recuperaram bem, contudo o nível de reidratação dependeu diretamente do tratamento anterior que tinha sido imposto. Essa reidratação das cultivares pode estar relacionada com o aumento da atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD) principalmente nos tratamentos que sofreram maior déficit hídrico.

Ao serem submetidas ao terceiro ciclo com nova imposição do estresse hídrico com o dobro da intensidade, as cultivares mostraram uma manutenção ou maior capacidade em suportar um novo evento de estresse. Comprovadamente, quando as plantas foram submetidas a $-0,2\text{MPa}$, com as respostas ficando em menores valores de quando tinham submetidas a $-0,1\text{MPa}$. Porém a $-1,2\text{MPa}$, as respostas dessas cultivares ficaram mais distantes das respostas obtidas pelos outros tratamentos em um grupo distinto, conforme mostrado no valores de \cos^2 (planilha em anexo).

Como as três cultivares são conhecidas como tolerantes ao déficit hídrico é possível verificar que houve um agrupamento das respostas das cultivares quando submetidas as potenciais osmóticos menores que $-1,2\text{MPa}$. Mostrando que essas cultivares, a $-1,2\text{MPa}$, buscaram outras maneiras/mecanismos para manter o seu metabolismo funcionando.

De acordo com a CP2 é possível afirmar que o metabolismo do Carbono

e do Nitrogênio pelas cultivares foi variável ao longo dos ciclos. No entanto, para a cultivar SP 81-3250, no primeiro ciclo de estresse, as plantas aumentaram sua concentração de carboidratos e proteína, como ajustamento osmótico, presando pela turgescência das folhas (Figura 11B).

No terceiro ciclo de estresse, a produção de carboidratos e de proteínas foi protelada para a produção de outros compostos, como prolina, mostrando que dessa forma os carboidratos e proteínas tem maior importância em déficit hídrico em nível moderado.

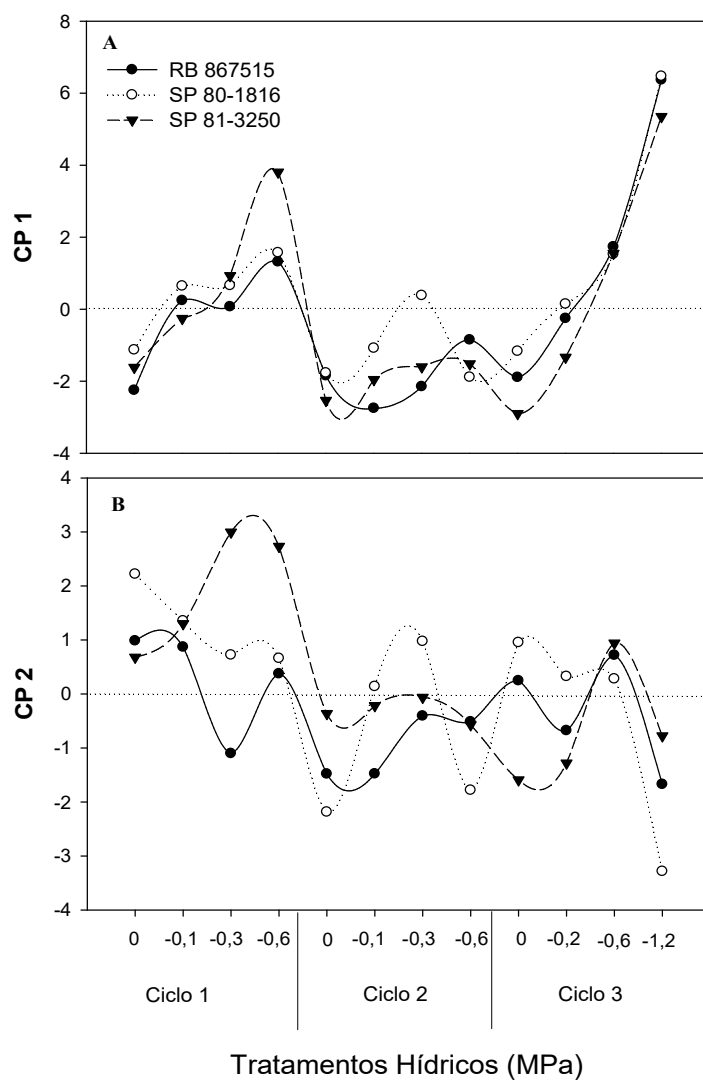


Figura 11 Score da análise de componente principal do comportamento de três cultivares de cana-de-açúcar quando submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico sob influência do PEG 6000

5 CONCLUSÕES

1. A cultivar SP 80-1816 apresentou maior plasticidade durante o déficit hídrico mais intenso e de curto prazo, uma vez que apresentou a maior produção de prolina e menor quantidade de malonaldeído.
2. A cultivar SP 81-3250 apresentou menor plasticidade durante o estresse hídrico mais intenso e de curto prazo.
3. Cada uma das cultivares apresentou um modo diferente para manter sua turgescência durante o déficit hídrico, enquanto na RB 867515 e na SP 80-1816 houve acúmulo de prolina no intuito de diminuir as enzimas antioxidantes, a SP 81-3250 promoveu um aumento no teor de carboidratos e proteínas na tentativa de manter sua turgescência.
4. O déficit hídrico prévio sofrido pelas plantas promoveu uma maior capacidade de tolerância a novos eventos de seca, porém para níveis intermediários.

REFERÊNCIAS

- ALIA, A.; MOHANTY, P.; MATYSIK, J. Effect of proline on the production of singlet oxygen. **Amino Acids**, v. 21, n. 2 p. 195–200, Set. 2001.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 2, p. 206–216, Mar. 2007.
- AZEVEDO, R. A. et al. Sugarcane under pressure: an overview of biochemical and physiological studies of abiotic stress. **Tropical Plant Biology**, Brasília, v. 4, n. 1, p. 42-51, Jan. 2011.
- BALL, R. A.; OOSTERHUIS, D. M.; MAUROMOUSTAKOS, A. Growth dynamics of the cotton plant during water-deficit stress. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 788-795, 1994.
- BARBOSA, F. S. et al. Drought resistance of sugarcane crop for different levels of water availability in the soil. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 203-210, Abr. 2014.
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication, **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, v. 1, p. 205-207, Aug. 1973.
- BATISTA, L. A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 475-481, Jul/Set. 2010.
- BENEŠOVÁ, M. et al. The physiology and proteomics of drought tolerance in maize: early stomatal closure as a cause of lower tolerance to short-term dehydration? **PLoS One**, San Francisco, v.7, n. 6, e38017, Jun. 2012.
- BERGONCI, J. I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, Aug. 2000.
- BHATTACHARJEE, S. The Language of Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Journal of Botany**, v. 2012, Article ID 985298, p. 1-22, 2012
- BOARETTO, L. F. et al. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and**

Biochemistry, Paris, v. 74, p. 165-175, Jan. 2014

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n.1-2, p. 248-54, May 1976.

BRAY, E. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 4, p.1035-1040. Dec. 1993

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation methods. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 52, p. 302-310. 1978.

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

CALVACHE, A. M. et al. Efeito da deficiência hídrica e da adubação nitrogenada na produtividade e na eficiência do uso de água em uma cultura do feijão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 3, p. 232-240, Set. 1997.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 13. p. 4754-4766, Jul. 2010.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-RERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. – Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204. 2001.

CHAVES, A. 2007. Alternativas para o manejo integrado de fitonematoides em cana-de-açúcar em tabuleiros costeiros de Pernambuco. Tese UFRPE, Pós graduação Fitossanidade, 91p.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, London, v. 103, n.4, p. 551-560, Feb. 2009.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A. et al. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, Brasilia, v. 4, n. 1, p. 62-80, Mar. 2011.

CIA, M. C. et al. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 161, n. 3,

p. 313–324, Nov. 2012.

Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2015**. CONAB, Brasília, 2015, p. 38.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981. p. 126.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v 2, article 53, p.1-13. Dec. 2014.

DEDEMO, G. C. et al. Osmoprotection in sugarcane under water deficit conditions. **Plant Stress**, v.7, n. 1, p. 1-7, Jan. 2013.

DIOLA, V.; SANTOS, F. Fisiologia. In.: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Ed.) Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e álcool – tecnologia e perspectivas. Viçosa, MG, 2010. p. 25-49.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, New York, v. 28, n.3, p. 350-356, Mar. 1956.

EFEÖĞLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.75, n. 1, p.34-42, Jan. 2009.

EKSTEEN, A.; SINGELS, A.; NGXALIWE, S. Water relations of two contrasting sugarcane genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 168, p. 86–100, Nov. 2014.

ENDRES, L. et al. Photosynthesis and Water Relations in Brazilian Sugarcane. **The Open Agriculture Journal**, Oak Park, v. 4, p. 31-37, Oct. 2010.

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

FAROOQ, U. et al. Comparative study of agro-physiology of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) genotypes at different irrigation co-efficient values.

Pakistan Journal of Botany, Karachi, v. 47, n. 2, p. 527-532, Apr. 2015.

FAUCONIER, R.; BASSEREAU, D. **La caña de azúcar**. Barcelona: Blume, 1975. p. 433.

FERNANDES, E. T.; CAIRO, P. A. R.; NOVAES, A. B. Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 1, p. 29-34, Jan. 2015.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, London, v. 103, n. 4, p. 635-644, Feb. 2009.

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

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, n. 12, p. 909-930, Dec. 2010.

GRAÇA, J. P. et al. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 22; n. 3, p. 189-197, 2010.

GUIMARÃES, E. R. et al. Free proline accumulation in sugarcane under water restriction and spittlebug infestation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 6, p. 628-633, Dec. 2008.

GUO, J. et. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 139, n. 4, p. 335-347, Aug. 2010.

HAMAYOUN, H.; DALIRI, M. S.; MEHRABI, P. Study of PEG stress effects on wheat (*Triticum aestivum*) cultivars at germination stage. **Middle-East Journal of Scientific Research**, Dubai, v. 9, n. 1, p. 71-74, 2011.

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

HEMAPRABHA, G.; NAGARAJAN, R.; ALARMELU, S. Response of sugarcane genotypes to water stress. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 6, n. 3, p. 165-168, Sept. 2004.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. p. 347.

INGS, J. et al. Physiological and growth responses to water deficit in the bioenergy crop *Miscanthus x giganteus*. **Frontiers in Plants Science**, Lausanne, v. 4, Article 468, p. 1-12, Nov. 2013.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 2-3, p. 185-202, Jun. 2005.

JAIN, R. et al. Physiological changes and expression of SOD and P5CS genes in response to water deficit in sugarcane. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 17, n. 3, p. 276–282, Jul-Sept. 2015.

KAVI KISHOR, P. B. et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Bengaluru, v. 88, p. 424–438, Feb. 2005.

KOPPENOL, W. H. The Haber-Weiss cycle – 70 years later. **Redox Report**, Essex, v. 6, n. 4, p. 229-234, Aug. 2001.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plant and soils**. Academic Press, New York. 1995, p. 495.

KUMAR, R. R.; KARAJOL, K.; NAIK, G. R. Effect of polyethylene glycol induced water stress on physiological and biochemical responses in pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Mill sp.). **Recent Research in Science and Technology**, Kerala, v. 3, n.1, p. 148-152, 2011.

KUMARI, A. et al. Early growth response: an indicator of subsequent growth and yield of wheat genotypes grown under simulated water stress condition. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi v. 19, n. 2, p. 94–100, Jun. 2014.

LATA, C. et al. Differential antioxidative responses to dehydration induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars. **Protoplasma**, Karlsruhe, v. 248, n. 4, p. 817–828, Oct. 2011.

LAWSON, T.; BLATT, M. R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. **Plant Physiology**, Rockville, v.

164, n. 4, p. 1556-1570, Apr. 2014.

LI, D. et al. Effects of drought on soluble protein content and protective enzyme system in cotton leaves. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 4, n. 1, p. 56-62, Mar. 2010.

LISSE, S. N. et al. The historical and future contribution of crop physiology and modelling research to sugarcane production systems. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 2-3, p. 321-335, Jun. 2005.

LUM, M. S. et al. Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, Lahore, v. 24, n. 1, p. 1487-1493, 2014.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Antonio, v. 444, n. 2, p. 139-158, Dec. 2005.

MARIJUAN, M. P.; BOSCH, S. M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, London, v.18, n. 12, p.660-666, Dec. 2013.

MARQUES, M. O; MARQUES, T. A.; TASSO JÚNIOR, L. C. 2001. **Tecnologia do açúcar: produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 166 p.

MARTINS, J. D. et al. Potencial hídrico foliar em milho submetido ao déficit hídrico. **Irriga**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 324-334, Jul-Set. 2010.

MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BOREN, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2ed. Viçosa: UFV, 1999. p. 205-251.

MEDEIROS, C. D. et al. Photosynthesis, antioxidante activities and transcriptional responses in two sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 36, n. 2, p. 447-459, Feb. 2014.

MELO et al. Addressing drought tolerance in sugarcane varieties through leaf physiological traits. In: Recent progress in drought tolerance from genetics to modelling. **Conference Handbook of Recent progress in drought tolerance from genetics to modelling**, Montpellier, 2015.

MENDES, R. M. S. et al. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 1, p. 95-103, Jan-Mar. 2007.

MILLER, G. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.33, p. 453-467, Apr. 2010.

MOLINARI, H. B. C. et al. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 130, n. 2 p. 218-229, Jun. 2007.

MONTEIRO, J. G. et al. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 1, p. 18-25, Jan. 2014.

MURSHED, R.; LOPEZ-LAURI, F.; SALLANON, H. Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicon* L, cv. Micro-tom). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, n. 3, p. 363-378, Jul-Sept. 2013.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n.5, p. 867-880, Aug. 1981.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. 4 ed. San Diego: CA Academic Press. 2009. p. 582.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p 41-45, Apr. 2000.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. cultivadas sob estresse hídrico. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 57, n. 1, p. 31-38, Jan-Jul. 2002.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas à déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 1, p. 75-87, 2001.

PANDA, S. K.; KHAN, M. H. Growth, oxidative damage and antioxidant

responses in greengram (*Vigna radiata* L.) under short-term salinity stress and its recovery. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Malden, v.1 95, n. 6, p. 442-454, Dec. 2009.

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

PENNACCHI, J. P. et al. Coupling remote sensing and modeling tools to access leaf physiological traits in sugarcane. In: The 2015 Monogram Network Meeting. **Monogram 2015 Conference Booklet**, Harpeden, 2015.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, RJ: Edur, 2004. p. 191.

PYNGROPE, S.; BHOOMIKA, K.; DUBEY, R. S. Oxidative stress, protein carbonylation, proteolysis and antioxidative defense system as a model for depicting water deficit tolerance in Indica rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 69, n. 2, p. 149-165, Mar. 2013.

QUEIROZ, R. J. B. et al. Osmoprotetores em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica no solo. **Científica**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 107-115. 2008.

QUEIROZ, R. J. B. et al. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 4, p. 469-476, Jul-Aug. 2011.

SALES, A.; LIMA, S. A. Use of Brazilian sugarcane bagasse ash in concrete as sand replacement. **Waste Management**, Padova, v. 30, n. 6, p. 1114-1122, Jun. 2010.

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

SANTOS, C. M. et al. Physiological changes associated with antioxidant enzymes in response to sugarcane tolerance to water deficit and rehydration. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 17, n. 3, p. 291-304, Jul-Sept 2015.

SCHOLANDER, P. F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in

leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science of the United States of America**, Washington, v. 52, n. 1, p. 119-125, Jul. 1964.

SHAO, H. B. et al. Changes of antioxidative enzymes and membrane peroxidation for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling stage. **Colloid Surfaces B: Biointerfaces**, Ontario, v. 42, n. 2, p. 107–113, May 2005.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MOZAMBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Org.). Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 415.

SILVA, E. C. et al. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 59, n. 2, p. 201-205, Jul-Dez. 2004.

SILVA, E. N. et al. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, Chubut, v. 74, n. 10, p. 1130-1137, Oct. 2010.

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

SILVA, S. et al. Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidas à deficiência hídrica. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 124-133, Jan-Fev. 2001.

SILVEIRA, J. A. G. et al. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex numularia*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, n. 1, p. 1-8, Apr. 2009.

SILVENTE, S.; SOBOLEV, A. P.; LARA, M. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 6, e38554, p. 1-11, Jun. 2012

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, Aug-Sept. 2006.

SZABADOS, L.; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, London, v.15, n. 2, p. 89-97, Feb. 2010.

SZÉKELY, G. et al. Duplicated P5CS genes of arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. **The Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 11-28, Jan. 2008.

TESTER, M.; BACIC, A. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 137, n. 3, p. 791–793, Mar. 2005.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidante systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, Clare, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, Nov-Dez. 1991.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, New York, v. 218, n. 1, p. 1-14, Nov. 2003.

WOOD, A. J. Eco-physiological adaptations to limited water environments. In: JENKS, M. A. & HASEGAWA, P. M. (Eds.). *Plant Abiotic Stress*. 1 ed Blackwell Publishing Ltda. 2005. p. 1-13.

XINGU, D.; WU, Y. Photosynthetic response of three climber plant species to osmotic stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 34, n. 5, p. 1659–1668, Sept. 2012.

ZADEHBAGHRI, M.; AZARPANAH, A.; JAVANMARDI, S. Proline metabolite transport an efficient approach in corn yield improvement as response to drought conditions. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Dubai, v. 14, n. 5, p. 476-485, May 2014.

ZHANG, M. Q.; CHEN, R. K. Osmotic adjustment in leaves of sugarcane (*S. officinarum* L.) in response to water stress. **Indian Sugar**, New Delhi, v. 48, n. 9, p. 707–713, 1998.

ANEXOS

Tabela 3 Score das contribuições e cosenos² das observações nas componentes principais 1 e 2, três cultivares de cana-de-açúcar submetidas a diferentes potenciais osmóticos sob influência do PEG 6000.

Cultivares	Tratamento	Ciclo	ctr1	ctr2	co ² 1	co ² 2
RB 867515	0	1	2,4909	1,4925	0,3799	0,0727
RB 867515	0	2	1,6824	3,3849	0,49	0,3151
RB 867515	0	3	1,7622	0,0935	0,6691	0,0114
RB 867515	-0,1	1	0,0288	1,1653	0,0113	0,1464
RB 867515	-0,1	2	3,7292	3,3735	0,6522	0,1886
RB 867515	-0,2	3	0,032	0,7078	0,0135	0,0956
RB 867515	-0,3	1	0,0025	1,8719	0,0006	0,1351
RB 867515	-0,3	2	2,2733	0,2544	0,6661	0,0238
RB 867515	-0,6	1	0,8593	0,2153	0,2947	0,0237
RB 867515	-0,6	2	0,3586	0,4082	0,0276	0,01
RB 867515	-0,6	3	1,477	0,7939	0,4753	0,0816
RB 867515	-1,2	3	19,9908	4,3133	0,8322	0,0574
SP 80-1816	0	1	0,6299	7,4155	0,1228	0,4621
SP 80-1816	0	2	1,5456	7,3645	0,3024	0,4614
SP 80-1816	0	3	0,669	1,3968	0,2462	0,1643
SP 80-1816	-0,1	1	0,2042	2,8331	0,0744	0,3301
SP 80-1816	-0,1	2	0,5777	0,0306	0,4302	0,0073
SP 80-1816	-0,2	3	0,0101	0,163	0,0035	0,0183
SP 80-1816	-0,3	1	0,2317	0,8063	0,0784	0,0945
SP 80-1816	-0,3	2	0,0721	1,4697	0,0166	0,1084
SP 80-1816	-0,6	1	1,216	0,6725	0,3318	0,0587
SP 80-1816	-0,6	2	1,7564	4,8953	0,3382	0,3013
SP 80-1816	-0,6	3	1,1455	0,1202	0,233	0,0078
SP 80-1816	-1,2	3	20,6292	16,6018	0,7306	0,1879
SP 81-3250	0	1	1,2861	0,7126	0,5581	0,0988
SP 81-3250	0	2	3,1679	0,2045	0,7319	0,0151
SP 81-3250	0	3	4,1494	3,9014	0,629	0,189
SP 81-3250	-0,1	1	0,0329	2,6092	0,0171	0,4317

SP 81-3250	-0,1	2	1,883	0,0721	0,5654	0,0069
SP 81-3250	-0,2	3	0,8782	2,5217	0,2594	0,2381
SP 81-3250	-0,3	1	0,4268	13,832	0,0676	0,7003
SP 81-3250	-0,3	2	1,2673	0,0062	0,3767	0,0006
SP 81-3250	-0,6	1	7,1366	11,495	0,5301	0,2729
SP 81-3250	-0,6	2	1,1366	0,5029	0,4622	0,0654
SP 81-3250	-0,6	3	1,1808	1,3668	0,268	0,0991
SP 81-3250	-1,2	3	14,1002	0,9318	0,7906	0,0167