

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR
SOB EFEITO DA INTERAÇÃO DOS ESTRESSES HÍDRICO
E ÁCIDO NO SOLO**

Samira Domingues Carlin
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Abril de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR
SOB EFEITO DA INTERAÇÃO DOS ESTRESSES HÍDRICO
E ÁCIDO NO SOLO**

Samira Domingues Carlin

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Abril de 2009

C278m Carlin, Samira Domingues
Mecanismos fisiológicos de cana-de-açúcar sob efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo / Samira Domingues Carlin. – Jaboticabal, 2009
xiv, 102 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009.
Orientador: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Banca examinadora: Raffaella Rossetto, Marcelo de Almeida Silva, Marcos Omir Marques, David Arioaldo Banzatto

Bibliografia

1. *Saccharum* spp.-. 2. solutos compatíveis. 3. nitrato redutase. 3. estresses abióticos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.61:632.03

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SAMIRA DOMINGUES CARLIN - nascida em 14 de Janeiro de 1979, na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo. Ingressou no curso de Agronomia em 1998, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/Unesp) Campus de Jaboticabal, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo em 16 de Janeiro de 2003. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica do CNPq, de Julho de 1999 a Agosto de 2000, estagiando no Depto. de Biologia Aplicada à Agropecuária, na área de Melhoramento genético da cultura do milho. Participou ativamente da Empresa de Consultoria Agropecuária Jr. (CAPJr), na direção, organização e coordenação de projetos agrícolas. Em 2001, estagiou no Depto. de Economia Rural, na área de Custo de produção de frutíferas, onde desenvolveu seu trabalho de graduação. De julho a dezembro de 2002 realizou estágio curricular obrigatório na APTA Pólo Centro-Oeste, sede Jaú, nas áreas de Fitotecnia e Melhoramento genético da cana-de-açúcar. Em março de 2003 ingressou no curso de Mestrado em Agricultura Tropical e Sub-Tropical (Tecnologia da Produção Agrícola), do Programa de Pós-Graduação do Instituto Agrônomo – IAC, Campinas – SP (bolsista CAPES). Em agosto de 2005 iniciou o curso de Doutorado, pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), na área de Fisiologia do estresse da cana-de-açúcar (bolsista CAPES). Atualmente é Pesquisadora Científica nível I, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA Pólo Centro-Oeste, sede Jaú, atuando nas áreas de Fitotecnia e Exploração Vegetal da cana-de-açúcar.

Esta Tese é dedicada às pessoas mais importantes da minha vida, meus queridos e amados pais, Sérgio e Rita, pelo amor incondicional, pela força durante toda esta caminhada, dando o suporte necessário para ultrapassar os obstáculos da vida.

DEDICO

Ao meu amigo, companheiro e esposo Luiz Felipe, colega de faculdade, exemplo de integridade e respeito, que se tornou pessoa fundamental em minha vida, meu amor.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A DEUS, meu pai protetor, sem o qual nada teria sentido;

Ao meu avô paterno Wilson “(in memoriam)” que sempre me incentivou e torceu pelo meu sucesso;

Às minhas inesquecíveis avós maternas, meus anjos da guarda, Maria Joanna e Rosa “(in memoriam)”, por todo amor, carinho e dedicação e pela certeza de que cheguei até aqui porque estiveram sempre ao meu lado, me guiando.

MUITO OBRIGADA!

AMO VOCÊS!!

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, pela valiosa orientação, amizade e exemplo de profissionalismo;

À CAPES, pela concessão de bolsa durante os primeiros anos de doutorado;

À APTA Pólo Centro-Oeste, sede Jaú, pelo fornecimento das mudas de cana-de-açúcar, indispensável para a realização do experimento, e também pelo fundamental apoio para finalização deste projeto;

Ao Prof. Dr. Antônio Orlando Di Mauro, do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/Unesp, pela concessão da casa de vegetação para a condução do experimento;

Ao Prof. Dr. José Frederico Centurion, do Departamento de Solos e Adubos da FCAV/Unesp, pela grande ajuda com as análises de solo;

Ao Prof. Dr. David Arioaldo Banzatto, pelo auxílio com as análises estatísticas;

À técnica do Laboratório de Fisiologia Vegetal, do DBAA FCAV/Unesp e grande amiga Sônia Carregari, pela ajuda incondicional durante todo o período do doutorado;

Às grandes amigas Andressa Rhein e Rafaela Queiroz pela dedicação e companheirismo na execução deste trabalho;

Aos grandes amigos Adão Marin, Rodrigo Franzé, Vinícius Destro e Vanessa Vollet por tudo que vivemos durante esses quatro anos;

Aos amigos e colegas de trabalho da APTA Pólo Centro-Oeste, sede Jaú, pela força e indispensável ajuda para que eu chegasse até aqui;

A todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste sonho...

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO.....	XIII
SUMMARY.....	XIV
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
1. A cultura da cana-de-açúcar	3
1.1 Origem e importância econômica	3
1.2. Aspectos gerais da cultura	4
2. Estresses abióticos.....	6
2.1 Efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo.....	6
3. Mecanismos de tolerância aos estresses abióticos	10
3.1 Ajuste osmótico	10
3.1.1 Solutos compatíveis	11
3.1.1.1 Prolina	12
3.1.1.2 Glicina betaína.....	14
3.1.1.3 Trealose	16
3.2 Nitrato redutase	18
3.3 Clorofilas	19
III. MATERIAL E MÉTODOS	21
1. Cana-de-açúcar cv. IAC91-5155	21

2. Instalação e condução experimental	22
3. Tratamentos de disponibilidade hídrica e acidez no solo	23
4. Coleta e preparo das amostras	27
5. Avaliações fisiológicas	28
5.1 Solutos compatíveis	28
5.2 Nitrato redutase	31
5.3 Clorofilas	32
5.4. Crescimento inicial	33
6. Tratamento estatístico	34
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
V. CONCLUSÕES.....	70
VI. REFERÊNCIAS	71

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Análise química e granulométrica das amostras de terra retiradas de um Latossolo Vermelho distrófico álico.	24
Tabela 2. Análise química das amostras de terra retiradas de um Latossolo Vermelho distrófico álico, após 30 dias de incubação com calcário calcinado (PRNT 130%).	26
Tabela 3. Análises de variância dos teores de prolina, glicina betaína e trealose, na folha +1 de plantas jovens cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	36
Tabela 4. Análise de variância da atividade da enzima nitrato redutase na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	47
Tabela 5. Análises de variância dos teores de clorofilas na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	50
Tabela 6. Análises de variância da massa de matéria seca de folhas (MSF) e da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	59
Tabela 7. Análises de variância do número de folhas e da área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	66

LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE

	Página
Tabela I. Análises das regressões polinomiais dos teores de prolina na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	90
Tabela II. Teste de Tukey dos teores de prolina na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	91
Tabela III. Análises das regressões polinomiais dos teores de glicina betaína na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	92
Tabela IV. Teste de Tukey dos teores de glicina betaína na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	93
Tabela V. Análises das regressões polinomiais dos teores de trealose na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	94
Tabela VI. Teste de Tukey dos teores de trealose na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	95
Tabela VII. Análises das regressões polinomiais da atividade da nitrato redutase na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	96
Tabela VIII. Análises das regressões polinomial dos teores das clorofilas a, b e total (a+b) na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	97
Tabela IX. Análises das regressões polinomiais da massa de matéria seca de folhas (MSF) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito	

interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	98
Tabela X. Teste de Tukey da massa de matéria seca de folhas (MSF) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	99
Tabela XI. Análises das regressões polinomiais da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	100
Tabela XII. Teste de Tukey da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	101
Tabela XIII. Análises das regressões polinomiais do número de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	102
Tabela XIV. Análises das regressões polinomiais da área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.....	102

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Teores de prolina em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	37
Figura 2. Teores de prolina em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	38
Figura 3. Teores de glicina betaína em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	41
Figura 4. Teores de glicina betaína em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	42
Figura 5. Teores de trealose em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	44
Figura 6. Teores de trealose em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	45
Figura 7. Atividade da enzima nitrato redutase em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	48
Figura 8. Teores de clorofila a em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	51
Figura 9. Teores de clorofila a em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.	52

- Figura 10. Teores de clorofila b em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 53
- Figura 11. Teores de clorofila b em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007. 54
- Figura 12. Teores de clorofila total (a+b) em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 55
- Figura 13. Teores de clorofila total (a+b) em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 56
- Figura 14. Massa de matéria seca de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 60
- Figura 15. Massa de matéria seca de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro do nível de 70% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007. 61
- Figura 16. Massa de matéria seca de colmos de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 62
- Figura 17. Massa de matéria seca de colmos de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 63
- Figura 18. Número de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007..... 67
- Figura 19. Área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007. 68

MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB EFEITO DA INTERAÇÃO DOS ESTRESSES HÍDRICO E ÁCIDO NO SOLO

RESUMO – No presente trabalho foi verificado o ajuste osmótico no crescimento inicial de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo. Para tanto, foram quantificados os teores de três solutos compatíveis, prolina, glicina betaína e trealose. Também foi estudada a atividade da nitrato redutase e os teores de clorofilas. O estudo de todas estas variáveis teve por objetivo propor a utilização destes compostos como indicadores fisiológicos de aclimação da cana-de-açúcar sob efeito da interação de ambos os estresses. O experimento foi realizado em casa de vegetação com $29,7 \pm 4,3^{\circ}\text{C}$ e 75 ± 10 UR%. Foram utilizados três tratamentos de disponibilidade hídrica (capacidade de campo, CC): controle (70%), estresse moderado (55%) e estresse severo (40%) e três tratamentos de acidez no solo (saturação por bases, V%): controle (55%), média acidez (33%) e alta acidez (23%). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x3, com quatro repetições. Após 60 dias sob estresses foram determinados os teores dos solutos compatíveis, a atividade da nitrato redutase e os teores das clorofilas. Os resultados mostram que houve acúmulo dos três solutos compatíveis evidenciando que ocorreu ajuste osmótico. Prolina e glicina betaína são indicadores fisiológicos do efeito da interação de ambos os estresses enquanto trealose é indicadora apenas para o estresse hídrico. Também, a atividade da nitrato redutase pode ser utilizada como indicador do estresse hídrico e os teores das clorofilas a, b e total para os estresses hídrico ou ácido. A massa de matéria seca da parte aérea, o número de folhas e a área foliar das plantas jovens de cana-de-açúcar, ajustadas osmoticamente, são reduzidos pelos estresses. Os efeitos interativos de ambos os estresses causam diminuição da massa de matéria seca, enquanto apenas o estresse hídrico reduz o número de folhas e a área foliar.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., solutos compatíveis, nitrato redutase, clorofilas, estresses abióticos.

PHYSIOLOGIC MECHANISMS OF SUGARCANE UNDER THE INTERACTION EFFECT OF WATER AND ACID STRESS IN THE SOIL

SUMMARY – In this present work was verified the osmotic adjustment in the initial plant growth sugarcane cv. IAC91-5155 under interaction effect of water and acid stress in the soil. For this, were quantified three compatible solutes content, as follows: proline, glycine betaine and trehalose. It was verified also the nitrate reductase activity as well the chlorophyll content. The study of all parameters aimed to propose the use components as physiological indicators to acclimation of sugarcane plants under interaction the both stress. The experiment was carried out in a greenhouse under $29.7\pm 4.3^{\circ}\text{C}$ and $75\pm 10\%$. Three water availability treatments (Field Capacity – FC%): control (70%), moderate stress (55%), and extreme stress (40%) and three soil acidification treatment (Base Saturation – BS%): control (55%), average acidity (33%), and high acidity (23%) were used. The experimental design used was the randomized blocks in a 3x3 factorial scheme and four replicates. After sixty days under stress were determined compatible solutes, nitrate reductase and chlorophyll content. Our results showed that there was the accumulation of three compatible solutes exhibiting osmotic adjustment. Glycine betaine and proline are both physiologic indicators of stresses interaction effect whereas trehalose indicates only water stress. The nitrate reductase activity can be used as water stress indicator and chlorophylls a, b and total are indicators to water or acid stress. The dry mass of shoot part, leaves number and leaf area are significantly reduced by stress in young sugarcane plants adjusted osmotically. The interaction of stresses cause decrease of dry mass while water stress reduces leaves number and leaf area.

Keywords: *Saccharum* spp., compatible solutes, nitrate reductase, chlorophylls, abiotic stress.

I. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) tem sido cultivada no Brasil desde 1532, e, dentre as fontes de energia renováveis é considerada uma das melhores opções com grande importância no cenário agrícola brasileiro-mundial (SOUZA et al., 2005). Nas últimas décadas, com a expansão do cultivo da cana-de-açúcar no país, pode ser notado que sua produtividade é influenciada negativamente pelos vários estresses ambientais, incluindo a deficiência hídrica no solo que provoca perdas irreparáveis na cultura (MAULE et al., 2001).

Os estresses influenciam o crescimento vegetal resultando em menor desempenho da cultura no campo. Seca, luminosidade e temperaturas extremas, salinidade, deficiência mineral e baixo pH nos solos estão entre os principais fatores que restringem a adequada produtividade agrícola. Mais do que qualquer outro estresse ambiental, a deficiência hídrica dos solos constitui sério problema mundial, que drasticamente reduz a produção e a qualidade agrícola. Assim, para manter a produtividade vegetal sob condições de pouca umidade nos solos tem suscitado, ao longo dos anos, forte interesse dos pesquisadores na compreensão dos mecanismos de tolerância das plantas à seca.

Nas regiões tropicais, além do estresse hídrico causado pelos baixos potenciais de água, é comum a ocorrência de solos ácidos, com pH abaixo de 5,0 que disponibilizam alumínio em nível tóxico. Esta toxidez atinge 50% das áreas com potencial agrícola no mundo, considerando também aumento significativo nos solos submetidos ao intensivo uso de fertilizantes amoniacais e chuva ácida (ZHANG et al., 2007). No entanto, o exato mecanismo fisiológico da toxicidade do alumínio para muitas plantas ainda está em discussão, visto que diferentes vias bioquímicas e fisiológicas podem estar relacionadas a essa toxicidade (KOCHIAN et al., 2005).

Em demanda por cultivares tolerantes, existe o crescente interesse da comunidade científica em compreender os mecanismos fisiológicos em resposta aos diversos estresses. Dentre estes mecanismos, destacam-se o ajuste osmótico, a atividade da nitrato redutase e os teores de clorofilas.

O ajuste osmótico é uma das principais respostas das plantas sob estresses, sendo correlacionado com o grau de tolerância. Neste mecanismo ocorre a biossíntese e o acúmulo de solutos compatíveis, no vacúolo ou no citosol, com função osmoprotetora, mantendo o equilíbrio hídrico e preservando a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas para a continuidade das atividades vitais, constituindo uma das estratégias adaptativas do vegetal aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (JALEEL et al., 2007).

A deficiência hídrica e a acidez no solo também influenciam negativamente o metabolismo de compostos nitrogenados, como a atividade da nitrato redutase, principal enzima responsável na assimilação de nitrogênio pelos vegetais, além de interferir no processo fotossintético, promovendo alterações no conteúdo das clorofilas; sendo utilizados em algumas plantas como indicadores de tolerância aos estresses ambientais.

Assim, devido à importância econômica da cana-de-açúcar, a compreensão dos mecanismos fisiológicos de tolerância aos estresses abióticos no desenvolvimento de cultivares mais produtivas contribuirá significativamente para indicar o melhor manejo e obter maior produtividade agrícola.

No presente trabalho foi verificado o ajuste osmótico no crescimento inicial de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo dos estresses hídrico e ácido no solo. Para tanto, foram quantificados os teores de três solutos compatíveis, prolina, glicina betaína e trealose. Também foi estudada a atividade da enzima nitrato redutase e os teores de clorofilas. O estudo de todas estas variáveis teve por objetivo propor a utilização destes compostos como indicadores fisiológicos de aclimação da cana-de-açúcar sob efeito da interação de ambos os estresses.

II. REVISÃO DE LITERATURA

1. A cultura da cana-de-açúcar

1.1 Origem e importância econômica

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.; Poaceae) originária da Ásia Meridional, na região central da Nova Guiné e Indonésia, é uma planta monocotiledônea, alógama, de ciclo semiperene e própria de climas tropicais e subtropicais (DANIELS & ROACH, 1987).

No Brasil, foi introduzida em 1532 pelos colonizadores portugueses, provenientes da Ilha da Madeira, impulsionando a formação dos primeiros engenhos no país como o sustentáculo das capitanias hereditárias. Estas instalações foram responsáveis pelo desenvolvimento da produção, do comércio e da cultura do Nordeste brasileiro, onde foi implantado o primeiro centro açucareiro do país (UNICA, 2008). No final do século XVI, os estados de Pernambuco e Bahia lideravam a produção mundial de açúcar, com grande repercussão no mercado europeu. Nesta época já se atingia importantes índices de exportação do produto, desempenhando notória função na evolução histórica do Brasil sob o aspecto infra-estrutural e sócio-econômico (BASTOS, 1987). Desde os tempos do Brasil Colônia a cultura vem se destacando no setor agrícola, devido à condição climática tropical do país ser favorável à formação de grandes latifúndios monocultores, que se conservaram nos séculos XVI e XVII, consolidando a colonização brasileira e sustentando a economia do país.

A cadeia produtiva da cana-de-açúcar passou por vários períodos de transformação e, com a consolidação dos mercados externos e internos, a produção canavieira aos poucos foi se concentrando no estado de São Paulo. No século XIX e início do XX, o cultivo da cana-de-açúcar perdeu importância no cenário econômico do país, com o fortalecimento da cultura do café e também devido à concorrência do açúcar produzido pelo mercado externo (MARQUES et al., 2001). Com a criação do Proálcool, em meados da década de 70, houve incentivo governamental à produção

deste álcool combustível devido à crise do petróleo. Apesar da mitigação destes incentivos durante os anos 90, a produção de etanol se manteve, pois o álcool etílico passou a ser misturado à gasolina, proporcionando aumento gradativo da produção deste produto, compensando a queda no consumo de álcool hidratado. Os avanços tecnológicos continuaram e o Brasil detém, hoje, a supremacia na geração e difusão de tecnologias da cadeia açúcar/álcool de cana-de-açúcar (NEGRÃO & URBAN, 2006).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e detém pouco mais de um terço da cana cultivada no mundo (CANAOESTE, 2008). Atualmente, a cana-de-açúcar é considerada como uma das melhores opções dentre as fontes de energia renováveis com grande importância no cenário agrícola brasileiro-mundial (SOUZA et al., 2005). Para cada unidade de energia consumida na produção, o álcool de cana produz oito unidades de energia equivalentes, e no caso do milho, a produção é de apenas 1,3 unidades por unidade de energia consumida (AGRIANUAL, 2008). A região Centro-Sul, principal produtora de cana-de-açúcar e derivados, produziu na safra 2008/2009 o equivalente a 499,6 milhões de toneladas de cana, sendo 299,4 milhões só no estado de São Paulo. Para a safra 2009/2010 estimam-se colher 530 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, representando um crescimento de 6,08% em relação à safra anterior (UDOP, 2009).

É indiscutível a importância do setor sucroalcooleiro na sociedade brasileira, seja pelo grande potencial na geração de empregos diretos e indiretos, seja pelas exportações de açúcar e álcool colaborando com o equilíbrio da balança comercial (MARQUES et al., 2006).

1.2. Aspectos gerais da cultura

Atualmente, a cultura da cana-de-açúcar no mundo e no Brasil é constituída por híbridos provenientes do cruzamento entre as espécies do gênero *Saccharum* resultado da hibridação natural entre *Saccharum officinarum* e *Saccharum barberi* (DANIELS & ROACH, 1987).

A cana-de-açúcar apresenta ampla escala de adaptação sendo cultivada principalmente em regiões de clima tropical, quente e úmido situadas entre os paralelos 35°N e 35°S (SEGATO et al., 2006). No Brasil, as variações climáticas possibilitam colheitas anuais de setembro a abril, no Norte-Nordeste e de maio a dezembro, no Centro-Sul (ALFONSI et al., 1987), e as condições edáficas dos solos arejados, profundos e férteis com valores de pH entre 5,0 e 6,5 são satisfatórios às exigências da cultura (VAN RAIJ et al., 1997). Embora seu cultivo se concentre nas regiões Sudeste e Nordeste, a produção se desloca preferencialmente para a Região Centro-Oeste do país, notadamente nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul (VIEIRA JUNIOR et al., 2008). Dessa forma, a cana-de-açúcar é cultivada em diferentes tipos de solos, sob interferência de diversos fatores abióticos peculiares a cada região, evidenciando distintos níveis de produção (MAULE et al., 2001).

Em virtude de apresentar ciclo semiperene, a cultura da cana-de-açúcar é influenciada por grandes variações climáticas durante o ano, o que pode interferir na produção, maturação e qualidade da cultura. Para manter índices de produção satisfatórios, esta cultura necessita de período quente e úmido, com intensa radiação solar durante o estágio vegetativo, seguido de período seco na fase de maturação e colheita (ALFONSI et al., 1987). A qualidade e a intensidade luminosa exercem influência no crescimento vegetativo e na maturação, pois estabelecem correlação direta com a síntese, translocação e acúmulo de carboidratos das folhas para o colmo (MARQUES et al., 2001).

A cana-de-açúcar apresenta elevada taxa fotossintética e alta eficiência na utilização do gás carbônico (CO₂) da atmosfera, caracterizando-se como uma planta de ciclo C₄. Embora adaptada às condições de elevada intensidade luminosa, altas temperaturas e baixos potenciais hídricos, esta cultura necessita de grandes quantidades de água, uma vez que somente 30% do seu peso constituem-se de massa seca e 70% de água, dependendo do estágio fenológico. A capacidade de assimilação hídrica pelas folhas é superior às outras gramíneas, de forma que o orvalho e os chuviscos, que não atingem o solo, também são absorvidos (SEGATO et al., 2006).

2. Estresses abióticos

O estresse é considerado um fator externo que exerce influência desvantajosa sobre a planta e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo. Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão frequentemente expostas aos diversos estresses ambientais, os quais limitam o desenvolvimento e as chances de sobrevivência (ALEXIEVA et al., 2003; TAIZ & ZEIGER, 2009). De fato, os estresses abióticos são considerados problemas eminentes para a agricultura, podendo reduzir significativamente os rendimentos das lavouras (NEPOMUCENO et al., 2001), restringindo as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (MITTLER, 2006). Também, provocam alterações no comportamento vegetal cuja irreversibilidade vai depender da duração e severidade do estresse, do estágio de desenvolvimento da planta e do genótipo utilizado (SANTOS & CARLESSO, 1998; NEPOMUCENO et al., 2001).

Dentre os diversos fatores abióticos que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, os estresses hídrico e ácido no solo devem ser destacados devido aos sérios danos causados na produção agrícola.

2.1 Efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo

Na natureza, os estresses ambientais não agem isoladamente sobre as plantas. Os efeitos são associados e decorrem em uma multiplicidade de respostas nos vegetais. Os estudos dos estresses, muitas vezes retratados na literatura destacam apenas o efeito do estresse isolado, isto é, estresse hídrico, térmico, luminoso, nutricional entre outros. O estresse hídrico é o mais estudado, visto que tal importância reside na influência negativa que exerce sob a produtividade vegetal. De fato, com o aumento do aquecimento global tem ocorrido ampliação dos períodos de seca, influenciando de forma direta na disponibilidade de água do solo (TERAMOTO, 2003). Desse modo, o baixo potencial hídrico influencia negativamente diversos aspectos do

desenvolvimento vegetal como redução acentuada da altura, da área foliar e da produtividade da cultura (SANDERSON et al., 1997).

Como a água é limitante para o crescimento e fundamental para a fotossíntese, a produtividade das plantas depende da quantidade disponível deste recurso e da eficiência de seu uso pelo vegetal. A diminuição da disponibilidade hídrica do solo provoca redução do alongamento celular, do consumo de carbono e energia, sendo maior proporção de fotoassimilados distribuída ao sistema radicular, diminuindo dessa forma a razão parte aérea/raiz, provavelmente, porque em condições de deficiência hídrica o sistema radicular tende a se desenvolver até que sua necessidade em fotoassimilados seja igual à quantidade produzida na parte aérea (TAIZ & ZEIGER, 2009). O baixo potencial hídrico pode, entretanto, estimular as reações adaptativas que capacitam as plantas a sobreviverem em períodos prolongados de seca; as alterações nas taxas de crescimento ocorrem por meio de um controle coordenado de muitos outros processos importantes, como a síntese de parede celular e de membranas, divisão celular e síntese protéica (BURSSENS et al., 2000).

Nos últimos anos, no estado de São Paulo, maior região produtora de cana-de-açúcar, ocorreu mudanças na distribuição da pluviosidade, aumentando a frequência de veranicos, isto é, breves períodos secos que ocorreram durante a estação chuvosa influenciando, negativamente, a produtividade da cultura (UNICA, 2002). Estes veranicos causam significativos prejuízos no estágio de desenvolvimento vegetativo da planta, período de maior necessidade de água (DIAS, 1997).

Dessa forma, um dos maiores desafios da agricultura está na manutenção da produtividade sob deficiência hídrica, sendo necessária à compreensão dos mecanismos de adaptação das plantas à seca (JALEEL et al., 2007).

Além do estresse hídrico, a acidez do solo causa sérios danos ao desenvolvimento das plantas (FUENTE-MARTINÉZ & HERRERA-ESTRELLA, 1999). Aproximadamente 1/3 dos solos tropicais e 40% dos solos agricultáveis do mundo, apresentam, naturalmente, níveis de acidez e alumínio solúvel, que limitam severamente o crescimento de espécies vegetais (MOSSOR, 2001; VITORELLO et al., 2005).

No Brasil, os solos que se apresentam alcalinos ou com pH próximo ao neutro são praticamente raros (HUNGRIA & VARGAS, 2000). Na realidade, 2/3 do território nacional, isto é, mais de 500 milhões de hectares são constituídos por solos ácidos que disponibilizam alumínio em nível tóxico (VITORELLO et al., 2005). Geralmente, solos com pH abaixo de 5,0 provocam decomposição nas estruturas minerais de argila, migrando o alumínio para a fração trocável ou para a solução do solo (FOY et al., 1978). O processo natural de acidificação do solo é muitas vezes intensificado por manejos agrícolas, pela mineração e por práticas de descarte de resíduos (FOY et al., 1978; RAO et al., 1993). No que se refere aos efeitos da agricultura, pode-se salientar que resíduos de plantas, fertilizantes a base de nitrogênio e materiais nitrogenados de origem animal, como esterco, são fontes responsáveis pela acidificação do solo (LANGE et al., 2006). Todavia, esses problemas podem ser corrigidos pela calagem, num processo que neutraliza os íons H^+ e Al^{3+} . Entretanto, como os corretivos da acidez são pouco solúveis, e os produtos da reação do calcário com o solo têm mobilidade limitada, a ação da calagem é restrita às camadas superficiais do solo (CAMBRI, 2004).

Em solos ácidos, com $pH \leq 5,5$, a toxicidade do alumínio é considerada um dos principais fatores que limitam o crescimento das plantas (KOCHIAN et al., 2005; ILLÉS et al., 2006). Esta acidez limita o uso das terras cultiváveis e agrava as perdas da agricultura. Nesses solos, o alumínio é o principal íon encontrado, tanto na forma de Al^{3+} , quanto na forma de $Al(OH)^{+2}$, a qual pode se tornar solúvel dependendo do valor do pH (FUENTE-MARTINÉZ & HERRERA-ESTRELLA, 1999). Em decorrência de vários processos de acidificação, formas tóxicas de Al^{3+} são liberadas para a solução do solo em níveis que afetam o crescimento das plantas (KOCHIAN et al., 2005). Embora a toxicidade causada pelo alumínio tenha sido identificada como um problema há mais de 70 anos, nossos conhecimentos em relação ao sítio primário da toxicidade provocada por esse elemento ainda permanecem desconhecidos (DELHAIZE & RYAN, 1995).

Nas plantas os efeitos prejudiciais do Al^{3+} são observados tanto no sistema radicular quanto na parte aérea (FAHL et al., 1982; BENNET & GRANGER, 2000). No entanto, por ser um elemento de pouca mobilidade dentro da planta, os efeitos biológicos do alumínio são muito mais evidentes nas raízes provocando, sobretudo,

drástica inibição do alongamento celular com subsequente redução do crescimento radicular e da absorção de água e nutrientes (BENNET & GRANGER, 2000; ZHENG & YANG, 2005).

Assim, a seleção de cultivares tolerantes à toxicidade de alumínio é um dos principais recursos para superar as restrições à produção agrícola em solos ácidos (VASCONCELOS et al., 2002).

Na literatura são escassos os estudos que abordam os efeitos associados da deficiência hídrica e da toxidez de alumínio nas plantas. Os mais recentes estudos sobre este assunto mostram os efeitos de diferentes plantas sob estresses combinados (ZAIFNEJAD et al., 1997; SHARMA & DUBEY, 2005; MARIN & SANTOS, 2008; RHEIN, 2008). De um modo geral, as plantas que se desenvolvem sob efeito associado dos estresses hídrico e ácido no solo apresentam maior redução no crescimento, comparando-se com plantas que se desenvolvem sob condições de apenas um dos estresses.

O desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca e à toxicidade de alumínio torna-se uma importante alternativa para aumentar a produtividade dessas culturas (CANTÃO, 2007). Os futuros programas de pesquisa devem enfatizar cada vez mais as respostas dos efeitos associados de estresses nas plantas, considerando que o efeito de um único estresse não explica a real complexidade dos múltiplos estresses de ocorrência simultânea na natureza (MITTLER, 2006).

3. Mecanismos de tolerância aos estresses abióticos

3.1 Ajuste osmótico

A habilidade de algumas plantas em ajustar osmoticamente suas células em condições adversas é uma resposta bioquímico-fisiológica que indica a capacidade destes organismos em aumentar a tolerância a períodos curtos de estresse (NEPOMUCENO et al., 2001). O ajuste osmótico, ou acumulação de solutos pelas células, é um processo pelo qual o potencial hídrico celular pode ser diminuído sem que haja decréscimo na turgidez ou no volume celular (TAIZ & ZEIGER, 2009). Este mecanismo tem sido verificado em várias espécies sendo considerado um dos mais eficazes para manutenção da turgescência celular, permitindo, principalmente, a manutenção da abertura estomática e fotossíntese constituindo uma das estratégias adaptativas do vegetal aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (SERRAJ & SINCLAIR, 2002; JALEEL et al., 2007).

Apesar de ser considerado um importante mecanismo de tolerância aos estresses abióticos, o ajuste osmótico não tem a função de promover o aumento da produtividade, e sim capacitar a planta a tolerar breves períodos de estresse e conduzi-la à retomada do crescimento. Este mecanismo apresenta elevado gasto energético o que pode afetar negativamente a produtividade e o uso eficiente da água pela planta (SERRAJ & SINCLAIR, 2002; TAIZ & ZEIGER, 2009).

As plantas superiores em condições de estresse acumulam açúcares, aminoácidos, aminas quaternárias, ácidos orgânicos, íons entre outros solutos (BARTELS & SUNKAR, 2005). No solo, o potencial matricial (ψ_m) torna-se cada vez menor conforme aumenta a deficiência hídrica; e a absorção de água pelas plantas decresce devido ao potencial hídrico celular ser maior que o potencial hídrico do solo. O ajuste osmótico, então, não ocorre em função do aumento na concentração de solutos durante a desidratação ou da diminuição de volume celular, mas sim pela biossíntese de solutos compatíveis com a água e, portanto, independe das alterações no volume das células resultantes da perda de água (COSTA, 2003).

3.1.1 Solutos compatíveis

Os solutos compatíveis, também conhecidos como osmólitos ou osmoprotetores são moléculas ou íons atóxicos de baixo peso molecular, que se acumulam em grandes quantidades, no citosol e organelas, e não interferem no metabolismo celular (SERRAJ & SINCLAIR, 2002). O incremento destes solutos no mecanismo de ajuste osmótico, preserva a integridade de proteínas, enzimas e membranas, mantendo o equilíbrio hídrico em condições ambientais desfavoráveis (HARE et al., 1999; BARTELS & SUNKAR, 2005).

A capacidade de acúmulo dos solutos compatíveis é uma resposta comum sob condições adversas e, nos últimos anos, vem sendo investigada principalmente nas plantas (TESTER & DAVENPORT, 2003). Para a identificação de uma substância com potencial osmoprotetor três informações são importantes: (i) ocorrência de aumento de uma molécula orgânica pequena em resposta à diminuição do potencial hídrico celular; (ii) possuir propriedades físico-químicas características de um soluto compatível quando estudado *in vitro* e (iii) ter efeito fisiológico semelhante a outros solutos conhecidos que conferem proteção contra a desidratação celular em espécies tolerantes (DRENNAN et al., 1993; INGRAM & BARTELS, 1996). Estes compostos compartilham a propriedade de permanecerem invariáveis em pH neutro e serem altamente solúveis em água (BALLANTYNE & CHAMBERLIN, 1994).

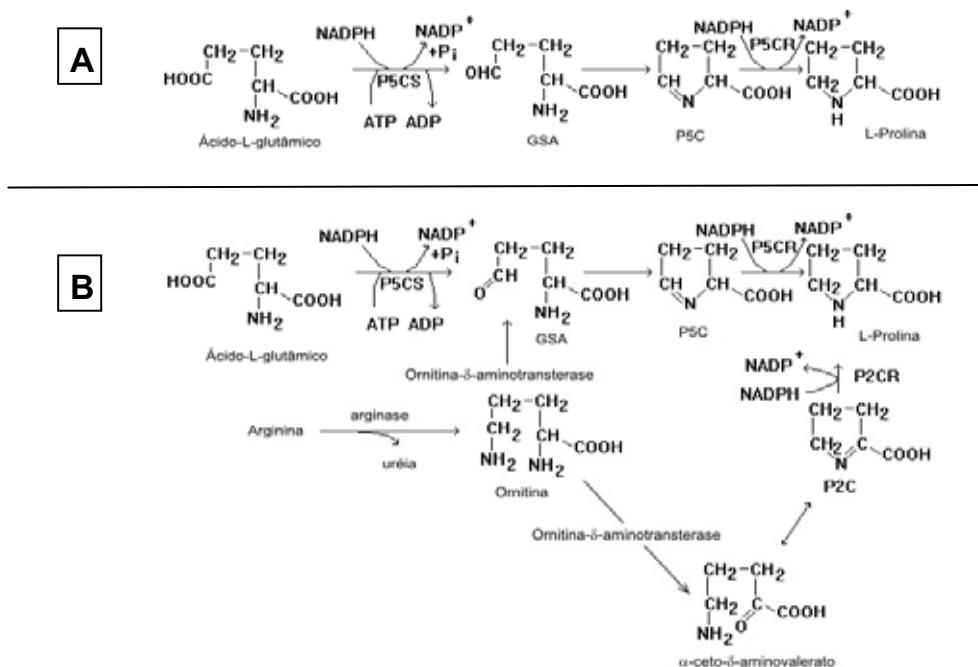
Diversas substâncias possuem função osmoprotetora destacando-se a prolina, a glicina betaína e a trealose, que além de participarem do mecanismo de ajuste osmótico, podem apresentar outros efeitos protetores nas plantas (BRAY et al., 2000).

Muitos trabalhos evidenciam que o acúmulo desses osmólitos constitui-se em um importante critério para estudos de tolerância aos estresses abióticos, sendo utilizados como indicadores bioquímico-fisiológicos do estresse hídrico e ácido nas plantas (HONGBO et al., 2006; MARIN et al., 2006). A identificação e a compreensão dos mecanismos bioquímico-fisiológicos auxiliam significativamente no desenvolvimento e no desempenho de novas cultivares mais produtivas (MELONI et al., 2004).

3.1.1.1 Prolina

A L-prolina é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos. Diferentemente dos demais, a prolina é considerada um “ α – iminoácido”, por possuir um grupo amino ligado a dois átomos de carbono, conferindo características de neutralidade à molécula (MOLINARI, 2006). Na sua forma pura, a prolina apresenta-se como uma substância incolor, altamente solúvel em água, medianamente solúvel em álcoois, razoavelmente em benzeno e acetona e insolúvel em outros compostos (MILNER-WHITE et al., 1992).

Nas plantas, como visualizada no esquema 4, a síntese de prolina pode ocorrer por duas vias paralelas, uma direta dependente do ácido-L-glutâmico e uma indireta, dependente da ornitina (KISHOR et al., 2005). Pela via direta (Esquema 4A), após a formação do glutamato semi-aldeído, a molécula se transforma em uma estrutura cíclica Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato (P5C), precursora da prolina.



Esquema 4. Via metabólica principal (A) e alternativa (B) de biossíntese de prolina em plantas (DELAUNEY & VERMA, 1993).

Essa estrutura é formada pela reação intra-molecular dos grupos amino e aldeído do glutamato-semi-aldeído. Na via dos derivados acetilados (Esquema 4B), a presença do grupo acetil ligado ao grupo 2-amino impede essa reação interna e uma estrutura aberta, a ornitina, é formada e pode levar à formação da estrutura cíclica da prolina, após a perda do grupo amino por transaminação (DELAUNEY & VERMA, 1993; SODEK, 2004). Embora as duas vias sejam importantes em condições normais, existem evidências que favorecem a via direta do glutamato em condições de estresse hídrico (BARTELS & SUNKAR, 2005; YAMADA et al., 2005).

A prolina está presente em pequenas quantidades nas plantas, aproximadamente entre 1 a 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de massa seca, quando estas são cultivadas sem nenhum tipo de restrição (NOGUEIRA et al., 2001). No entanto, sob condições de estresse a prolina se acumula no citosol, em grandes quantidades, contribuindo substancialmente para o ajuste osmótico citosólico, sendo este aumento associado à tolerância das plantas à desidratação (GARCIA & MEDINA, 2003; ASHRAF & FOOLAD, 2007). Este aminoácido é particularmente reconhecido pela efetiva participação como soluto compatível, e considerado osmólito-chave para o ajuste osmótico de plantas sob deficiência hídrica e toxicidade de alumínio (SHARMA & DUBEY, 2005; GIANNAKOULA et al., 2008; MARIN & SANTOS, 2008). Atua principalmente na preservação da estrutura de enzimas e membranas, na eliminação de radicais livres e na inibição da agregação de proteínas (SHARMA & DUBEY, 2005; ASHRAF & FOOLAD, 2007).

O aumento do conteúdo de prolina nas folhas é diretamente proporcional à severidade do estresse hídrico (NOGUEIRA et al., 1998). Este acúmulo em plantas pode ser consequência tanto do aumento na sua síntese quanto da redução na degradação (FERREIRA et al., 2002).

Em plantas de cana-de-açúcar tolerantes à deficiência hídrica, ocorreu significativo acúmulo de prolina conforme a redução dos níveis de água no solo (BIDOIA et al., 2006; QUEIROZ, 2006; RHEIN, 2008). É interessante salientar que, o acúmulo de prolina não ocorre somente como uma resposta das plantas à restrição hídrica, mas também sob condições de elevada acidez do solo, a qual é proporcionada pelo aumento da concentração de alumínio (MARIN et al., 2006; RHEIN, 2008). No

entanto, para uma melhor compreensão desses efeitos ainda necessita-se de muitas pesquisas em plantas economicamente importantes, pois são poucas as informações na bibliografia pertinente.

3.1.1.2 Glicina betaína

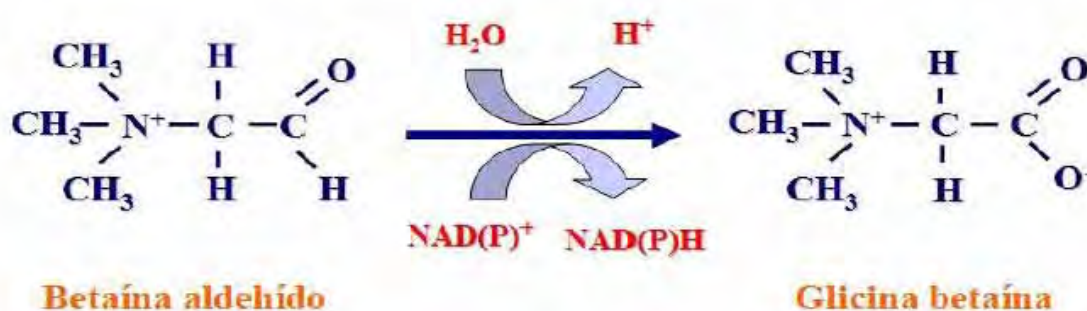
A glicina betaína, composto de amina quaternária (*N,N,N-trimetilglicina*), ocorre naturalmente em diversas famílias de plantas (Asteraceae, Chenopodiaceae, Malvaceae, Poaceae). Caracteristicamente é uma molécula anfótera, bipolar, mas eletricamente neutra em ampla faixa de pH, apresentando a propriedade de interagir com macromoléculas hidrofílicas e/ou hidrofóbicas, enzimas e complexos protéicos, além de ser extremamente solúvel em água (SAKAMOTO & MURATA, 2000).

Em plantas superiores, a biossíntese da glicina betaína, visualizada no esquema 2, ocorre no estroma dos cloroplastos por meio da oxidação do metabólito colina à betaína aldeído, pela enzima colina monooxigenase (CMO, EC 1.14.15.7). A conversão da betaína aldeído à glicina betaína, esquema 3, é realizada pela enzima betaína aldeído desidrogenase (BADH, EC 1.2.1.8), que cataliza a oxidação, irreversível, da betaína aldeído com redução de NAD^+ a NADP^+ (GORHAM, 1995; KOTCHONI & BARTELS, 2003). O acúmulo dessa amina quaternária é associado a uma regulação positiva da expressão do gene CMO e BADH concomitantemente, assim conduzindo a uma atividade enzimática elevada (RHODES & HANSON, 1993).



Esquema 2. Síntese da glicina betaína no cloroplasto (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004)

A glicina betaína não possui, exclusivamente nas células, a função osmoprotetora, pois esta molécula pode ser sintetizada a partir da molécula colina ou por meio de seus precursores para ser utilizada, em via metabólica formando compostos ligados à síntese do hormônio etileno e da molécula piruvato, além de ser fonte de carbono, nitrogênio e energia (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).



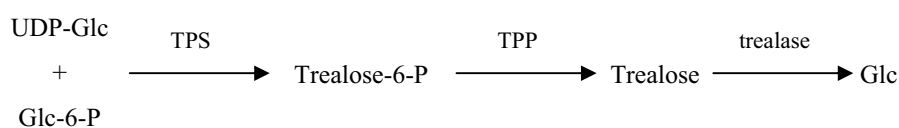
Esquema 3. Reação irreversível de oxidação da betaína aldeído à glicina betaína (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).

Como soluto compatível, esta amina quaternária é sintetizada pela maioria dos vegetais em resposta aos estresses ambientais, estando correlacionada aos níveis de tolerância das plantas (RHODES & HANSON, 1993; WADITEE et al., 2005). As principais funções da glicina betaína estão em preservar a integridade celular e proteger as membranas dos tilacóides, mantendo a eficiência fotoquímica na fotossíntese (ASHRAF & FOOLAD, 2007). Ainda, apresenta efetiva participação na estabilização tanto da estrutura quaternária das proteínas quanto da complexa estrutura da membrana celular (Le RUDULIER et al., 1984; MELONI et al., 2004). Adicionalmente, pode atuar como uma molécula sinalizadora que induz a expressão de genes associados à tolerância a desidratação (WADITEE et al., 2005). Em decorrência disto, esse soluto tem sido selecionado como alvo na engenharia molecular visando o estudo de tolerância à seca (RONTEIN et al., 2002). Algumas plantas acumulam glicina betaína para serem ajustadas osmoticamente, enquanto outras espécies não apresentam a

mesma capacidade de acúmulo (SAKAMOTO & MURATA, 2000). Desta forma, pesquisas relacionadas aos teores de glicina betaína podem ser uma ferramenta importante na investigação da tolerância de cultivares de cana-de-açúcar em condições de estresse abióticos, notadamente o hídrico e o ácido.

3.1.1.3 Trealose

A trealose, (α -D-glucopyranosyl-[1,1]- α -D-glucopyranoside), dissacarídeo não redutor, constituído por duas moléculas de glicose quimicamente estáveis, tem sido detectado em leveduras, bactérias, fungos e plantas (LEYMAN et al., 2001; EASTMOND et al., 2003; EI-BASHITI et al., 2005). Este carboidrato é um isômero químico de outros dois dissacarídeos amplamente encontrados nas plantas, a sacarose (α -D-glicose-[1,2]- β -D-frutose) e a maltose (α -D-glicose-[1,4]- α -D-glicose) (EASTMOND et al., 2003; EI-BASHITI et al., 2005). A rota metabólica, visualizada no esquema 1, foi descoberta em fungos por Cabib e Leloir em 1958, e posteriormente foi verificada semelhança à biossíntese e ao catabolismo em vegetais (GODDIJN & DUN, 1999; MÜLLER et al., 2001). Este composto é catabolizado nas plantas por meio da enzima trealase [EC 3.2.1.28] que hidrolisa a ligação glicosídica $\alpha(1-1)$ produzindo duas moléculas de glicose (GODDIJN & DUN, 1999).



Esquema 1. Biossíntese e degradação da trealose em fungos descoberta por Cabib e Leloir em 1958.

O dissacarídeo trealose acumula-se no citosol e atua como soluto compatível protegendo membranas e proteínas e conferindo tolerância à dessecação em células sob deficiência hídrica e toxidez de alumínio (ZHANG et al., 2005; GIANNAKOULA et

al., 2008). Este osmólito é considerado o mais eficaz em termos de concentração mínima requerida, visto ser extremamente raro em plantas, é geralmente substituído pela sacarose junto a outros açúcares. A trealose substitui a água removida em condições de desidratação, permitindo que as estruturas hidrofílicas permaneçam hidratadas (CROWE et al., 1984). De fato, com a substituição das moléculas de água pela trealose não há passagem da fase fluida para a fase gel da membrana, mantendo-se a integridade e a fluidez, e assim, a viabilidade celular (WINGLER, 2002; PATIST & ZOERB, 2005).

A trealose foi considerada, por muito tempo, apenas um composto de armazenamento, porém em fungos e bactérias sob condições de estresse obteve-se a correlação entre os níveis intracelulares da trealose e a tolerância à desidratação celular (RIBEIRO et al., 1999). Devido à especificidade desta molécula, no final do século XX, a trealose foi eleita alvo da engenharia molecular incrementando as pesquisas de cultivares tolerantes à seca (GODDIJN & DUN, 1999; SANPEDRO & URIBE, 2004). Os estudos sobre teores de trealose realizados em diferentes culturas economicamente importantes como arroz, milho, trigo, sorgo e arábida evidenciam que, as concentrações do açúcar variam muito entre as espécies. Porém, em cana-de-açúcar foi determinado elevado teor de trealose quando comparado às demais culturas (GARG et al., 2004). O mecanismo pelo qual o metabolismo deste dissacarídeo altera o desenvolvimento vegetal é pouco conhecido, pois os açúcares (sacarose, glicose e frutose), geralmente podem ser substâncias sinalizadoras da regulação da expressão gênica, enquanto a expressão de muitos genes de origem específica é, provavelmente, regulada somente pelas hexoses; é aceitável que a trealose, que é estruturalmente similar à sacarose, atue como análogo deste açúcar (WINGLER et al., 2000). Deste modo, o estudo relacionado aos teores de trealose pode ser uma ferramenta importante na investigação da tolerância de cultivares de cana-de-açúcar ao estresse hídrico e à toxicidade do alumínio (GARG et al., 2004; GIANNAKOULA et al., 2008).

3.2 Nitrato redutase

O nitrogênio é um elemento essencial. Ele exerce, nas plantas, função estrutural na formação de aminoácidos, proteínas, enzimas, coenzimas, vitaminas e pigmentos, como nas moléculas de clorofila, determinando o crescimento e o desenvolvimento das plantas e a produtividade dos cultivos (TAIZ & ZEIGER, 2009). No solo, a maior parte do nitrogênio absorvido pelas plantas está na forma de nitrato (NO_3^-). Antes de formar compostos orgânicos com aminoácidos, proteínas e outras substâncias nitrogenadas, o NO_3^- absorvido pelas raízes deve ser primeiramente reduzido para amônio (NH_4^+). Esta redução, em sua maior parte, ocorre no citosol das células do mesofilo foliar em que o NO_3^- passa para nitrito (NO_2^-), processo mediado pela enzima nitrato redutase tendo como agente redutor NADH^+ , originado na respiração (MEGURO & MAGALHÃES, 1987). Na seqüência, o NH_4^+ combina-se a compostos orgânicos, formando glutamina e, conseqüentemente outros aminoácidos.

A enzima nitrato redutase (EC 1.6.6.1), primeira atuante na rota de assimilação do N-inorgânico em plantas superiores, apresenta função de extrema importância no metabolismo vegetal, além de ser induzida, caracteristicamente, pelo seu substrato (DONATO et al., 2004). Muitos processos metabólicos e ambientais regulam a atividade desta enzima (SHARMA & DUBEY, 2005).

A capacidade total de redução do NO_3^- pelas plantas depende da disponibilidade de substrato no citosol; do nível funcional da nitrato redutase e da intensidade da atividade desta enzima. Desta forma, o teor de NO_3^- nas folhas é o metabólito chave que controla a capacidade de redução do NO_3^- nos vegetais (CAMPBELL, 1999).

Na célula, a meia vida da enzima nitrato redutase, recém sintetizada, é de poucas horas e, quando há diminuição do teor de nitrato para o vegetal, a quantidade da enzima é rapidamente reduzida (TAIZ & ZEIGER, 2009). A estimativa da atividade desta enzima tem sido utilizada como parâmetro indicador da resposta fisiológica de plantas submetidas às condições adversas (OLIVEIRA et al., 2005). Em condições de deficiência hídrica moderada a severa, ocorre acentuado decréscimo do fluxo de NO_3^-

para a planta, podendo contribuir para a redução da atividade da enzima em até 50% (ANDRADE NETTO, 2005).

Embora as causas fisiológicas sobre tolerância ao alumínio não estejam totalmente esclarecidas, estudos realizados sugerem uma possível inter-relação entre a toxidez de alumínio e o metabolismo do nitrogênio (AMARAL et al., 2000). Isto pode ser comprovado, pelo fato da atividade da enzima nitrato redutase ser acentuadamente reduzida em plantas sob toxicidade de alumínio (SHARMA & DUBEY, 2005).

3.3 Clorofilas

As clorofilas são os pigmentos fotossintéticos mais abundantes no planeta e a presença destas moléculas garante às plantas a capacidade de absorver energia luminosa, nos cloroplastos, para formação de ATP e NADPH na fotossíntese (ARUNYANARK et al., 2008). O crescimento e a adaptação das plantas a diferentes condições ambientais estão relacionados à eficiência fotossintética que, por sua vez, está associada aos teores de clorofila foliar (SCHLEMMER et al., 2005). Estas moléculas são formadas por complexos derivados da porfirina, tendo como átomo central o magnésio (Mg). Diversos fatores como luz, temperatura, pH, deficiência hídrica, alterações enzimáticas e aumento das concentrações de ABA e de etileno afetam a biossíntese das clorofilas, desta forma, os seus conteúdos foliares podem variar de maneira significativa (STREIT et al., 2005; BATAGIN, 2008).

A deficiência hídrica caracteriza-se como um dos estresses ambientais responsáveis pela degradação de pigmentos nas folhas, prejudicando o ciclo de vida dos vegetais. Também, em plantas submetidas à seca, decréscimos na concentração de clorofila podem ser atribuídos ao aumento da atividade da enzima clorofilase que degrada a clorofila. Durante os períodos de baixa umidade no solo, os conteúdos de clorofila em plantas de gramíneas são drasticamente afetados (LIMA et al., 2004).

A toxicidade do alumínio provocada pelos baixos valores de pH em solos ácidos prejudica acentuadamente a absorção e a translocação do magnésio e do nitrogênio, nutrientes fundamentais na constituição das moléculas de clorofilas (DELHAIZE &

RYAN, 1995; ROUT et al., 2001).

Os pigmentos foliares como as clorofilas podem ser utilizados como parâmetros indicativos de estresses abióticos nas plantas (RANA & AERY, 1999; CODOGNOTO et al., 2002; DUCRUET, 2003), como ocorre com o estresse hídrico e a toxicidade de alumínio (HENDRY & PRICE, 1993; MILIVOJEVIC et al., 2000).

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Cana-de-açúcar cv. IAC91-5155

A cultivar IAC91-5155, desenvolvida pelo Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Cana – Programa Cana/IAC, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, foi selecionada na região de Pindorama, SP, onde predominam os argissolos. Esta cultivar também é indicada para as regiões de Ribeirão Preto e Jaú, além dos estados de Minas Gerais e Goiás (JORNAL CANA, 2006). Ainda, apresenta grande adaptação às condições da região Centro-Oeste brasileira (SOCICANA, 2007), cuja estação seca coincide com o período da colheita, estágio em que as precipitações pluviais são importunas (VIEIRA JUNIOR et al., 2008).

A tolerância à seca e aos solos de baixa fertilidade é uma das principais características que justificam o plantio da cv. IAC91-5155 nessas regiões de produção, destacando-se, ainda, pela rusticidade, elevada produtividade de soqueira em áreas de cana crua e queimada, rápido crescimento inicial e adequado fechamento das entrelinhas (ROSSETTO, 2001). O período de utilidade industrial é longo, pois apresenta adequada produção na cana-planta e elevada produção nas soqueiras; alto teor de sacarose e baixo teor de fibra. Essa cultivar é apropriada para a colheita no período compreendido entre maio e outubro, com satisfatória brotação sob palha em qualquer período da safra (LANDELL et al., 2004). Ainda, por apresentar porte ereto, altura uniforme e desfolha espontânea, a cv. IAC91-5155 favorece a colheita mecânica e manual sem que haja queimadas (ROSSETTO, 2007).

Quanto aos aspectos fitossanitários, é sensível à ferrugem, resistente ao carvão, à escaldadura e à broca (*Diatraea saccharalis*), considerada a praga de maior importância na cultura da cana-de-açúcar (LANDELL et al., 2004). Nas regiões mais favoráveis à ferrugem, deve ser colhida no período inicial da safra, entre maio e julho (SOCICANA, 2007).

2. Instalação e condução experimental

O experimento foi conduzido a 21°15'Sul e 48°18'Oeste, em casa de vegetação localizada no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Jaboticabal, SP, no período de agosto a outubro de 2006. As avaliações dos parâmetros fisiológicos e bioquímicos foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária (DBAA) e do Departamento de Tecnologia, respectivamente, no período de outubro de 2006 a dezembro de 2007.

Para a obtenção das mudas de cana-de-açúcar, os mini toletes de uma gema foram provenientes da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Pólo Centro-Oeste, localizada no município de Jaú, SP.

Após 24 horas da realização da coleta, os toletes foram plantados em recipientes com capacidade para 0,25 dm³, contendo areia lavada e esterilizada, segundo metodologia de VINCENT (1970). Após a lavagem, a areia foi submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar.

As mudas originadas da brotação de uma gema foram mantidas em areia estéril, sem qualquer restrição hídrica, durante 30 dias. Após este período, foram selecionadas quanto à sanidade e homogeneidade e transferidas para vasos plásticos de 12 dm³ contendo amostras de terra provenientes de Latossolo Vermelho distrófico álico, com os respectivos tratamentos de disponibilidade hídrica e acidez no solo. Os efeitos da interação dos estresses hídrico e ácido no solo foram verificados aos 90 dias de crescimento das mudas (60 dias sob estresse). Este critério foi adotado devido ao primeiro estágio da cana-planta, isto é, início do desenvolvimento e perfilhamento se encerrar aos 180 dias (ROSENFELD & LEME, 1984).

3. Tratamentos de disponibilidade hídrica e acidez no solo

Para o estudo da cv. IAC91-5155 de cana-de-açúcar sob efeito da interação dos estresses hídrico e ácido no solo foi utilizado Latossolo Vermelho distrófico álico (PRADO, 2003), retirado de área localizada na Fazenda Experimental da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal, na profundidade de 20-40 cm. A análise química e granulométrica das amostras de terra (Tabela 1) foi realizada no Departamento de Solos e Adubos.

Foram estabelecidos três tratamentos hídricos e três níveis de acidez no solo. Os tratamentos de disponibilidade hídrica foram determinados a partir dos valores de porosidade total, microporosidade, macroporosidade e capacidade de campo (% CC). A porosidade total foi obtida pela diferença entre a massa do solo saturado e a massa do solo seco em estufa a 110°C durante 24 horas. A microporosidade do solo foi determinada pelo método da mesa de tensão com uma coluna de água de 60 cm de altura, considerando-se a densidade do solo, obtida pela relação entre a massa do solo seco, em estufa a 110°C durante 24 horas, da amostra de solo indeformada e o volume do cilindro. A macroporosidade foi calculada pela diferença entre a porosidade total e a microporosidade (EMBRAPA, 1997). A capacidade de campo do solo foi estabelecida em 70% da microporosidade, considerada adequada para a maioria das plantas cultivadas. De acordo com os valores obtidos deste parâmetro, a quantidade de água, em litros, foi estabelecida para cada tratamento de disponibilidade hídrica, a saber: controle (70% CC; 1,89 L); estresse moderado (55% CC; 1,49 L) e estresse severo (40% CC; 1,08 L).

Os vasos, umedecidos de acordo com os respectivos tratamentos de disponibilidade hídrica, constituíram-se as unidades experimentais formadas por uma única muda de cana-de-açúcar. O controle do regime hídrico foi realizado pelo método das pesagens de acordo com COGO & GUERRA (1978). Os vasos foram pesados a cada dois dias e a reposição de água foi realizada sempre que a variação entre a massa inicial e a massa obtida no dia da avaliação fosse igual ou

Tabela 1. Análise química e granulométrica das amostras de terra retiradas de um Latossolo Vermelho distrófico álico.

Análise Química										
pH	CaCl ₂	M.O.	P resina	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
		g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³					%	
4,1		14	4	1,4	3	2	42	6,4	48,4	13
Análise Granulométrica										
Argila	Limo	Areia		Classe Textural						
		Fina	Grossa							
		g Kg ⁻¹								
360	50	220	370	Argilosa						

M.O.: Matéria Orgânica; SB: Soma de Bases; T: Capacidade de Troca de Cátions; V: Saturação por Bases.

superior a 2%, assim a diferença entre as massas correspondeu à quantidade de água a ser completada (MARIN, 2003).

Para os tratamentos de acidez foram utilizados os valores da saturação por bases (V%) como referência mediante cálculo para necessidade de calagem (VAN RAIJ et al., 1997). Os valores de V% foram obtidos utilizando-se calcário calcinado (PRNT=130%) no solo. Para a homogeneização do calcário calcinado, as amostras de terra foram individualmente acondicionadas em sacos plásticos e em seguida foi adicionada água até a capacidade de campo. Estas amostras permaneceram em repouso durante 30 dias. Ao final deste período amostras de cada tratamento foram submetidas à análise química para verificar os níveis de acidez e as concentrações de alumínio tóxico (Tabela 2). Diante dos dados obtidos consideraram-se três tratamentos de acidez no solo: controle (V%=55; pH CaCl₂ de 5,1 e 0,0 mmol_c dm⁻³ de Al³⁺), média acidez (V%=33; pH CaCl₂ de 4,6 e 3,0 mmol_c dm⁻³ de Al³⁺) e alta acidez (V%=23; pH CaCl₂ de 4,2 e 6,0 mmol_c dm⁻³ de Al³⁺). O tratamento controle (V%=55) foi estabelecido por estar próximo ao de solos com V%=60, que proporciona adequada produtividade para a cultura da cana-de-açúcar (ROSSETTO et al., 2004).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3x3, com três tratamentos de disponibilidade hídrica e três tratamentos de acidez no solo, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e à análise da regressão polinomial (BANZATTO & KRONKA, 2006).

Tabela 2. Análise química das amostras de terra retiradas de um Latossolo Vermelho distrófico álico, após 30 dias de incubação com calcário calcinado (PRNT 130%).

Análise Química												
Tratamentos	pH CaCl ₂	M.O.	P resina	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
de		g dm ⁻³	mg dm ⁻³									%
acidez												
controle	5,1	14	4	1,4	14	11	0,0	22	26,4	48,4	55	0,0
média acidez	4,6	14	5	1,3	8	6	3,0	31	15,3	46,3	33	16,4
alta acidez	4,2	14	4	1,4	6	4	6,0	38	11,4	49,4	23	34,5
análise inicial	4,1	14	4	1,4	3	2	8,0	42	6,4	48,4	13	55,6

M.O.: Matéria Orgânica; SB: Soma de Bases; T: Capacidade de Troca de Cátions; V: Saturação por Bases; m: Saturação de Alumínio.

4. Coleta e preparo das amostras

Ao final do experimento, 60 dias sob efeito interativo dos estresses hídrico e ácido no solo (90 DAP)¹, foram realizadas as seguintes avaliações fisiológicas na parte aérea da cana-de-açúcar: número de folhas, massa de matéria seca de folhas, massa de matéria seca de colmos e área foliar, a qual foi determinada por meio do sistema de análise de imagens Delta-T Devices LTD pelo software Delta-T Image Analysis System. A determinação dos solutos compatíveis prolina, glicina betaína e trealose foi realizada na folha diagnóstico ou folha +1. A atividade da nitrato redutase e os teores de clorofilas foram realizados na folha +2, em virtude da folha+1 não apresentar tecido vegetal suficiente para todas as análises. Estas folhas são ideais para avaliações de compostos bioquímicos (VAN DILLEWIJN, 1952). Para o dissacarídeo trealose utilizou-se o método de NEVES et al. (1994) adaptado por QUEIROZ (2006). A quantificação de glicina betaína foi realizada segundo metodologia de GRIEVE & GRATTAN (1983) enquanto os teores de prolina foram determinados pelo método de BATES et al. (1973) e calculados com base na massa de matéria fresca de folhas.

¹Dias após o plantio.

5. Avaliações fisiológicas

5.1 Solutos compatíveis

5.1.1 Prolina

As quantificações de prolina foram realizadas em 0,5 g de tecido fresco da folha +1, segundo metodologia de BATES et al. (1973). O material foi macerado em 2 mL de ácido sulfosalicílico a 3%, sendo adicionados mais 8 mL do mesmo ácido. A solução homogeneizada foi submetida a duas filtragens para eliminação parcial dos interferentes. Em um tubo de ensaio foram colocados 2 mL do filtrado da parte aérea que reagiram com 2 mL de ácido ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial por 60 minutos em banho-maria à temperatura de 100°C. Decorrido este tempo, o tubo de ensaio foi imerso em gelo com a finalidade de cessar a reação. Foram então adicionados 4 mL de tolueno e a solução agitada por 15 a 20 segundos. Com auxílio de uma pipeta Pasteur foi retirado o sobrenadante e realizada a análise do equilíbrio da reação. Para a confecção do branco foi utilizado o tolueno. A leitura de absorbância das amostras foi realizada no comprimento de onda 520 nm, utilizando-se para tanto o espectrofotômetro Beckman DU 640, onde a intensidade da cor do cromógeno foi proporcional à concentração de prolina presente na solução em análise.

Os teores de prolina foram calculados com base na massa de matéria fresca da folha +1:

$$\mu\text{mol g}^{-1} \text{ de massa de matéria fresca} = \frac{\left[\left(\frac{\mu\text{g prolina}}{\text{mL}} \times \text{mL tolueno} \right) \right]}{\left(115,5 \mu\text{g} / \mu\text{mole} \right)} \cdot \frac{\left(\frac{\text{g amostra}}{5} \right)}{\left(\frac{\text{g amostra}}{5} \right)}$$

5.1.2 Glicina betaína

Os teores de glicina betaína da folha +1 foram determinados segundo metodologia de GRIEVE & GRATTAN (1983). Para tanto, as folhas coletadas de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel, previamente identificados, e levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C durante quatro dias e, em seguida, o material foi moído.

Os extratos foram preparados com adição de 10 mL de água deionizada para 0,25 g de material seco e moído. Subseqüentemente os extratos permaneceram durante 24 horas sob agitação em temperatura de 25°C, utilizando-se do aparelho, Shaker Modelo 4340, Marca NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC CO., INC., sendo que ao final deste período, os extratos foram filtrados e armazenados a 17°C negativos até a realização das análises. Para determinar o acúmulo de glicina betaína os extratos foram descongelados e misturados na proporção de 1:1 com H₂SO₄ 2N sendo em seguida mantidos em água gelada durante 60 minutos. Previamente, foi preparado o reagente KI-I₂. Para tanto, foram diluídos 15,7g de iodo e 20g de KI em 100 mL de água destilada; 0,2 mL deste reagente foi adicionado ao extrato e levemente agitado. Os tubos com os extratos foram mantidos à temperatura de 4°C durante 16 horas para cessar a reação, em seguida os tubos foram centrifugados a 11872 x g por 15 minutos à 0°C. O sobrenadante foi cuidadosamente retirado com uma micropipeta permanecendo apenas os cristais de periodato, os quais foram dissolvidos em 9,0 mL de 1,2-dicloroetano. Após 2 horas e 30 minutos, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 365 nm no espectrofotômetro Beckman DU 640.

Os teores de glicina betaína foram calculados com base na massa de matéria fresca da folha +1:

$$\text{Glicina betaína} = \mu\text{mol g}^{-1} \text{ de massa de matéria fresca}$$

5.1.3 Trealose

A quantificação dos teores de trealose foi realizada segundo método enzimático descrito por NEVES et al. (1994) e adaptado por QUEIROZ (2006). Para tanto, 1 g de tecido vegetal da folha +1 foi homogeneizado com 6 mL de Na_2CO_3 , formando uma mistura, a qual foi fervida por 20 minutos a 100°C , centrifugada a $3000 \times g$ durante 3 minutos. Foram adicionados a 200 μL do extrato (sobrenadante), 100 μL de ácido acético (1 mol dm^{-3} , pH: 5,5) e 100 μL da solução tampão (acetado de sódio 300 mmol dm^{-3} + CaCl_2 30 mmol dm^{-3}), os quais foram homogeneizados em agitador por 15 segundos. Desta mistura, foram retirados 100 μL e colocados em outro tubo ependorff imerso em gelo, ao qual foram acrescentados 100 μL de trealase conidial (atividade ótima em pH 5,5 a 60°C), preparada conforme descrito por NEVES et al. (1994).

Os tubos foram mantidos no gelo, e destes, retirados 50 μL da solução para confecção do branco da reação, sendo adicionados a outro tubo ependorff, contendo 150 μL de água destilada, também imerso em gelo. Estes tubos foram fervidos a 100°C por 10 minutos para que a reação de hidrólise da trealose não ocorresse. Foi confeccionado um branco para cada parcela experimental. Os tubos que continham o material a ser analisado foram incubados em banho-maria durante 60 minutos a 60°C , subseqüentemente, fervidos a 100°C por 10 minutos para cessar a reação. Após as amostras atingirem temperatura ambiente, adicionou-se 1 mL de glicose-oxidase (GOD, EC 1.1.3.4), sendo a reação incubada em banho-maria por 15 minutos a 37°C . Após incubação, houve a formação de um cromógeno vermelho. A análise do equilíbrio da reação foi realizada por meio de espectrofotometria a 505 nm, onde a intensidade da cor do cromógeno foi proporcional à concentração de glicose presente na solução em análise. A quantificação da trealose no tecido vegetal foi calculada de forma indireta, por meio da quantidade de glicose na folha +1:

$$\text{Trealose} = \frac{\text{Glicose}}{2} = \text{mg}$$

$$\text{Trealose} = \mu\text{mol g}^{-1} \text{ massa de matéria fresca}$$

5.2 Nitrato redutase

A atividade da nitrato redutase na folha +2 da cv. IAC91-5155 de cana-de-açúcar foi determinada de acordo com o método *in vivo* descrito por Jaworski (1971) e adaptado por CAZETTA (1997).

Imediatamente após a coleta do terço médio da folha +2 dos respectivos tratamentos, o material vegetal (sem nervura) foi cortado em pedaços de aproximadamente 5 mm e colocados em frascos escuros com 10 mL do meio de incubação composto por 6,0 mL de tampão fosfato 400 mM, pH 7,2; 6,0 mL de KNO₃ 200 mM; 6,0 mL de n-propanol 4% (v/v); 2,4 mL de triton X-100 a 0,1% (v/v) e 3,6 mL de água deionizada. Os frascos colocados em dessecador foram submetidos a vácuo com pressão de 60 cm Hg por um minuto, com posterior reintrodução do ar, repetindo-se este procedimento por três vezes. Em seguida, os frascos foram transferidos para incubação em banho-maria a 30°C, no escuro, durante 60 minutos. A reação foi interrompida com adição de 1 mL da solução de sulfanilamida a 1%. Devido à formação de nitrito, pela reação com a nitrato redutase, 0,5 mL do meio de incubação foi retirado para a determinação do nitrito segundo NICHOLAS et al. (1976). Posteriormente adicionou-se 0,5 mL de solução de sulfanilamida a 1% e 0,5 mL de solução de cloridrato de N-1naftil-etilendiamina a 0,02 % a esta alíquota. Esta solução permaneceu em repouso por 20 minutos, quando, então, adicionou-se água deionizada até completar o volume final para 4,0 mL.

A leitura de absorvância das amostras foi realizada em espectrofotômetro Beckman DU 640 no comprimento de onda 540 nm (JAWORSKI, 1971). A atividade da enzima redutase do nitrato foi calculada com base na equação da curva de padronização, na quantidade e no tempo do meio de incubação, bem como na massa fresca do tecido vegetal. Assim, foi expressa em:

$$\text{Nitrato redutase} = \mu\text{g N} - \text{NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ de massa de matéria fresca h}^{-1}$$

5.3 Clorofilas

Os teores de clorofilas da folha +2, da cv. IAC91-5155 foram determinados de acordo com metodologia de ARNON (1949). Para tanto, 0,5 g de tecido vegetal foi macerado com 5 mL de acetona 80% (v/v). Após a maceração, o material foi filtrado a vácuo e o volume final completado até 50 mL com acetona. Os extratos obtidos foram submetidos às leituras de absorvância, utilizando-se espectrofotômetro Beckman DU 640, nos comprimentos de onda de 663 nm, 645 nm e 652 nm. A leitura realizada no comprimento de onda 663 nm corresponde ao pico de maior absorção da clorofila a; no comprimento de onda 645 nm corresponde ao pico de maior absorção da clorofila b e no comprimento de onda 652 nm corresponde ao pico de maior absorção de clorofila total (a + b). Diante disso, a partir dos dados das leituras de absorvância foram calculados os teores das clorofilas a, b, total (a + b) e razão clorofila a/b, expressos em mg g⁻¹ de massa de matéria fresca, de acordo com as fórmulas propostas por ARNON (1949):

$$\text{Clorofila } \underline{a} = (12,7 \times (A_{663}) - 2,69 \times (A_{645})) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Clorofila } \underline{b} = (22,9 \times (A_{645}) - 4,68 \times (A_{663})) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Clorofila total } (\underline{a} + \underline{b}) = \frac{((A_{652}) \times 1000)}{34,5} \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Razão clorofila } \underline{a/b} = \frac{4,70 A_{663} - A_{645}}{4,87 A_{645} - A_{663}} \times 0,574$$

onde:

A = absorvância (nm);

V = volume final do extrato (acetona 80% + clorofila);

W = massa fresca das amostras (g).

5.4. Crescimento inicial

As plantas foram cortadas na altura do colo e em seguida determinou-se o número de lâminas foliares. Posteriormente à coleta do material, realizou-se a análise da área foliar (dm^2) com o auxílio do aparelho Delta-T Image Analysis System. A parte aérea foi separada em folhas e colmos, sendo acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C até atingir massa constante. Para determinação da massa de matéria seca (mg) de folhas e colmos utilizou-se balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 0,0001g. Todas as análises foram determinadas no perfilho primário.

6. Tratamento estatístico

Para a análise dos resultados obtidos foi empregado o tratamento estatístico das características individuais. A análise de variância foi realizada pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos fatores quantitativos, disponibilidade hídrica e acidez do solo (BANZATTO & KRONKA, 2006).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de variância dos solutos compatíveis prolina, glicina betaína e trealose, na folha +1, sob efeito da interação da disponibilidade hídrica e da acidez no solo estão apresentadas na Tabela 3. Verifica-se que houve efeito significativo da interação disponibilidade hídrica e acidez no solo (Figuras 1 a 6).

Pelo desdobramento dos graus de liberdade desta interação observa-se que, a interação do estresse hídrico e da média acidez no solo ($V\%=33$) causou diminuição de 8,8% (menos $0,05 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca) nos teores de prolina até 63,3% CC, indicando que pode ter ocorrido degradação ou utilização metabólica desse aminoácido (Figura 1; *vide* Tabelas I e II do apêndice). Contudo, a partir da disponibilidade hídrica de 63,3% CC houve acúmulo de prolina, de 19,5% (mais $0,1 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca). No tratamento de alta acidez ($V\%=23$) combinado à diminuição da disponibilidade hídrica houve incremento de 9,3% (mais $0,06 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca) no conteúdo de prolina. Isto sugere que, nessas condições ($V\%=23$), pode ter ocorrido efeito físico-químico no solo proporcionado pelo aumento da concentração de alumínio, o que causaria maior escassez de água para absorção da planta. Em cultivares de guandu houve aumento nos teores de prolina conforme diminuição da disponibilidade hídrica combinada à elevada acidez decorrente da disponibilidade de alumínio tóxico no solo (MARIN et al., 2006).

Para o tratamento controle de acidez no solo ($V\%=55$) combinado a elevada deficiência hídrica (55% CC para 40% CC) houve aumento nos teores de prolina, de 13,6% (mais $0,08 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca) mostrando que o acúmulo deste aminoácido nas plantas está mais relacionado com a quantidade de água disponível no solo que à presença do íon tóxico. Em outras pesquisas com plantas de cana-de-açúcar cultivadas em casa de vegetação foram constatados acúmulo de prolina de aproximadamente 181,9% e de 151,3% conforme aumento da deficiência hídrica no solo (RINCONES, 1997; BIDOIA et al., 2006), respectivamente. Também, plantas de cana-de-açúcar cultivadas em meio de cultura e induzidas à seca pelo

Tabela 3. Análises de variância dos teores de prolina, glicina betaina e trealose, na folha +1 de plantas jovens cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios		
		Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	Glicina betaina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	Trealose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)
Disponibilidade hídrica (H)	2	0,0193**	8,5710**	5,2691**
Acidez (A)	2	0,0562**	2,0273 **	2,0434**
Interação HxA	4	0,0021*	0,9711**	1,2562**
Tratamentos	8	0,0199	3,1351	2,4562
Blocos	3	0,0031 ^{ns}	0,0888 ^{ns}	0,0579 ^{ns}
Resíduo	24	0,0007	0,1077	0,0385
C.V.(%)		4,0723	3,3767	7,2180

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: Coeficiente de Variação; MF: Massa de matéria fresca; MS: Massa de matéria seca.

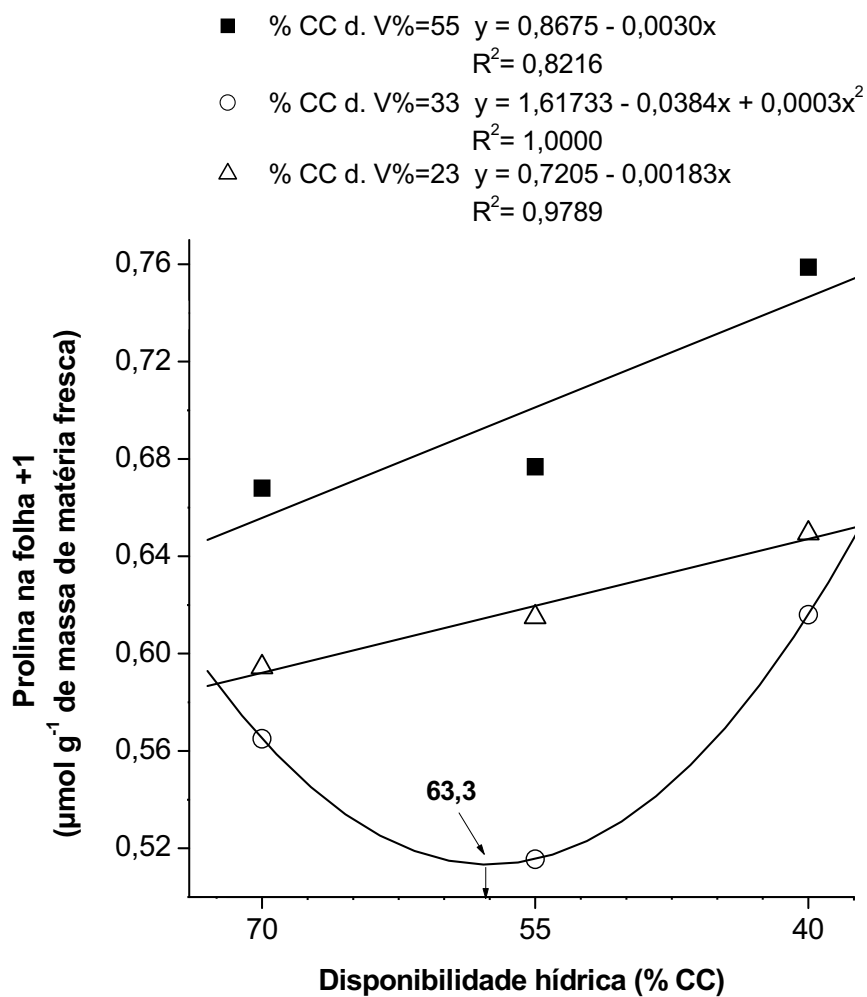


Figura 1. Teores de prolina em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

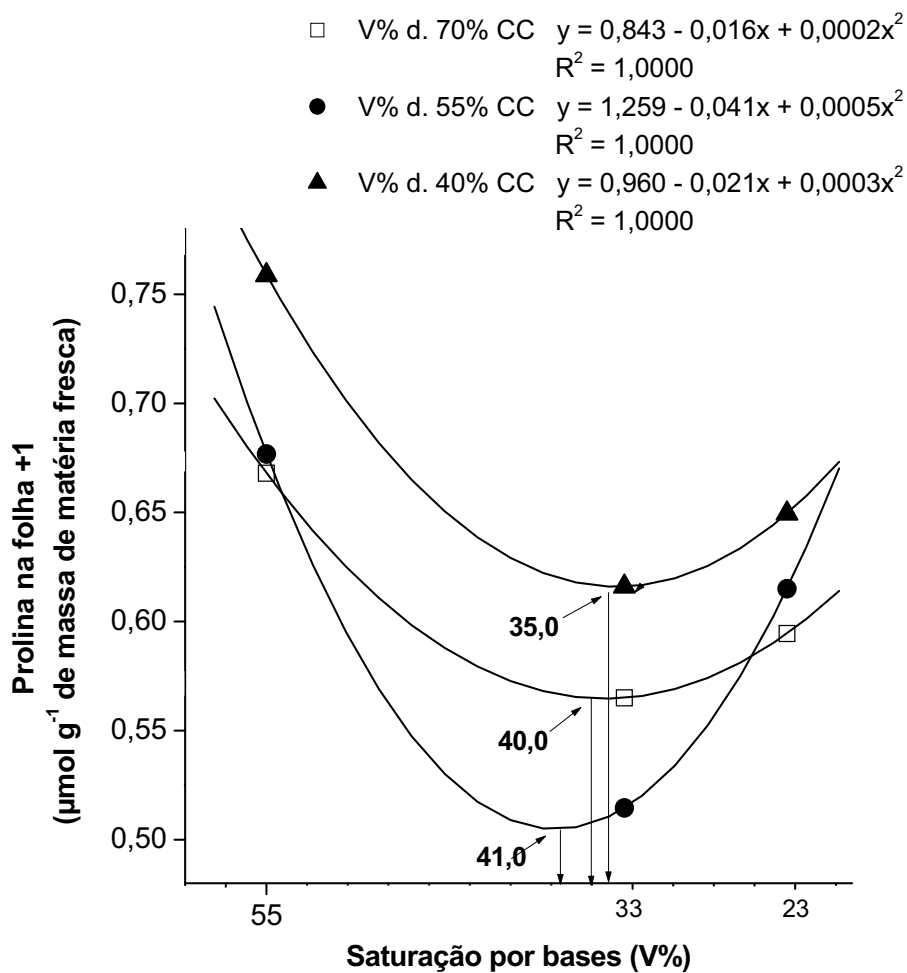


Figura 2. Teores de prolina em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

auxílio do manitol apresentaram incremento no conteúdo de prolina, conforme diminuição do potencial hídrico no solo (CHA-UM & KIRDMANEE, 2009). Em cultivares de milho sob deficiência hídrica ocorreu significativo aumento nos teores de prolina, porém quando reidratadas verificou-se redução dos teores deste aminoácido (EFEOĞLU et al., 2009). No ajuste osmótico de folhas com baixo potencial hídrico, a prolina se acumula como osmólito-chave para estabilizar membranas e manter a conformação de proteínas, impedindo a desidratação do citosol (KISHOR et al., 2005). Existe vasta literatura que aborda a prolina como o principal soluto compatível para detectar o ajuste osmótico de plantas sob deficiência hídrica (ASHRAF & FOOLAD, 2007; JALEEL et al., 2007).

Houve queda no conteúdo de prolina até $V\%=33$ em todos os tratamentos de disponibilidade hídrica (Figura 2). O efeito tóxico do alumínio ($V\%=33$ para $V\%=23$) combinado aos tratamentos de deficiência hídrica (55% CC e 40% CC) evidenciou rápido incremento nos teores de prolina, de 19,1% (mais $0,1 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca) e 5,4% (mais $0,03 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca), respectivamente (Figura 2; *vide* Tabela II do apêndice). Ainda é interessante notar o efeito isolado do alumínio nas plantas jovens de cana-de-açúcar. No tratamento controle (70% CC), as concentrações de acidez $V\%=40$ para $V\%=23$ causaram acúmulo de prolina, de 5,2% (mais $0,03 \mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria fresca), mostrando que este aminoácido pode ser considerado osmólito-chave no ajuste osmótico para indicar baixo potencial hídrico nas plantas, e também indicador do estresse por alumínio (BIDÓIA et al., 2006; MARIN & SANTOS, 2008). Em plantas jovens de arroz cultivadas em solução nutritiva sob interação da deficiência hídrica, induzida pelo PEG 6000, e da toxicidade de alumínio, pelo fornecimento de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, ocorreu acentuado incremento nos teores de prolina, conforme aumento da severidade dos estresses (SHARMA & DUBEY, 2005). Em plantas de guandu os efeitos da acidez foram significativos na disponibilidade hídrica de 20% CC, considerada severa, mostrando aumento no conteúdo de prolina, em resposta ao aumento da acidez do solo (MARIN et al., 2006). Sob condições de elevada toxicidade de alumínio houve incremento significativo de prolina em plantas de trigo e milho (ZAIFNEJAD et al., 1997;

GIANNAKOULA et al., 2008), respectivamente indicando que a síntese deste aminoácido está inteiramente relacionada aos teores de alumínio presentes nas plantas (ZAIJNEJAD et al., 1997). O acúmulo de prolina nos tecidos vegetais de plantas cultivadas sob condições de múltiplos estresses tem sido mostrado por resultar da diminuição da degradação de prolina, do aumento da sua biossíntese, da diminuição da síntese de proteínas ou do aumento na hidrólise de proteínas (HARE et al., 1999).

Pelos valores observados na análise de regressão polinomial para os teores de glicina betaína verifica-se o efeito combinado da disponibilidade hídrica e acidez no solo (Figura 3; *vide* Tabela III do apêndice). A interação de ambos os estresses no solo causou acúmulo de glicina betaína conforme aumento da restrição hídrica, 70% CC para 40% CC (Figura 3). Tal acúmulo foi de 26,4% (mais 2,35 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria seca) no tratamento de média acidez, $V\%=33$ (*vide* Tabela IV do apêndice). Todavia, nas plantas sob efeito da alta acidez ($V\%=23$) combinada às maiores restrições hídricas (55% CC a 40% CC) houve menor acúmulo de glicina betaína com 13,1% (mais 1,26 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) quando comparado ao tratamento anterior, indicando que nestas condições, este soluto possa ter sido menos sintetizado, muito mais em decorrência do aumento da acidez que da carência hídrica. Em plantas jovens de arroz sob toxidez de alumínio houve aumento significativo nos teores de glicina betaína (SHARMA & DUBEY, 2005).

Em contrapartida, no tratamento isento de íons alumínio na solução do solo ($V\%=55$) houve acúmulo de glicina betaína de 16,9% (mais 1,4 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria seca) conforme aumento da deficiência hídrica no solo (70% CC a 40% CC). Ainda, considerando a restrição hídrica em cada tratamento de acidez verifica-se que, no tratamento mais severo (40% CC) houve acúmulo de glicina betaína de 15,7% (mais 1,53 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) até os níveis de $V\%=34,9$. A partir deste valor de $V\%$ nota-se declínio dos teores deste soluto, de 3,7% (menos 0,42 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa de matéria seca) indicando que a severidade de estresses combinados não induz a planta a acumular glicina betaína (Figura 4, *vide* Tabela IV do apêndice). Estes resultados sugerem que a glicina betaína contribua para o ajuste osmótico em plantas

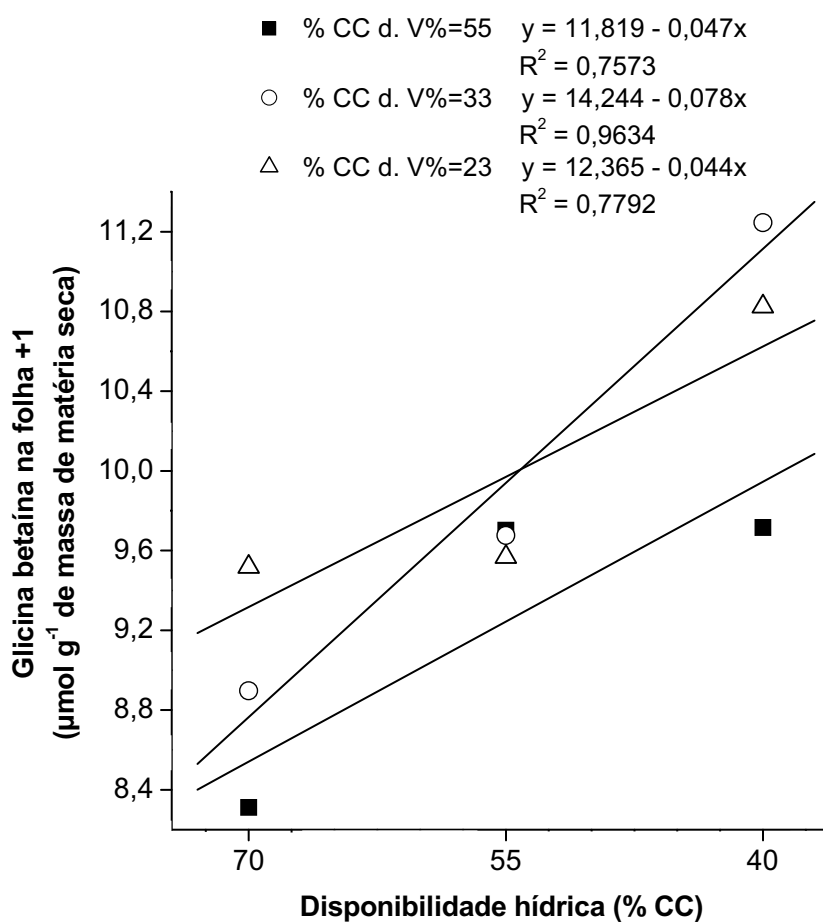


Figura 3. Teores de glicina betaína em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

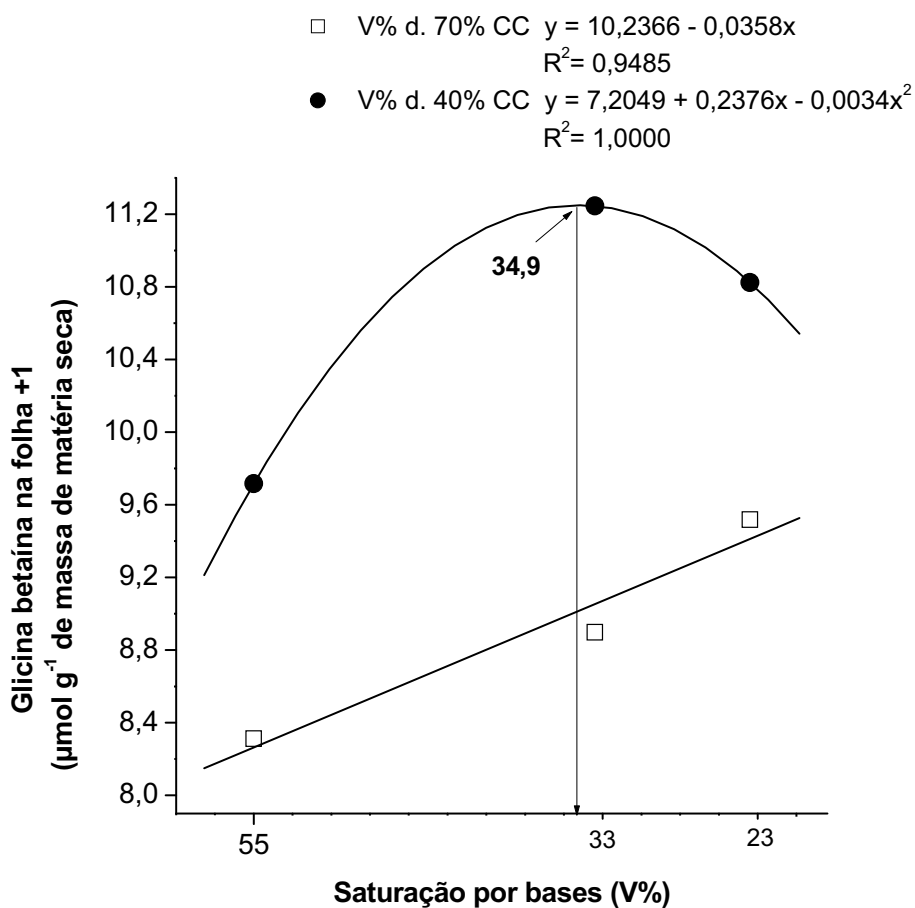


Figura 4. Teores de glicina betaina em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo dos estresses moderados de acidez ($V\%=55$ a $V\%=34,9$) em solos com baixo potencial hídrico. Na realidade, neste caso, como soluto (π) o alumínio pode ter causado a redução do potencial osmótico (ψ_{π}) e provocado conseqüente entrada de água na célula foliar, que induzida ao acúmulo de glicina betaína pela restrição hídrica severa, pode manter o turgor pela função desta amina como soluto compatível na hidratação celular. Também considerando que, os efeitos do alumínio são mais drásticos nas raízes (órgão de sustentação, absorção de água e transporte de íons), o efeito da moderada toxicidade estudada neste trabalho ($V\%=55$ a $V\%=34,9$) causou alterações morfológicas como encurtamento e engrossamento do sistema radicular que conduziram a menor eficiência de absorção de água com conseqüente deficiência hídrica celular potencializada pela já estabelecida restrição hídrica severa do solo (40% CC). De fato, em plantas sob toxidez de alumínio, devido às mudanças na morfologia do sistema radicular, estão sob deficiência hídrica (GIANNAKOULA et al., 2008).

Pelo desdobramento dos graus de liberdade desta interação observa-se que, para trealose a interação do estresse hídrico e ácido no solo causou diminuição nos teores deste dissacarídeo até 54,6% CC em $V\%=33$ e até 58,2% CC em $V\%=23$ indicando que ocorreu degradação ou utilização metabólica do açúcar (Figura 5; vide Tabela V do apêndice). A partir destes valores de disponibilidade hídrica houve acúmulo de trealose nos tratamentos de média e alta acidez correspondendo a 114,4% (mais $2,1 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e 73,9% (mais $1,44 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF), respectivamente (Figura 5; vide Tabela VI do apêndice). Esses dados mostram-se superiores aos encontrados por QUEIROZ (2006) para essa mesma cultivar, onde houve 61,4% de aumento de trealose nas plantas conforme aumento da deficiência hídrica no solo (70% CC a 25% CC). Os maiores valores de trealose encontrados nesse trabalho evidenciam, portanto, significativo efeito da interação disponibilidade hídrica e acidez no solo, nessa cultivar de cana-de-açúcar.

No tratamento controle de acidez ($V\%=55$) houve aumento linear de 25,9% no conteúdo de trealose, (mais $0,54 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF), conforme diminuição da disponibilidade

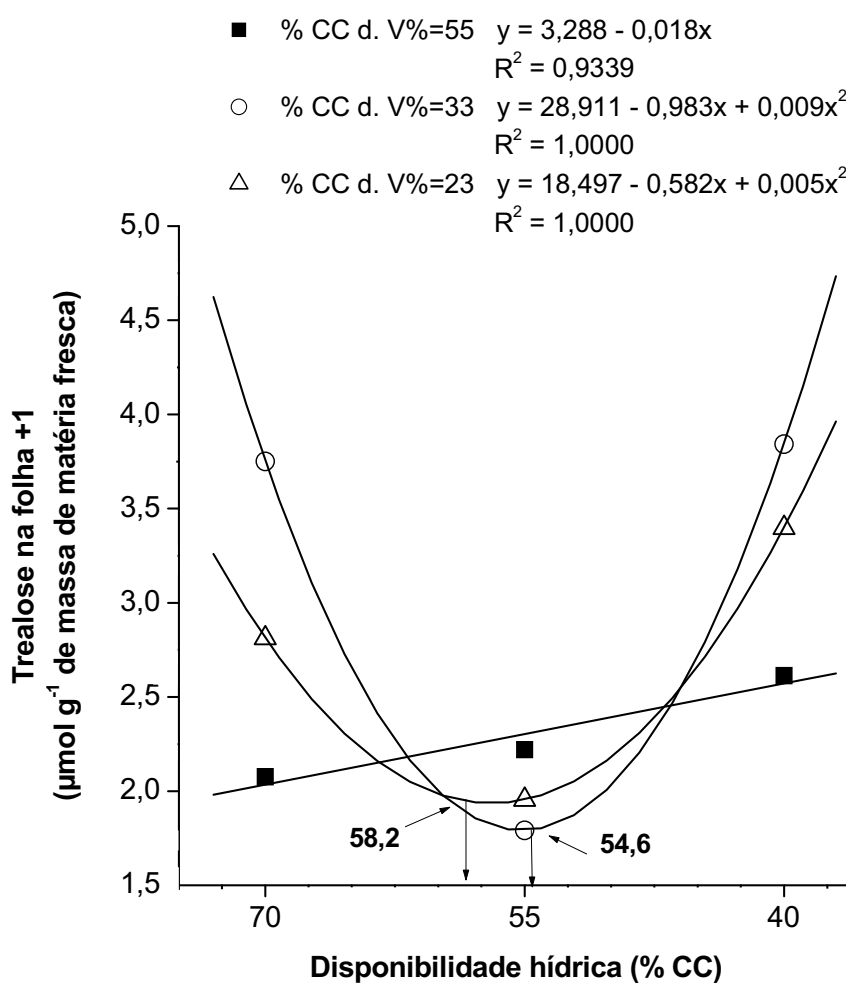


Figura 5. Teores de trealose em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

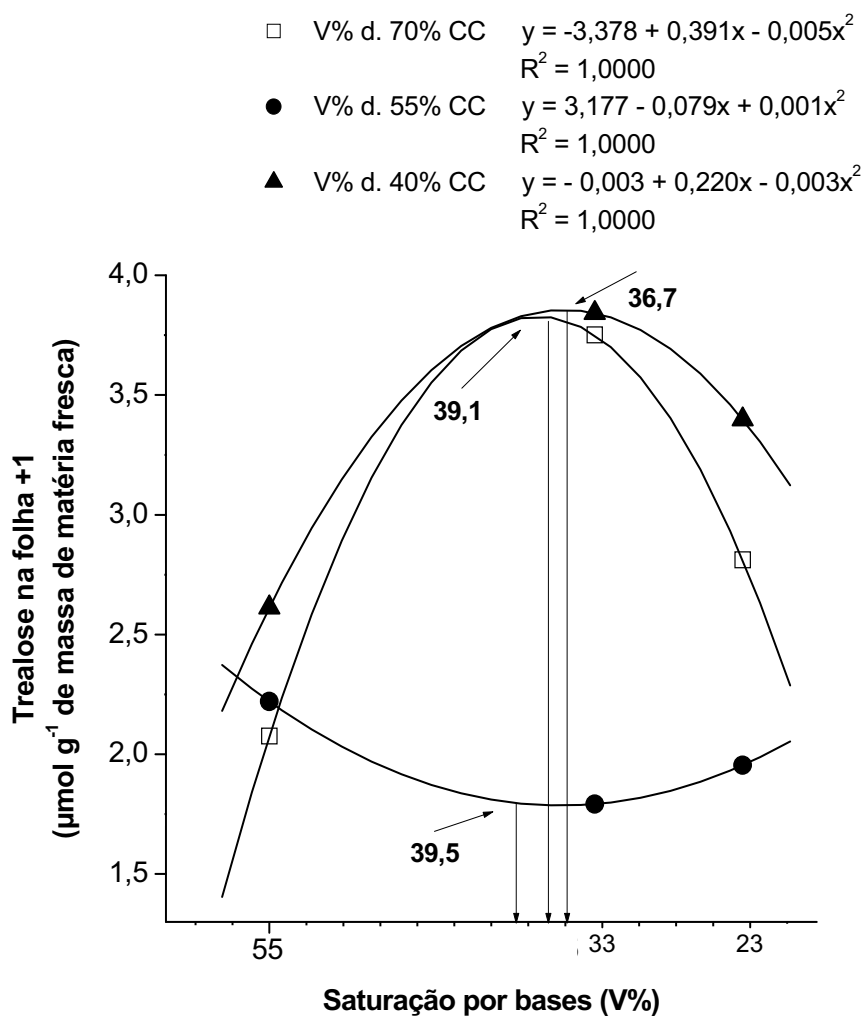


Figura 6. Teores de trealose em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

hídrica no solo (70% CC para 40% CC).

Com suficiente hidratação no solo (70% CC) até $V\%=39,1$ a cultivar estudada apresentou significativo acúmulo de trealose, de 80,7% (mais $1,67 \mu\text{mol g}^{-1}$ MF), indicando que sob estresse moderado de alumínio ocorre incremento deste dissacarídeo (Figura 6; *vide* Tabela IV do apêndice). Por outro lado, quando submetida à elevada toxicidade do alumínio ($V\%=36,7$ para $V\%=23$) combinada ao tratamento de 40% CC, observou-se drástica redução nos teores de trealose, 11,6% (menos $0,44 \mu\text{mol g}^{-1}$ massa de matéria fresca). Isto ocorre devido à intensificação dos estresses associados. Assim, sob estes tratamentos pode-se inferir que a trealose não atua como soluto compatível. De um modo geral, a trealose é encontrada em baixas concentrações e em poucas espécies vegetais (WINGLER, 2002). Em folhas de milho sob toxidez de alumínio houve aumento de 41% no conteúdo de carboidratos, os quais atuam como solutos compatíveis (GIANNAKOULA et al., 2008). Os dados do tratamento 55% CC são aleatórios e difíceis de serem discutidos ou interpretados.

A análise de variância da atividade da enzima nitrato redutase, na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, sob efeito da interação da disponibilidade hídrica e da acidez no solo está apresentada na Tabela 4.

Verifica-se que a atividade da enzima foi significativa apenas para disponibilidade hídrica no solo (Tabela VII do apêndice) com tendência linear decrescente (Figura 7). Conforme ocorreu aumento da deficiência hídrica (70% CC para 40% CC) houve redução da atividade da nitrato redutase, em 31,4% (menos $1,32 \mu\text{g N-NO}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa de matéria fresca h^{-1}). Este resultado concorda com outra pesquisa em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica, em casa de vegetação, em que se constatou redução desta enzima, variando de 14,3 a 36,1% (NAIK et al., 2002). Outros trabalhos com plântulas de milho e *Arabidopsis* também mostraram redução da atividade da nitrato redutase com o aumento da severidade da deficiência hídrica do solo (XU & ZHOU, 2004). Estes resultados sugerem que a restrição hídrica reduz a atividade da enzima nitrato redutase em virtude da diminuição do fluxo transpiratório e com isso o transporte de nitrato para as folhas, uma vez que esta enzima é altamente induzida pelo substrato NO_3^- (ANDRADE NETTO, 2005). Na maioria das espécies a atividade

Tabela 4. Análise de variância da atividade da enzima nitrato redutase na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Atividade da enzima nitrato redutase ($\mu\text{g N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ de MF h}^{-1}$)
Disponibilidade hídrica (H)	2	3,1757 **
Acidez (A)	2	0,0771 ^{ns}
Interação HxA	4	0,3553 ^{ns}
Tratamentos	8	0,9908
Blocos	3	0,1033 ^{ns}
Resíduo	24	0,1661
C.V. (%)		11,4382

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); C.V.: Coeficiente de Variação; MF: Massa de matéria fresca.

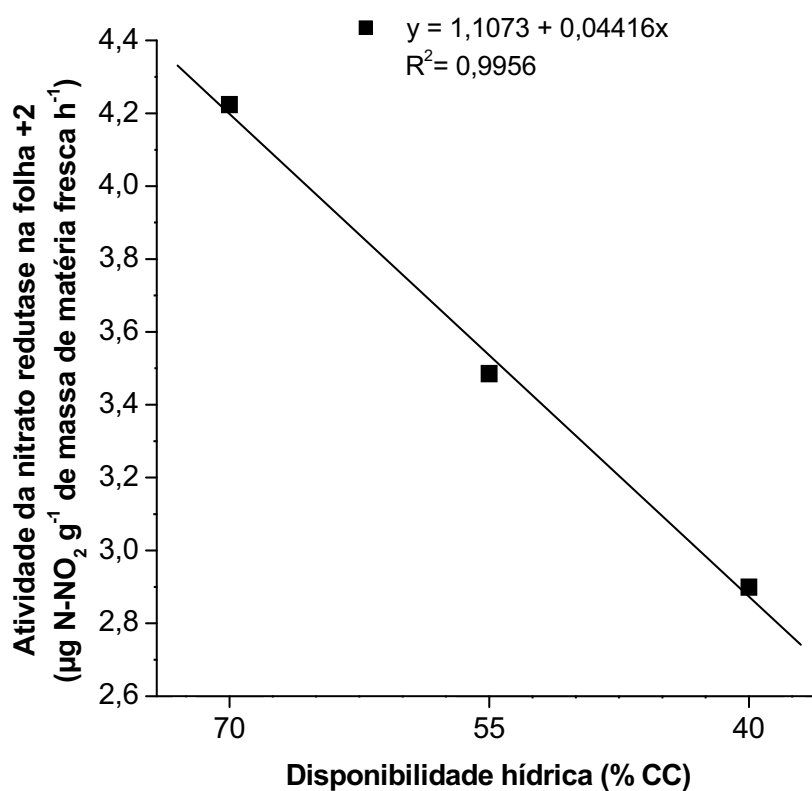


Figura 7. Atividade da enzima nitrato redutase em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

da nitrato redutase é baixa ou não detectável quando cultivadas em ambientes secos que causam ausência de nitrato no solo (DONATO et al., 2004). A restrição hídrica no solo interfere na quantidade de nitrogênio na planta, limitando seu crescimento, pois esse nutriente é fundamental para importantes vias metabólicas. Assim, os resultados obtidos podem sugerir que as disponibilidades hídricas de 55% CC e 40% CC proporcionem menor assimilação de nitrogênio pela cv. IAC91-5155, devido ao drástico efeito na diminuição da atividade da nitrato redutase. Com a restrição mais severa de água, o potencial de turgescência da folha se anula, paralisando, além da expansão da área foliar, a biossíntese de proteínas e a atividade de enzimas como a nitrato redutase (YORDANOV et al., 2000). Em solos com deficiência hídrica ocorre a baixa disponibilidade de nitrogênio, elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005).

Com relação à acidez, embora não tenha havido resultados significativos no presente trabalho (Tabela 4) outros estudos evidenciam que a toxidez de alumínio no solo causa declínio da atividade da nitrato redutase. De fato, em solo ácidos (pH abaixo de 5,0), o alumínio tóxico constitui-se em um dos maiores problemas, devido ao predomínio de NH_4^+ tornando a forma NO_3^- indisponível para os vegetais (FOY et al., 1978). Em plantas jovens de arroz cultivadas em solução nutritiva sob interação da deficiência hídrica, induzida pelo PEG 6000, e da toxicidade de alumínio, pelo fornecimento de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, mostraram acentuado declínio da atividade da nitrato redutase (SHARMA & DUBEY, 2005). Esses resultados diferem dos encontrados no presente trabalho, pois a acidez do solo provocada pela toxicidade de alumínio não interferiu na atividade da enzima nitrato redutase na parte aérea de plantas jovens de cana-de-açúcar.

As análises de variância dos teores de clorofilas (a, b, total (a+b) e razão a/b) na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, sob efeito da disponibilidade hídrica e acidez no solo estão apresentados na Tabela 5.

Verifica-se que houve acentuada diminuição dos pigmentos clorofilianos sob efeito isolado da deficiência hídrica e da acidez no solo, evidenciada pelo estudo das análises de regressões polinomiais com tendência linear decrescente (Figuras 8 a 13).

Tabela 5. Análises de variância dos teores de clorofilas na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios			
		Clorofila <u>a</u> (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila <u>b</u> (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila total (<u>a</u> + <u>b</u>) (mg g ⁻¹ MF)	Razão clorofila (<u>a</u> / <u>b</u>) (mg g ⁻¹ MF)
Disponibilidade hídrica (H)	2	0,1685**	0,1503**	0,4800**	0,0011 ^{ns}
Acidez (A)	2	0,0582*	0,0350*	0,1339*	0,0055 ^{ns}
Interação HxA	4	0,0174 ^{ns}	0,0164 ^{ns}	0,0512 ^{ns}	0,0019 ^{ns}
Tratamentos	8	0,0654	0,0545	0,1791	0,0026
Blocos	3	0,0092 ^{ns}	0,0037 ^{ns}	0,0158 ^{ns}	0,0051 ^{ns}
Resíduo	24	0,0109	0,0097	0,0299	0,0037
C.V.(%)		16,9833	16,9602	16,5165	5,7784

^{ns}: não significativo (P > 0,05); *: significativo (P < 0,05); **: significativo (P < 0,01); C.V.: Coeficiente de Variação. MF: Massa de matéria fresca.

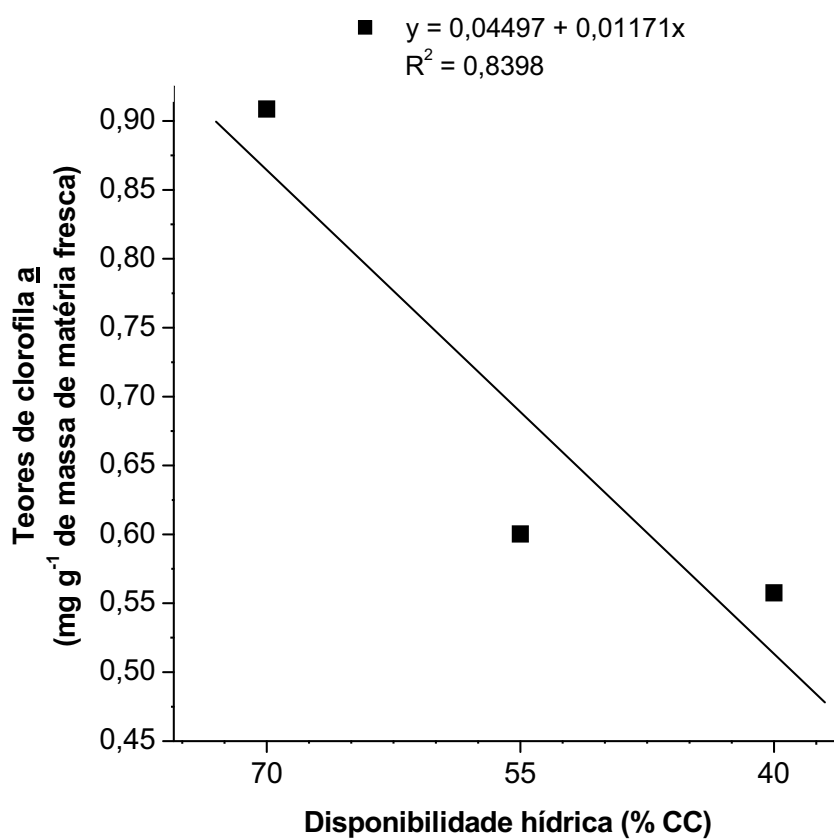


Figura 8. Teores de clorofila a em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

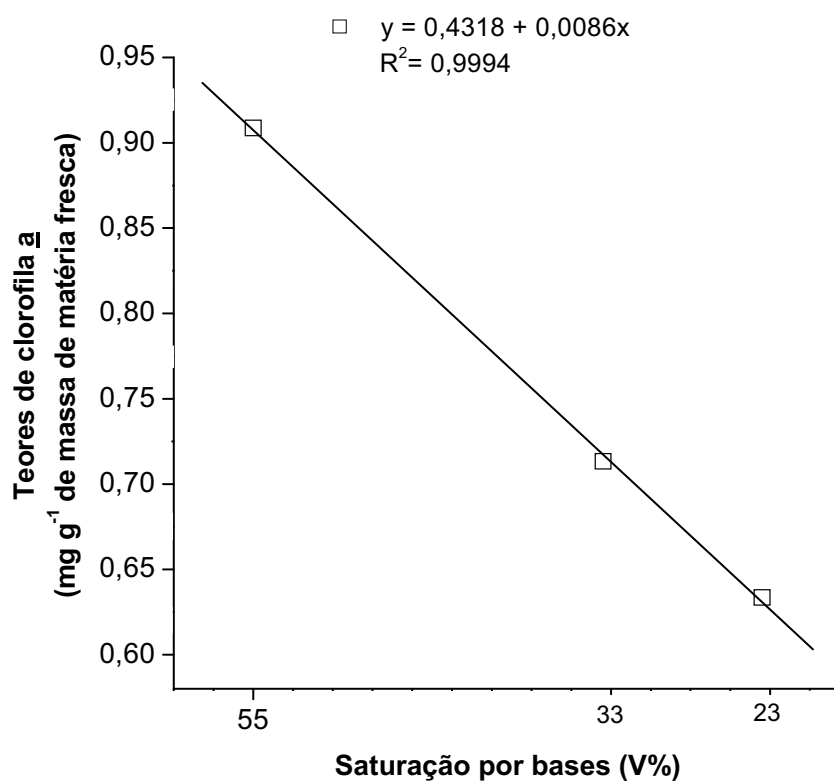


Figura 9. Teores de clorofila a em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

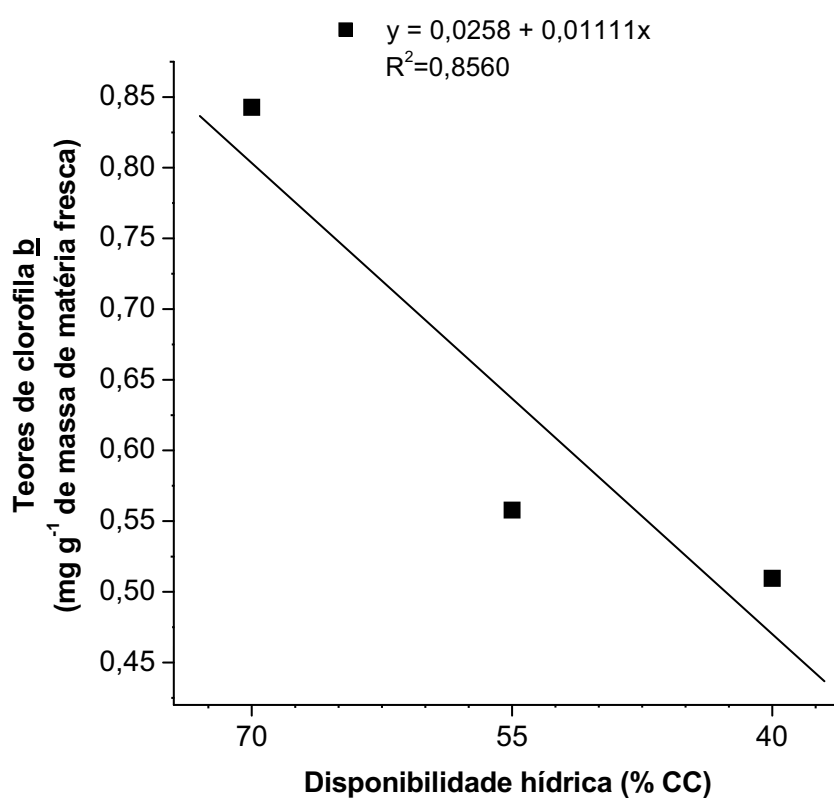


Figura 10. Teores de clorofila b em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

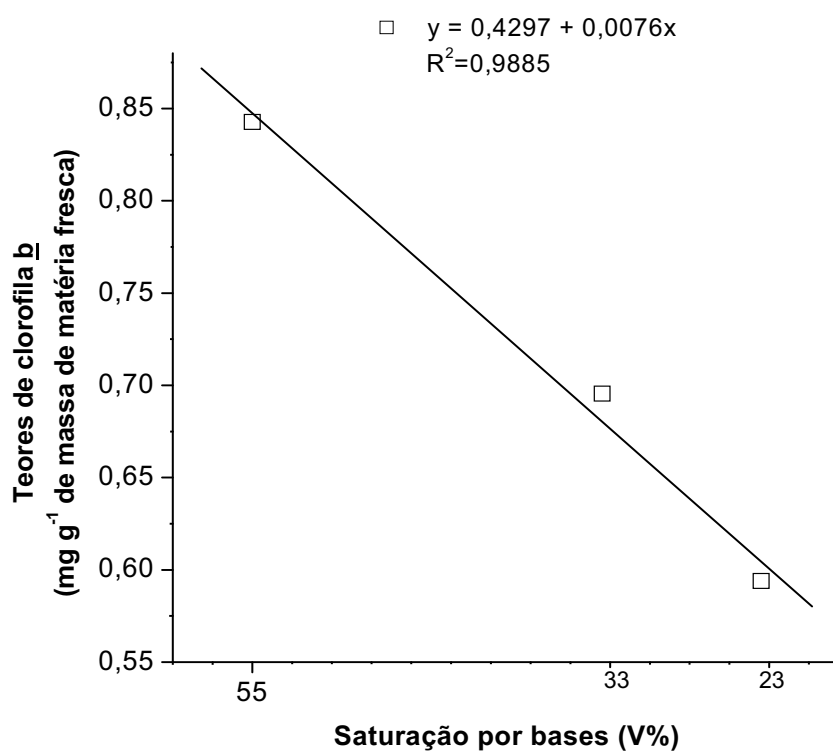


Figura 11. Teores de clorofila b em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

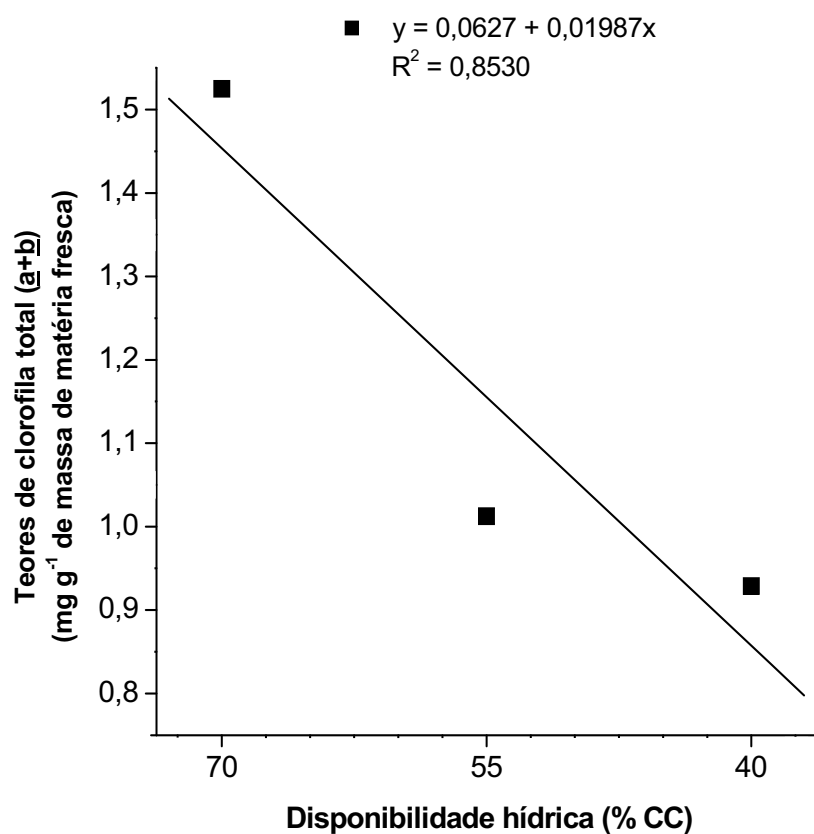


Figura 12. Teores de clorofila total ($\underline{a}+\underline{b}$) em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

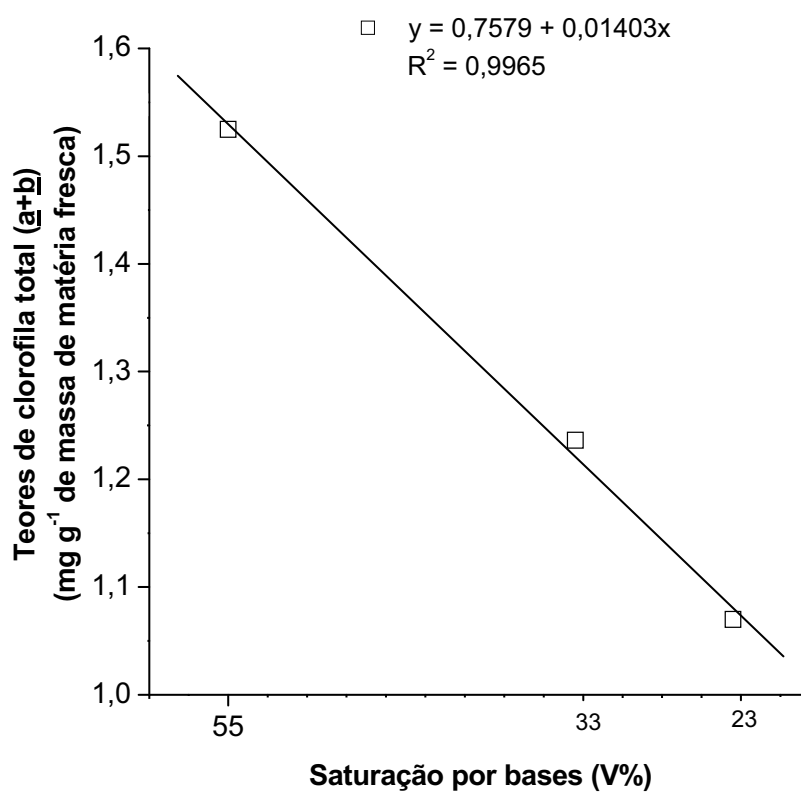


Figura 13. Teores de clorofila total (a+b) em plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Os dados mostram que conforme ocorreu decréscimo da disponibilidade hídrica (55% CC e 40% CC) houve acentuada redução nos teores das clorofilas a, b e total (a+b) sendo, respectivamente, de 38,6% (menos 0,35 mg g⁻¹), de 39,5% (menos 0,33 mg g⁻¹) e de 39,1% (menos 0,6 mg g⁻¹), (Figuras 8, 10 e 12). De maneira geral, a redução da umidade no solo promoveu decréscimos significativos nos teores das clorofilas a e b, sem, no entanto, promover qualquer diferença na razão clorofila a/b (Tabela 5). Em cultivares de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica no solo, em campo e em meio de cultura, foi observada redução gradual no conteúdo dos pigmentos clorofilianos, contudo, tal redução depende da severidade do estresse, permanência sob estresse e do grau de tolerância e/ou sensibilidade da cana-de-açúcar (SILVA et al., 2007; CHA-UM & KIRDMANEE, 2009). Cultivares tolerantes de cana-de-açúcar mostraram reduções superiores a 40% nos teores das clorofilas a, b e total (a+b) conforme ocorreu maior decréscimo de água no solo (GONÇALVES, 2008). Reduções superiores a 30% e 20% nos teores desses pigmentos também foram observadas em plantas de milho e sorgo submetidas à seca, respectivamente (ZHANG & KIRKHAM, 1996; CRUZ, 2006). A redução gradual dos pigmentos causada pelo estresse osmótico em plantas de cana-de-açúcar é um dos principais fatores que limitam a atividade fotossintética (CHA-UM & KIRDMANEE, 2009). Ainda, os resultados do presente trabalho podem inferir que, pelo fato da deficiência hídrica causar redução na atividade da nitrato redutase (Tabela 4, Figura 7) induzindo a uma menor assimilação de nitrogênio, deve ter potencializado a redução gradual dos teores de clorofilas, pois o nitrogênio constitui um dos principais nutrientes da molécula clorofiliana. Realmente, quanto maior a quantidade de nitrogênio disponível para as plantas, maior será o conteúdo de clorofila e sua capacidade fotossintética, pois solos com baixo potencial hídrico apresentam quantidades limitantes deste nutriente (OLIVEIRA et al., 1996).

Os efeitos do estresse hídrico na redução dos teores de clorofilas, avaliados no presente trabalho evidenciam a relação deste estresse com a produtividade vegetal, considerando que as respostas fotossintéticas podem ser utilizadas como índices de tolerância à deficiência hídrica nas plantas (SMIT & SINGELS, 2006; SILVA et al., 2007). Para a toxicidade de alumínio também foram observados decréscimos no

teores das clorofilas a, b e total (a+b), de 30,3% (menos 0,3 mg g⁻¹), de 29,5% (menos 0,25 mg g⁻¹) e de 29,8% (menos 0,45 mg g⁻¹), respectivamente (Figuras 9, 11 e 13). Em plantas de arroz e feijão-mungo cultivadas sob toxicidade de alumínio houve redução gradual nos teores de clorofilas (PALIWAL & SIVAGURU, 1994). A toxicidade do alumínio prejudica acentuadamente a absorção e a translocação de nutrientes como o magnésio e o nitrogênio que são constituintes das moléculas de clorofila, a formação dos demais pigmentos fotossintéticos e conseqüentemente o processo fotossintético (BENNET et al., 1985; OHKI, 1986; MILIVOJEVIC & STOJANOVIC, 2003). Também, o alumínio compete com nutrientes como cálcio e magnésio por sítios na parede celular e, principalmente, na membrana plasmática (MILIVOJEVIC & STOJANOVIC, 2003). Porém, esses resultados diferem dos encontrados em cultivares de feijão-mungo e labe-labe, onde a toxicidade provocada pelo alumínio não foi significativa para os teores de clorofilas (CODOGNOTO et al., 2002).

As análises de variância da massa de matéria seca de folhas e da massa de matéria seca de colmos de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da interação da disponibilidade hídrica e acidez no solo estão apresentadas na Tabela 6. Verifica-se que, houve efeito da interação dos dois estresses na massa de matéria seca de folhas e de colmos. Pelo desdobramento dos graus de liberdade desta interação, massa de matéria seca de folhas (*vide* Tabela IX do apêndice) e massa de matéria seca de colmos (*vide* Tabela XI do apêndice) verifica-se que, todos os níveis de acidez associados aos baixos potenciais de água no solo causaram drástica redução no crescimento foliar (Figura 14) e no crescimento de colmos (Figura 16). Nos tratamentos de média (V%=33) e alta acidez (V%=23) houve redução de 77,1% e 70,6% para folhas e de 63,2% e 64,7% para colmos (*vide* Tabelas X e XII do apêndice). Isto deve ter ocorrido devido às alterações provocadas pelo alumínio no sistema radicular, conduzindo a menor capacidade de absorção da água e nutrientes do solo (ZHENG & YANG, 2005, ZHANG, et al., 2007), o que induz à deficiência desses minerais na parte aérea causando a redução da massa de matéria seca e, conseqüentemente menor crescimento (ROUT et al., 2001). Mesmo nos solos isentos de alumínio tóxico (V%=55)

Tabela 6. Análises de variância da massa de matéria seca de folhas (MSF) e da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		MSF (mg)	MSC (mg)
Disponibilidade hídrica (H)	2	230014477,7778**	82562702,7778**
Acidez (A)	2	1023544,4444 ^{ns}	12829411,1111**
Interação HxA	4	1310315,2778*	988827,7778**
Tratamentos	8	58414663,1944	24342442,3611
Blocos	3	236647,2222 ^{ns}	148262,0370 ^{ns}
Resíduo	24	397049,3056	216409,9537
C.V. (%)		7,8948	7,3007

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: Coeficiente de Variação.

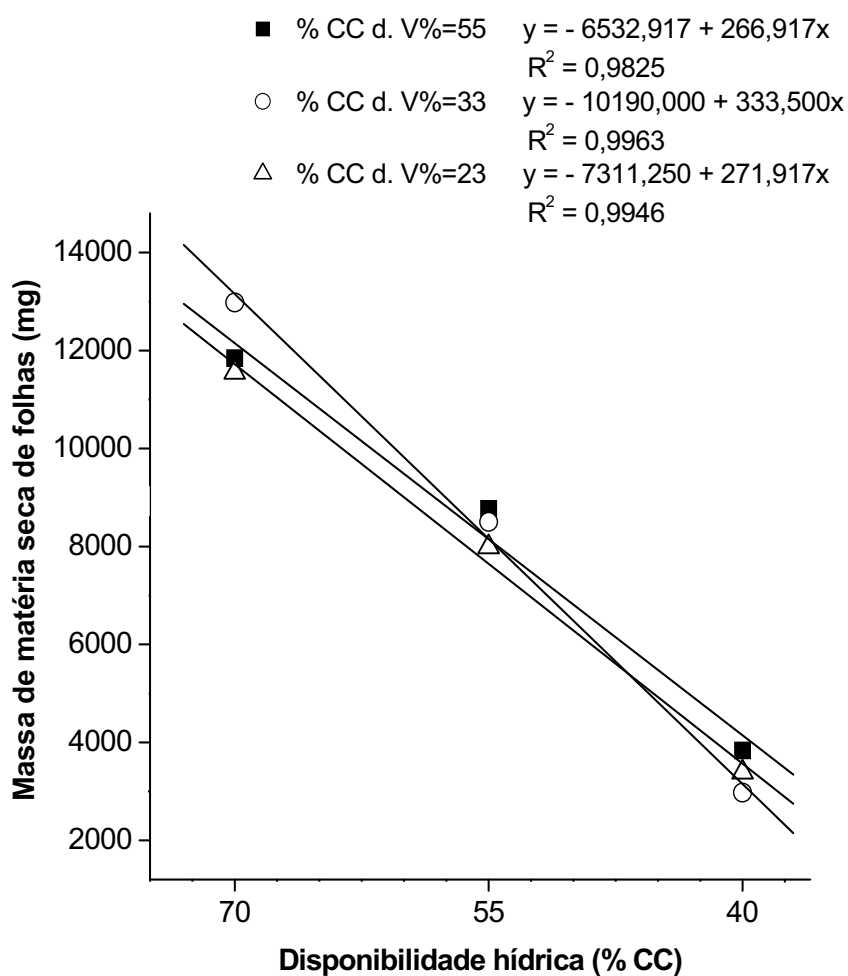


Figura 14. Massa de matéria seca de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

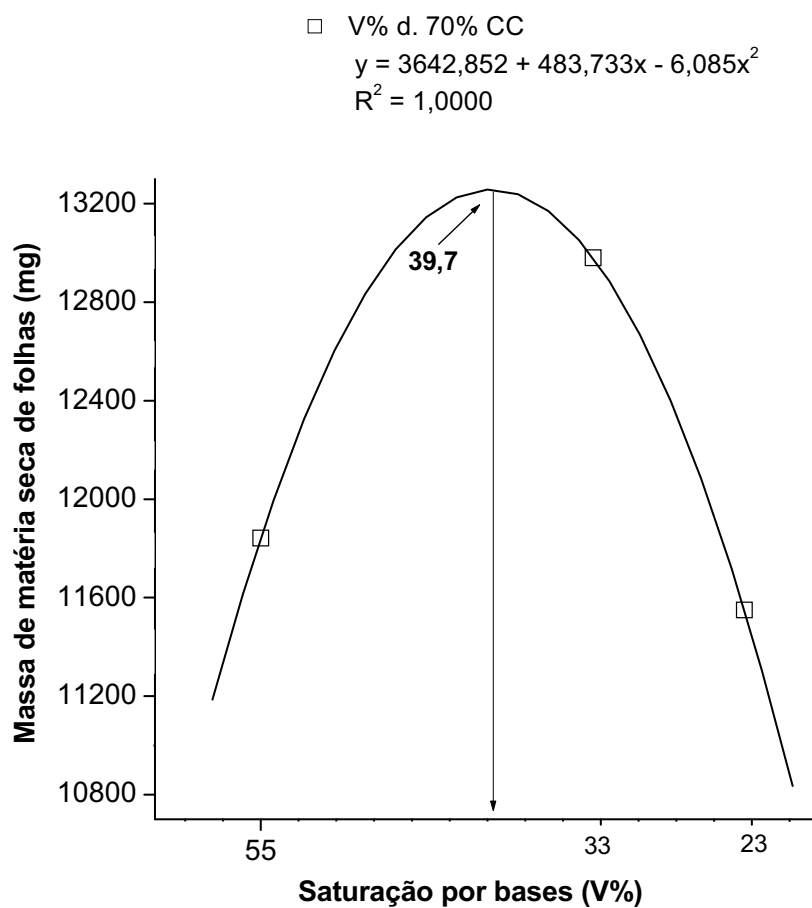


Figura 15. Massa de matéria seca de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro do nível de 70% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

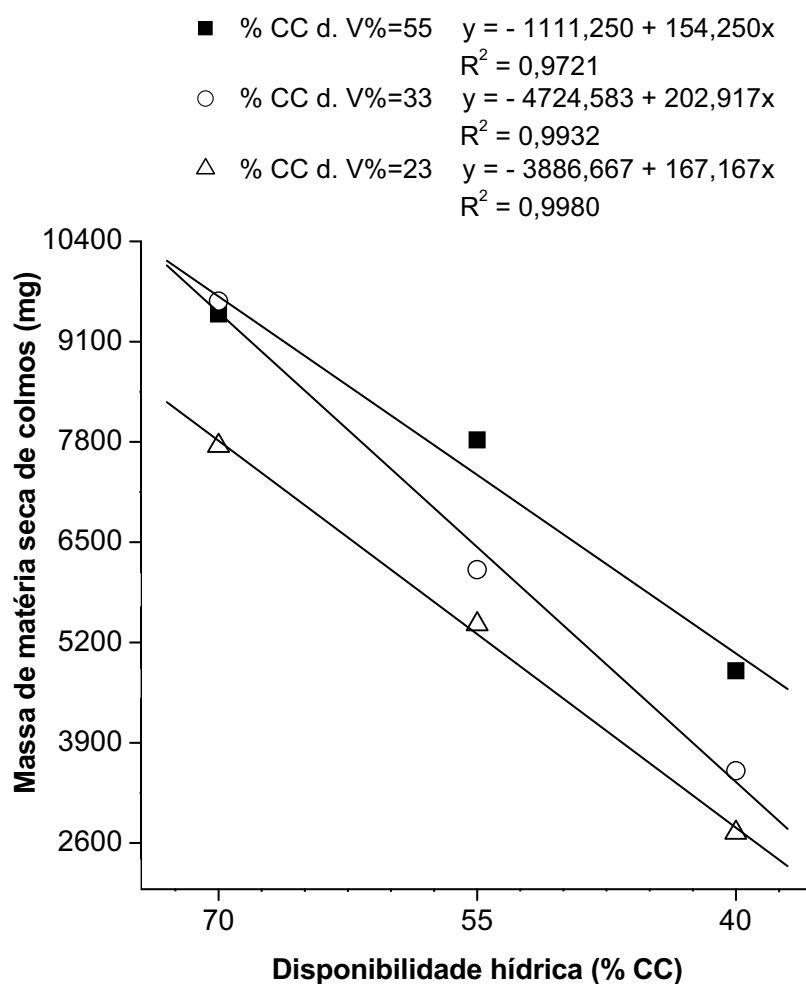


Figura 16. Massa de matéria seca de colmos de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Disponibilidade hídrica dentro dos níveis de V%=55, V%=33 e V%=23. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

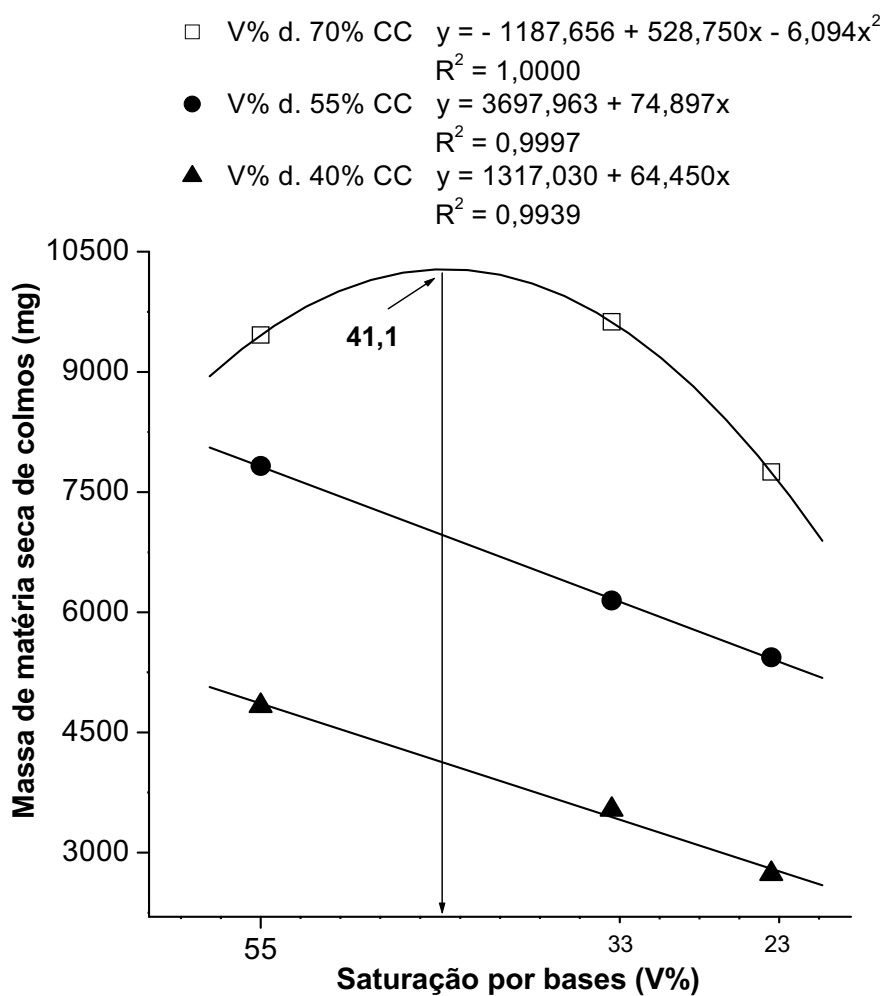


Figura 17. Massa de matéria seca de colmos de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Saturação por bases dentro dos níveis de 70% CC, 55% CC e 40% CC. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

ocorreu diminuição da massa de matéria seca de folhas e da massa de matéria seca de colmos, de 67,6% e 48,9%, respectivamente, devido à baixa disponibilidade hídrica no solo.

O aumento da deficiência hídrica, tanto em campo quanto em meio de cultura causou significativa redução da massa de matéria seca em cultivares de cana-de-açúcar (RAMESH, 2000; CHA-UM & KIRDMANEE, 2009). Também, plantas de milho cultivadas sob condições de baixo potencial hídrico apresentaram significativa redução do crescimento conforme intensificação do estresse (EFEOĞLU et al., 2009).

Para a disponibilidade hídrica, em cada nível de acidez verifica-se respostas distintas (Figuras 15 e 17). A redução do crescimento foliar (11%) foi influenciada pelos níveis de acidez, isto é, V%=39,7 até aproximadamente V%=23 (Figura 15). A associação dos níveis tóxicos de alumínio com baixos potenciais de água (55% CC e 40% CC) não provocou qualquer resposta no crescimento das folhas (*vide* Tabela IX do apêndice; Figura 15). De fato, o crescimento foliar foi reduzido quando a cultivar não se encontrava sob deficiência hídrica, 70% CC em V%=39,7 e V%= 23.

Em todos os tratamentos de disponibilidade hídrica, conforme aumento da acidez no solo houve acentuada redução do crescimento de colmos (Figura 17). Os tratamentos moderado (55% CC) e severo (40% CC) de deficiência hídrica apresentaram reduções de 30,5% e 43,4%, respectivamente, conforme aumento da acidez no solo (V%=33 para V%=23). Em solo hidratado (70% CC), a toxidez de alumínio provocou reduções de 19,5% no crescimento de colmos. Esses resultados mostram que o crescimento dos colmos é mais influenciado pela interação dos estresses que o crescimento de folhas, evidenciando que tais aferições são mais indicativas do efeito conjunto dos estresses hídrico e ácido em plantas jovens da cv. IAC91-5155.

No crescimento da parte aérea, os efeitos do alumínio são apresentados como uma consequência do tempo de exposição da planta ao estresse e dos danos causados por esse íon no sistema radicular causando deficiências nutricionais, principalmente de P, K, Ca e Mg (MATSUMOTO et al., 1976; VITORELLO et al., 2005). Os sintomas mais comuns são modificações nas células e estruturas das folhas, redução da abertura estomática, diminuição da atividade fotossintética, cloroses e necroses foliares. Alguns

autores observaram que os sintomas foliares da toxidez de alumínio assemelham-se à deficiência de fósforo (falhas de crescimento, coloração púrpura nos colmos, folhas e nervuras) ou à deficiência de cálcio (enrolamento das folhas jovens, colapso do ápice das plantas e dos pecíolos), havendo variações destas respostas nas diferentes espécies (FURLANI, 1989).

As análises de variância do número de folhas e área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, sob efeito da interação da disponibilidade hídrica e da acidez no solo estão apresentados na Tabela 7. Verifica-se que houve efeito significativo apenas para disponibilidade hídrica no solo e o estudo da análise de regressão polinomial deste efeito significativo (*vide* Tabelas XIII e XIV do apêndice) com tendência linear decrescente (Figuras 18 e 19) reduziu o número de folhas em 34,2% e a área foliar em 67,3%. É interessante ressaltar que o efeito da disponibilidade hídrica constitui o estresse predominante na avaliação do crescimento foliar, seja utilizando o número de folhas, a área foliar ou a massa seca. Em todas estas avaliações observa-se que, conforme ocorre diminuição da água no solo o aparato foliar é influenciado negativamente, pois dentre todos os órgãos vegetais são as folhas que necessitam regular o suprimento hídrico, conforme ocorrem fenômenos fundamentais para manutenção das plantas, fotossíntese e transpiração. A fotossíntese resulta em acúmulo de energia e conseqüente aumento da produtividade e a transpiração resulta no eficiente transporte e distribuição de água para o metabolismo vegetal. Em plantas de cana-de-açúcar cultivadas sob baixa disponibilidade hídrica no solo observou-se redução linear no número de folhas verdes e na área foliar com o aumento da deficiência hídrica no solo (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005; CHA-UM & KIRDMANEE, 2009). Também, em cultivares de milho sob deficiência hídrica verificou-se significativa inibição do crescimento quando comparado aos tratamentos sem restrição hídrica (EFEOĞLU et al., 2009).

O impacto de baixos potenciais hídricos no crescimento vegetal não se limita apenas à dimensão das folhas individuais, mas também ao número de folhas, porque diminui a taxa de crescimento dos ramos, provavelmente em decorrência do menor

Tabela 7. Análises de variância do número de folhas e da área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Folhas (número)	Área foliar (dm ²)
Disponibilidade hídrica (H)	2	23,0278**	139,1478**
Acidez (A)	2	0,3611 ^{ns}	1,3652 ^{ns}
Interação HxA	4	0,5278 ^{ns}	0,6029 ^{ns}
Tratamentos	8	6,1111	35,4297
Blocos	3	0,3981 ^{ns}	1,6720 ^{ns}
Resíduo	24	0,2315	0,7092
C.V. (%)		6,1639	12,5304

^{ns}: não significativo (P > 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: Coeficiente de Variação.

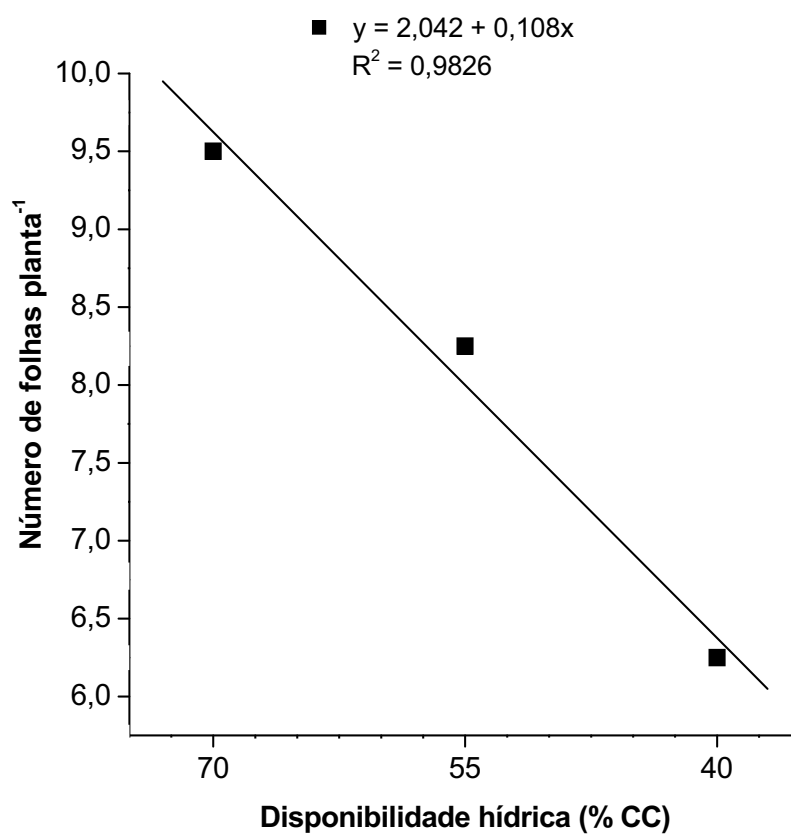


Figura 18. Número de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

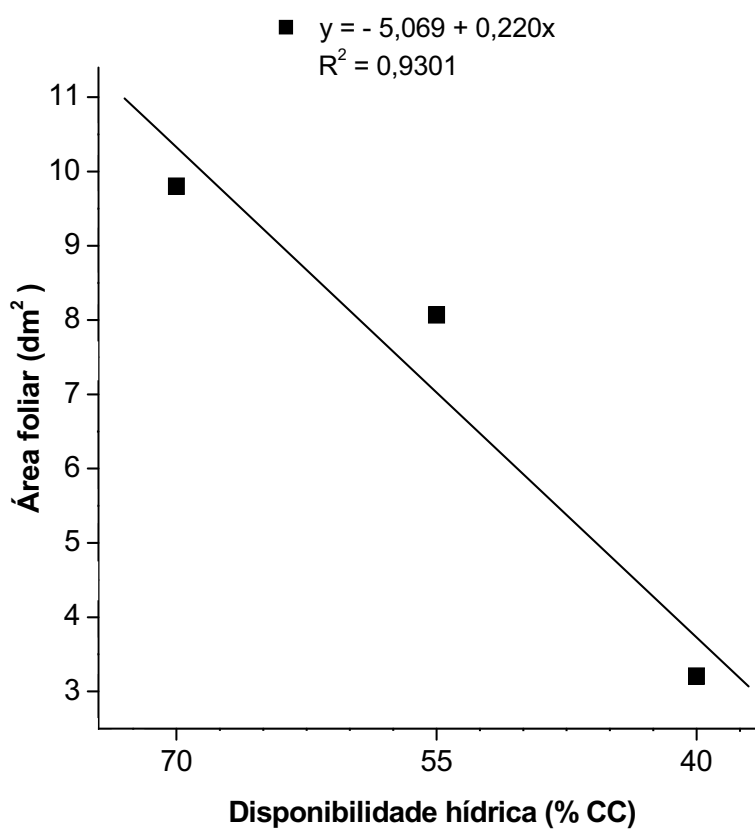


Figura 19. Área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

crescimento do caule (TAIZ & ZEIGER, 2009). Ainda, quanto menor o número de folhas, menor será a área foliar e, conseqüentemente, ocorrerá elevada redução da produtividade, devido à menor taxa fotossintética (OLIVEIRA et al., 2005), pois em ambientes com deficiência hídrica, a troca gasosa em folhas é reduzida, diminuindo por conseguinte a fotossíntese líquida (HEITHOLT et al., 1991).

Em plantas de cana-de-açúcar cultivadas sob condições de baixos potenciais hídricos, alguns autores relatam a existência de correlações entre as características fisiológicas qualitativas (movimento estomático, fotossíntese, transpiração, etc) e as quantitativas de crescimento (área foliar, número de folhas, biomassa, altura) (SMIT & SINGELS, 2006; SILVA et al., 2007). Também, podem-se correlacionar as variáveis fisiológicas de biossíntese e acúmulo de solutos compatíveis, atividade da enzima nitrato redutase e teores de clorofilas, as quais sob efeito negativo dos estresses conduzem a um prejuízo do máximo crescimento.

Os vegetais que se desenvolvem sob efeito da associação dos estresses hídrico e ácido no solo apresentam maior redução no crescimento, comparando-se com plantas que se desenvolvem sob condições de apenas um dos estresses (MARIN et al., 2006). O desenvolvimento de cultivares tolerantes de cana-de-açúcar aos estresses ambientais (principalmente o estresse hídrico) constitui atualmente o principal desafio dos programas de melhoramento genético no Brasil, e a disponibilidade de um procedimento fisiológico mais preciso capaz de auxiliar a seleção de cultivares tolerantes, poderá contribuir na eficiência de seleção destes programas.

V. CONCLUSÕES

Dentre todas as características fisiológicas estudadas neste trabalho, em plantas jovens de cana-de-açúcar que podem ser consideradas indicadoras do efeito interativo dos estresses hídrico e ácido no solo, tem-se que:

- ✓ Somente os solutos compatíveis prolina e glicina betaína são indicadores fisiológicos do efeito da interação de ambos os estresses.
- ✓ Para o estresse hídrico também podem ser utilizados como indicadores, a trealose e a atividade da enzima nitrato redutase.
- ✓ Para um único estresse, hídrico ou ácido, pode ser utilizado como indicador o teor de clorofila a, b e total.
- ✓ A massa de matéria seca da parte aérea, o número de folhas e a área foliar das plantas jovens de cana-de-açúcar, ajustadas osmoticamente, são reduzidos pelos estresses estudados. Os efeitos interativos causam diminuição da massa de matéria seca, enquanto apenas o estresse hídrico reduz o número de folhas e a área foliar.

VI. REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2008. 502p.
- ALEXIEVA, V.; IVANOV, S.; SERGIEV, I.; KARANOV, E. Interaction between stresses. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, p.1-17, 2003.
- ALFONSI, R. R.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; BRUNINNI, O.; BARBIERI, V. Condições climáticas para cana-de-açúcar . In: PARANHOS, S. B.(coord.). **Cana-de-açúcar** . v. 1, p. 42-55, Fundação Cargill, Campinas,1987.
- AMARAL, J. A. T.; CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B. Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a composição de metabólitos nitrogenados e de carboidratos em *Stylosanthes guianensis* e *Stylosanthes macrocephala*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 313-320, 2000.
- ANDRADE NETTO, J. F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica**. 2005. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- ARAGÃO, M. E. F.; GUEDES, M. M.; OTOCH, M. L. O.; MELO, D. F.; LIMA, M. G. S. Differential responses of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase activities of two *Vigna unguiculata* cultivars to salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 2, p. 207-212, 2005.
- ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- ARUNYANARK, A., JOGLOY, S.; AKKASAENG, C.; VORASOOT, N.; KESMALA, T.; NAGESWARA RAO, R. C.; WRIGHT, G. C.; PATANOTHAI, A. Chlorophyll stability is an indicator of drought tolerance in peanut. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 194, p. 113-125, 2008.

- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.
- BALLANTYNE, J. S.; CHAMBERLIN, M. E. Regulation of cellular amino acid levels. In: STRANGE, K. (Org.). **Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.111-122.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.
- BASTOS, E. **Cana-de-açúcar: o verde mar de energia**. São Paulo: Ícone Editora, 1987, 130p.
- BATAGIN, K. D. Análises anátomo-fisiológicas de folhas de pupunheiras cultivadas in vitro, ex vitro e in vivo visando otimizar o protocolo de aclimação. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BENNET, R. J.; GRANGER, J. E. The aluminium response network in *Themeda triandra* Fosk. III: Regulatory mechanisms and aluminium tolerance. *South African Journal of Plant and Soil*, Pretoria, v. 17, n. 4, p. 160-169, 2000.
- BENNET, R. J.; BREEN, C. M.; FEY, M. V. Aluminum toxicity and induced nutrient disorders involving the uptake and transport of P, K, Ca, and Mg in *Zea mays* L. **South African Journal of Plant and Soil**, Pretoria, v. 3, n. 1, p. 11-17, 1985.
- BIDOIA, M. A. P.; SANTOS, D. M. M.; MARIN, A.; LANDELL, M. G. A.; BANZATTO, D. A.; CAZETTA, J. O. Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de prolina livre em cana-

de-açúcar, em diferentes períodos de desenvolvimento. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 6-9, 2006.

BRAY, E. A., BAILEY-SERRES, J., WERETILNYK, E. Responses to Abiotic Stress. In: BUCHANAN, B., GRUISSEM, W., JONES, R. (eds). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, cap. 22, p. 1167-1168, 2000.

BURSENS, S.; HIMANEN, K.; VAN de COTTE, B.; BEECKMAN, T.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VERBRUGGEN, N. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Berlin, v. 211, n. 5, p. 632-640, 2000.

CAMBRI, M. A. **Calagem e formas de alumínio em três localidades sob sistema de plantio direto**. 2004. 83 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 277-303, 1999.

CANAOSTE. **Setor sucroalcooleiro**. 2008. Disponível em: <http://www.canaoeste.com.br/principal.php?ago=35&local=setor_canavieiro>. Acesso em: 11 agosto 2008.

CANTÃO, F. R. O. **Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em respostas a estresses de fósforo e alumínio**. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

CAZETTA, J. O. **Influência do nitrogênio e potássio no metabolismo, no desenvolvimento e na produção de plantas de milho**. 1997. 121 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. **Agricultural Sciences in China**, v. 8, n. 1, p. 51-58, 2009.

CODOGNOTO, L. M.; SANTOS, D. M. M.; LEITE, I. C.; MARIN, A.; MADALENO, L. L.; KOBORI, N. N.; BANZATTO, D. A. Efeito do alumínio nos teores de clorofilas de plântulas de feijão-mungo e labe-labe. **Revista Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 27, n. 1-2, p. 27-30, 2002.

COGO, N. P., GUERRA, M. Água no solo e rendimento das culturas em experimentos em casa de vegetação. I. Sorgo (*Sorghum vulgare*), em solos vertissolo, latossolo roxo distrófico e podzólico vermelho amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 2, p. 10-17, 1978.

COSTA, A. R. **As relações hídricas das plantas vasculares (12º parte)**. Relações Hídricas: Universidade de Évora, 2003. Disponível em: <<http://www.ensino.uevora.pt/fv/RH/Rhw12.pdf>>. Acesso em: 20 janeiro 2003.

CROWE, J. H.; CROWE, L. M.; CHAPMAN, D. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose. **Science**, New York, v. 223, p. 701-703, 1984.

CRUZ, R. F. D. **Indução e recuperação do estresse hídrico em variedades portuguesas de milho**. 2006. 182 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Minho, Portugal, 2006.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. In.: HEINZ, D. J. (Ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 7-84.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, Heslington, v. 4, n. 2, p. 215-223. 1993.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, n. 2, p. 315-321, 1995.

DIAS, F. L. F. **Relação entre a produtividade, clima, solo e variedades de cana-de-açúcar, na região Noroeste do Estado de São Paulo**. 1997. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1997.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G.; SOUZA, E. S.; FRANÇA, J. G. E.; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.

DRENNAN, P. M.; SMITH, M. T.; GOLDSWORTH, D.; VAN STADEN, J. The occurrence of trehalose in the leaves of the desiccation-tolerant angiosperm *Myrothamnus flabellifolius* Welw. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 142, n. 4, p. 493-496, 1993.

DUCRUET, J. M. Chlorophyll thermoluminescence of leaf discs: simple instruments and progress in signal interpretation open the way to new ecophysiological indicators. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 392, p. 2419-2430, 2003.

EASTMOND, P. J.; LI, Y.; GRAHAM, A. Is trehalose-6-phosphate a regulator of sugar metabolism in plants? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 382, p. 533-537, 2003.

EFEOĞLU, 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, 2009.

EI-BASHITI, T.; HAMAMCI, H.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress conditions. **Plant Science**, Limerik, v. 169, p. 47-54, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Produção de informação, 1997. 212p.

FAHL, J. I.; CARELLI, M. L. C.; DEUBER, R.; NOGUEIRA, S. S. S.; HIROCE, R. Influência do alumínio no crescimento e na nutrição mineral de cultivares de arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 6, p. 203-208, 1982.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRAS, L. E. M.; PURCINO, A. A. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FLOYD, B. W.; NOBLE, R. D. Intraseasonal variation in chlorophyll content and chloroplast ultrastructure of selected species in a deciduous forest. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 58, n. 13, p. 1504-1509, 1980.

FOY, C. D.; CHANEL, R. L.; WRITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 29, p. 511-566, 1978.

FUENTE-MARTINÉZ, J. M.; HERRERA-ESTRELLA, L. Advances in the understanding of aluminum toxicity and the development of aluminum-tolerant transgenic plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 66, p. 103-120, 1999.

FURLANI, P. R. Efeitos fisiológicos do alumínio em plantas. In: SIMPÓSIO AVANÇADO DE NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 2., Piracicaba, 1989. **Anais...Campinas: Fundação Cargill**, p. 73-87, 1989.

GARCÍA, M.; MEDINA, E. Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio. **Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia**, v. 20, n. 3, p. 168-179, 2003.

GARG, A. K.; RANWALA, A.; OWENS, T.; MILLER, W. B.; WU, R. J. **Endogenous trehalose detection from leaf tissue of rice, maize, wheat, sorghum, sugarcane, pearl millet, Arabidopsis and tobacco by HPLC**. 2002. Disponível em: <http://www.intl-pag.org/pág/10/abstracts/PAGX_P775.html> Acesso em: 15 abril 2004.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients,

carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.165, p.385-396, 2008.

GODDIJN, O. J. M.; DUN, K. van. Trehalose metabolism in plants. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 4, n. 8, p. 315-319, 1999.

GONÇALVES, E. R. Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2008.

GORHAM, J. Betaines in higher plants – biosynthesis and role in stress metabolism. In: WALLSGROVE, R. M. (Ed.) **Aminoacids and their derivatives in higher plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p.171-203.

GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, The Hague, v. 70, p. 303-307, 1983.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; VAN STADEN, J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 333, p. 413-434, 1999.

HEITHOLT, J. J.; JOHNSON, R. C.; FERRIS, D. M. Stomatal limitation to carbon dioxide assimilation in nitrogen and drought-stressed wheat. **Crop Science**, Madison, v. 31, p. 133-139, 1991.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H., Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. IN: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. **Methods in Comparative Plant Ecology, a laboratory manual**. London: Chapman e Hall, p.148-152. 1993.

HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 132-139, 2006.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 152-164, 2000.

ILLÉS, P.; SCHLICHT, M.; PAVLOVKIN, J.; LICHTSCHEIDL, I.; BALUSKA, F.; OVECKA, M. Aluminium toxicity in plants: internalization of aluminium into cells of the transition zone in *Arabidopsis* root apices related to changes in plasma membrane potential, endosomal behaviour, and nitric oxide production. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 15, p. 4201-4213, 2006.

INGRAN, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.

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

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p.150-157, 2007.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Londres, v. 43, p.1274-1279, 1971.

JORNAL CANA. **Novidades tecnológicas atendem demandas do setor**. 2004, p. 30. Disponível em: <<http://www.jornalcana.com.br/pdf/124/producao.pdf>> Acesso em: 20 junho 2006.

KISHOR, K. P. B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Columbus, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KOCHIAN, L. V.; PINEROS, M. A.; HOEKENGA, O. A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. **Plant and Soil**, The Hague, v. 274, p.175-195, 2005.

KOTCHONI, S. O.; BARTELS, D. Water stress induces the up-regulation of a specific set of genes in plants: aldehyde dehydrogenases as an example. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, Special Issue, p. 37–51, 2003.

LANDELL, M. G. A.; CAMPANA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; SILVA, M. A.; VASCONCELOS, A. C. M.; BIDOIA, M. A. P.; XAVIER, M. A.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; PRADO, H.; ROSSETO, R.; SANTOS, A. S.; CAVICHIOLI, J. C.; MARTINS, A. L. M.; KANTHACK, R. A. D.; GALLO, P. B.; VEIGA FILHO, A. A.; SILVA, D. N. **Variedades de cana-de-açúcar para o centro-sul do Brasil: 14ª liberação do programa cana IAC (1959-2004)**. Campinas: Instituto Agronômico, 2004. 33p. (Boletim Técnico, 195).

LANGE, A.; CARVALHO, J. L. N.; DAMIN, V.; CRUZ, J. C.; MARQUES, J. J. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 460-467, 2006.

Le RUDULIER, D.; STROM, A. R.; DANDEKAR, A. M.; SMITH, L. T.; VALENTINE, R. C. Molecular biology of osmoregulation. **Science**, New York, v. 224, p. 1064-1068, 1984.

LEYMAN, B.; VAN DIJCK, P.; THELEVEIN, J. M. An unexpected plethora of trehalose biosynthesis gene in *Arabidopsis thaliana*. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 6, p. 510-513, 2001.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

MANIVANNAN, P.; JALEEL, A. C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G. M. A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by

drought stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p.141-149, 2007.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1267-1275, 2008.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; CODOGNOTTO, L. M. Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 355-358, 2006.

MARIN, A. **Influência associada do estresse hídrico e do alumínio na germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 2003. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

MARQUES, M. O.; MUTTON, M. A.; AZANIA, A. A. P. M.; TASSO JUNIOR, L. C.; NOGUEIRA, G. A.; VALE, D. W. (Ed.). **Tópicos em Tecnologia Sucoalcooleira**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., 2006. 191p.

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

MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, E.; MORIMURA, S.; TAKAHASHI, E. Localization of aluminum in tea leaves. **Plant and Cell Physiology**, v. 17, n. 3, p. 627-631, 1976.

MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58; n. 2; p. 295-301, 2001.

MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 156-159, 1987.

MELONI, D. A., GULOTTA, M. R., MARTINEZ, C. A., OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in

Prosopis alba. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 39-46, 2004.

MILIVOJEVIC, D. B.; STOJANOVIC, D. D. Role of calcium in aluminum toxicity on content of pigments and pigment-protein complexes of soybean. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 26, n. 2, p. 341-350, 2003.

MILIVOJEVIC, D. B.; STOJANOVIC, D. D.; DRINIC, S. D. Effects of aluminium on pigments and pigment-protein complexes of soybean. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 43, n. 4, p. 595-597, 2000.

MILNER-WHITE, E. J.; BELL, L. H.; MACCALUM, P. H. Pyrrolidine ring puckering in *cis* and *trans*-proline residues in proteins and polypeptides: Different puckers are favoured in certain situations **Journal of Molecular Biology**, London, v. 228, n. 3, p. 725-734, 1992.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends Plant Science**, New York, v. 11, n. 1, p.15-19, 2006.

MOLINARI, H. B. C. **Expressão estresse-induzida do gene P5CS em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MOSSOR, P. T. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. **Acta Biochimica Polonica**, v. 48, n. 3, p. 673-686, 2001.

MÜLLER, J.; AESCHBACHER, R. A.; WINGLER, A.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Trehalose and trehalase in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1086-1093, 2001.

MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA, R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, México, v. XXVIII, p. 203-223, 2004.

NAIK, R. M.; KADAM, B. S.; PANDHARE, R. A.; PAWAR, S. M.; PATIL, R. C.; BHOI, P. G. Inheritance of proline accumulation and in vivo nitrate reductase activity in sugarcane leaves under water stress. **Indian Sugar**, v. 52, n. 6, p. 427-429, 2002.

NEGRÃO, L. C. P.; URBAN, M. L. de P. Álcool como “commodity” internacional. **Economia & Energia**, n. 47, 2005. Disponível em: <ecen.com/eee47/eee47p/alcool_commodity.htm>. Acesso em: 15 maio 2006.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância a seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.

NEVES, M. J.; TERENCEZI, H. F.; LEONE, F. A.; JORGE, J.A. Quantification of trehalose in biological samples with a conidial trehalase from the thermophilic fungus *Humicola grisea var. thermoidea*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 10, p. 17-19, 1994.

NICHOLAS, J. C.; HARPER, J. E.; HAGEMAN, R. H. Nitrate reductase activity in soybeans (*Glycyne max*, L. Merrill). I- Effects of light and temperature. **Plant Physiology**, v. 58, p. 731-735, 1976.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 75-5-87, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C.; NETO, E. B.; SANTOS, V. F. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1963-969. 1998.

OHKI, K. Photosynthesis, chlorophyll, and transpiration responses in aluminum stressed wheat and sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 3, p. 572-575, 1986.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; ZAMBON, J. L. C.; WEBER, H.; IDO, O. T.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER; H. S.; SILVA, D. K. T. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, em cana-planta, no Estado do Paraná: taxas de crescimento. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 85-89, 2005.

OLIVEIRA, M. A. J.; ROSSI, C.; PINHO, S. Z. Padronização das condições de ensaio in vivo da redutase de nitrato (EC1.6.6.1) em aveia preta (*Avena strigosa*). **Revista Científica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 215-224, 1996.

PALIWAL, K.; SIVAGURU, M. Indirect effects of aluminum on the reflectance properties of rice cultivars differing in aluminum tolerance. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, n. 6, p. 883-897, 1994.

PATIST, A.; ZOERB, H. Preservation mechanisms of trehalose in food and biosystems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 40, n. 2, p. 107-113, 2005.

PRADO, H. **Solos do Brasil: gênese, morfologia, classificação, levantamento e manejo**. 3.ed. Piracicaba: FEALQ, 2003, 275p.

QUEIROZ, R.J.B. **Quantificação da trealose e da prolina livre em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica do solo**. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

RAMESH, P. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlin, v. 185, p. 83-89, 2000.

RANA, D. K.; AERY, N. C.; Effect of aluminium stress on the biochemical constituents during early seedling growth of mustard. **Bionature**, Rajasthan, v. 19, n. 2, p. 47-50, 1999.

RAO, I. M.; ZEIGLER, R. S.; VERA, R; SARKARUNG, S. Selection and breeding for acid-soil tolerance in crop. **BioScience**, Washington, v. 43, n. 7, p. 454-465, 1993.

RHEIN, A. F. L. **Atividade da redutase do nitrato e acúmulo de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar submetidas aos estresses hídrico e ácido no solo**. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 44, p. 357-384, 1993.

RIBEIRO, M. J. S.; LEÃO, L. S. C.; MORAIS, P. B.; ROSA, C. A.; PANEK, A. D. Trehalose accumulation by tropical yeast strains submitted to stress conditions. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 75, p. 245-251, 1999.

RINCONES, C. Variación del contenido de prolina en ocho variedades de caña de azúcar a cuatro niveles de humedad en el suelo. **Caña de azúcar**, Maracay, v. 15, n. 1, 16p., 1997.

RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A. D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, Gainesville, v. 4, p. 49-54, 2002.

ROSENFELD, U.; LEME, R. J. A. Produtividade da cana-de-açúcar irrigada por aspersão - estudo de épocas de irrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 3, 1984, São Paulo. **Anais...** São Paulo: STAB, 1984. p. 77-84.

ROSSETTO, R. Novas variedades IAC de cana-de-açúcar. **O Agrônomo**, Campinas, v. 52, p. 22-27, 2000. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/OAgronomico/522-3/5223_p22_cv_cana.pdf> Acesso em: 20 junho 2007.

ROSSETTO, R.; SPIRONELLO, A.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Calagem para cana-de-açúcar e sua interação com a adubação potássica. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 1, p. 105-119, 2004.

ROUT, G. R.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminium toxicity in plants: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 21, n. 1, p. 3-21, 2001.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 342, p. 81-88, 2000.

SANDERSON, M. A.; STAIR, D. W.; HUSSEY, M. A. Physiological and morphological responses of perennial forages to stress. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 59, p. 172-208, 1997.

SANPEDRO, J. G.; URIBE, S. Trehalose-enzyme interactions result in structure stabilization and activity inhibition: the role of viscosity. **Molecular and Cell and Biochemistry**, v. 256-257, p. 319-327, 2004.

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

SCHLEMMER, M. R.; FRANCIS, D. D.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. **Agronomy Journal**, v. 97, p. 106-112, 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: cap. 2, 2006. 415p.

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

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

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SILVA, J. A. G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, n. 3, p. 193-201, 2007.

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

SOCICANA. **Características Agronômicas das Variedades IAC**. 2006. p.2. Disponível em: <http://www.coplana.com/gxpfiles/ws001/design/Download/VariedadesCana/IAC/Caracteristicas_Agronomicas_das_Variedades_IAC.pdf> Acesso em: 20 junho 2007.

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

SOUZA, Z. M.; PAIXÃO, A. C. S.; PRADO, R. M.; CESARIN, L. G.; SOUZA, S. R. Manejo de palhada de cana colhida sem queima, produtividade do canavial e qualidade do caldo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1062-1068, 2005.

STREIT, N. M.; CANTERLI, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TERAMOTO, E. R. **Avaliação e aplicação de modelos de estimativa de produção de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) baseados em parâmetros do solo e clima**, 2003. 96 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 503-527, 2003.

UDOP. União dos produtores de bioenergia. 2009. Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?cod=1049716&item=noticias>>. Acesso em: 07 abril 2009.

UNICA. **Cana-de-açúcar: história**. www.unica.com.br. 2004. Disponível em: <<http://www.portalunica.com.br/portalunica/?Secao=memoria&SubSecao=cana-de-acucar&SubSubSecao=historia&id=%20and%20id=1>> Acesso em: 06 abril 2008.

UNICA. União da agroindústria canavieira do Estado de São Paulo. **Boletim**, v. 3, n. 31, 2002.

VAN DILLEWIJN, C. **Botany of sugarcane**. Waltham: Chronica Botanica, 1952. 371p.

- VAN RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim técnico, 100).
- VASCONCELOS, S. S.; ROSSIELLO, R. O. P.; JACOB-NETO, J. Parâmetros morfológicos para estabelecer tolerância diferencial á toxicidade de alumínio em cultivares de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 357-363, 2002.
- VIEIRA JUNIOR, P. A.; VIEIRA, A. C. P.; BUAINAIN, A. M.; LIMA, F.; SILVEIRA, J. M. J. Produção brasileira de cana-de-açúcar e deslocamento da fronteira agrícola no estado do Mato Grosso. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 38, n. 4, 2008.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, (IBP Hand book, 15), 1970. 200p.
- VITORELLO, V. A.; CAPALDI, F. R.; STEFANUTO, V. A. Recents advances in aluminium toxicity and resistente in higher plants. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n.1, p. 129-143, 2005.
- WADITEE, M. R.; BHUIYAN, N. H.; RAI, V.; AOKI, K.; TANAKA, Y.; HIBINO, T.; SUZUKI, S.; TAKANO, J.; JAGENDORF, A. T.; TAKABE, T.; TAKABE, T. Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycinebetaine and abiotic stress tolerance in *Synechococcus* and *Arabidopsis*. **Proceedings of National Academy Sciences**, v. 102, n. 5, p. 1318-1323, 2005.
- WINGLER, A. The function of trehalose biosynthesis in plants. **Phytochemistry**, New York, v. 60, p. 437-440, 2002.
- WINGLER, A.; FRITZIUS, T. WIEMKEN, A., BOLLER, T.; AESCHBACHER, R. A. Trehalose induces the ADP-glucose pyrophosphorylase gene, *ApL3*, and starch synthesis in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, p. 105-114, 2000.
- XU Z.; ZHOU, G. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation. **Journal Applied of Ecology**, v. 15, n. 3, p. 511-6, 2004.

YAMADA, M.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1975-1981, 2005.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant response to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, v. 38, p. 171- 186, 2000.

ZAFNEJAD, M.; CLARK, R. B.; SULLIVAN, C. Y. Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 150, n. 3, p. 338-344, 1997.

ZHANG, J.; HE, Z.; TIAN, H.; ZHU, G.; PENG, X. Identification of aluminium-responsive genes cultivars with different aluminium sensitivities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.58, n.8, p.2269-2278, 2007.

ZHANG, S. Z.; YANG, B. P.; FENG, C. L.; TANG, H. L. Genetic transformation of tobacco with the trehalose synthase gene from *grifola frondosa fr.* enhances the resistance to drought and salt in tobacco. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 47, n. 5, p. 579, 2005.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M. B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 149, n. 5, p. 489-483, 1996.

ZHENG, S. J.; YANG, J. L. Target sites of aluminum phytotoxicity. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 49, n. 3, p. 321-331, 2005.

APÊNDICE – Tabelas complementares

Tabela I. Análises das regressões polinomiais dos teores de prolina na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coefficiente de
		Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)	Determinação (R^2)
R.L. V%=55 dentro de % CC	1	0,0165**	0,8216
R.Q. V%=55 dentro de % CC	1	0,0036*	1,0000
R.L. V%=33 dentro de % CC	1	0,0052**	0,2575
R.Q. V%=33 dentro de % CC	1	0,0150**	1,0000
R.L. V%=23 dentro de % CC	1	0,0060**	0,9789
R.Q. V%=23 dentro de % CC	1	0,0001 ^{ns}	1,0000
R.L. 70% CC dentro de V%	1	0,0155**	0,6885
R.Q. 70% CC dentro de V%	1	0,0070**	1,0000
R.L. 55% CC dentro de V%	1	0,0171**	0,3186
R.Q. 55% CC dentro de V%	1	0,0366**	1,0000
R.L. 40% CC dentro de V%	1	0,0329**	0,7386
R.Q. 40% CC dentro de V%	1	0,0117**	1,0000
Resíduo	24	0,0007	

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; MF: Massa de matéria fresca.

Tabela II. Teste de Tukey dos teores de prolina na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Disponibilidade hídrica ¹ (% CC)	Médias do teste de Tukey ² dos teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	Acidez (V%) ³		
	55	33	23
70	0,67 bA	0,56 bB	0,59 bB
55	0,68 bA	0,51 cC	0,61 abB
40	0,76 aA	0,62 aB	0,65 aB
DMS	0,0452		

% CC	Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	V%		
	55	33	23
70 - 55	+0,01	-0,05	+0,02
55 - 40	+0,08	+0,10	+0,03

V%	Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	% CC		
	70	55	40
55 - 33	- 0,10	- 0,16	- 0,14
33 - 23	+0,03	+0,10	+0,03

¹ Disponibilidade hídrica: 70% CC, 55% CC, 40% CC; ²Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ³ Acidez: V%=55, V%=33, V%=23. DMS: Diferença Mínima Significativa; MF: Massa de matéria fresca.

Tabela III. Análises das regressões polinomiais dos teores de glicina betaína na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coefficiente de
		Glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MS)	Determinação (R^2)
R.L. V%=55 dentro de % CC	1	3,9452**	0,7573
R.Q. V%=55 dentro de % CC	1	1,2641**	1,0000
R.L. V%=33 dentro de % CC	1	11,0215**	0,9634
R.Q. V%=33 dentro de % CC	1	0,4182*	1,0000
R.L. V%=23 dentro de % CC	1	3,4139**	0,7792
R.Q. V%=23 dentro de % CC	1	0,9672**	1,0000
R.L. 70% CC dentro de V%	1	2,7586**	0,9485
R.Q. 70% CC dentro de V%	1	0,1497 ^{ns}	1,0000
R.L. 55% CC dentro de V%	1	0,0293 ^{ns}	0,7277
R.Q. 55% CC dentro de V%	1	0,0110 ^{ns}	1,0000
R.L. 40% CC dentro de V%	1	3,4903**	0,6991
R.Q. 40% CC dentro de V%	1	1,5021**	1,0000
Resíduo	24	0,1077	

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; MS: Massa de matéria seca.

Tabela IV. Teste de Tukey dos teores de glicina betaína na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Disponibilidade hídrica ¹ (% CC)	Médias do teste de Tukey ² dos teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MS)		
	Acidez(V%) ³		
	55	33	23
70	8,32 bC	8,90 cB	9,52 bA
55	9,70 aA	9,68 bA	9,57 bA
40	9,71 aB	11,25 aA	10,83 aA
DMS	0,5792		

% CC	Teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MS)		
	V%		
	55	33	23
70 - 55	+1,39	+0,78	+0,05
55 - 40	+0,01	+1,57	+1,26

V%	Teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MS)		
	% CC		
	70	55	40
55 - 33	+0,59	-	+1,53
33 - 23	+0,62	-	- 0,42

¹ Disponibilidade hídrica: 70% CC, 55% CC, 40% CC; ²Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ³ Acidez: V%=55, V%=33, V%=23. DMS: Diferença Mínima Significativa; MS: Massa de matéria seca.

Tabela V. Análises das regressões polinomiais dos teores de trealose na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coefficiente de
		Trealose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)	Determinação (R^2)
R.L. V%=55 dentro de % CC	1	0,5767**	0,9339
R.Q. V%=55 dentro de % CC	1	0,0408 ^{ns}	1,0000
R.L. V%=33 dentro de % CC	1	0,0168 ^{ns}	0,0016
R.Q. V%=33 dentro de % CC	1	10,7161**	1,0000
R.L. V%=23 dentro de % CC	1	0,6868**	0,1629
R.Q. V%=23 dentro de % CC	1	3,5297**	1,0000
R.L. 70% CC dentro de V%	1	2,1584**	0,3829
R.Q. 70% CC dentro de V%	1	3,4785**	1,0000
R.L. 55% CC dentro de V%	1	0,2208*	0,5891
R.Q. 55% CC dentro de V%	1	0,1540*	1,0000
R.L. 40% CC dentro de V%	1	1,8894**	0,6093
R.Q. 40% CC dentro de V%	1	1,2115**	1,0000
Resíduo	24	0,0385	

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); * : significativo ($P < 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); R.L.:regressão linear; R.Q.:regressão quadrática; MF: Massa de matéria fresca.

Tabela VI. Teste de Tukey dos teores de trealose na folha +1 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Disponibilidade hídrica ¹ (% CC)	Médias do teste de Tukey ² dos teores de trealose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	Acidez (V%) ³		
	55	33	23
70	2,08 bC	3,75 aA	2,81 bB
55	2,22 bA	1,79 bB	1,96 abC
40	2,61 aC	3,84 aA	3,40 bB
DMS	0,3462		

% CC	Teores de trealose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	V%		
	55	33	23
70 - 55	+ 0,14	- 1,96	- 0,86
55 - 40	+ 0,39	+2,05	+1,44

V%	Teores de trealose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de MF)		
	% CC		
	70	55	40
55 - 33	+1,67	- 0,43	+1,23
33 - 23	- 0,94	+0,16	- 0,44

¹ Disponibilidade hídrica: 70% CC, 55% CC, 40% CC; ²Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ³ Acidez: V%=55, V%=33, V%=23. DMS: Diferença Mínima Significativa.MF: Massa de matéria fresca.

Tabela VII. Análises das regressões polinomiais da atividade da nitrato redutase na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coefficiente de
		Atividade da nitrato redutase ($\mu\text{g N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ de MF h}^{-1}$)	Determinação (R^2)
R.L. para % CC	1	3,5099**	0,9956
R.Q. para % CC	1	0,0155 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	0,1661	

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; MF: Massa de matéria fresca.

Tabela VIII. Análises das regressões polinomiais dos teores das clorofilas a, b e total (a+b) na folha +2 de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de
		Teores de clorofilas (mg g ⁻¹ MF)	Determinação (R ²)
R.L. clorofila <u>a</u> dentro de % CC	1	0,2468**	0,8398
R.Q. clorofila <u>a</u> dentro de % CC	1	0,0471*	1,0000
R.L. clorofila <u>a</u> dentro de V%	1	0,1604**	0,9994
R.Q. clorofila <u>a</u> dentro de V%	1	0,0001 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	0,0109	
R.L. clorofila <u>b</u> dentro de % CC	1	0,2221**	0,8560
R.Q. clorofila <u>b</u> dentro de % CC	1	0,0374*	1,0000
R.L. clorofila <u>b</u> dentro de V%	1	0,1237**	0,9885
R.Q. clorofila <u>b</u> dentro de V%	1	0,0014 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	0,0097	
R.L. clorofila total (<u>a+b</u>) dentro de % CC	1	0,7104**	0,8530
R.Q. clorofila total (<u>a+b</u>) dentro de % CC	1	0,1224 ^{ns}	1,0000
R.L. clorofila total (<u>a+b</u>) dentro de V%	1	0,4221**	0,9965
R.Q. clorofila total (<u>a+b</u>) dentro de V%	1	0,0015 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	0,0299	

^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; MF: Massa de matéria fresca.

Tabela IX. Análises das regressões polinomiais da massa de matéria seca de folhas (MSF) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de Determinação (R ²)
		MSF (mg)	
R.L. V%=55 dentro de % CC	1	128240112,5000**	0,9825
R.Q. V%=55 dentro de % CC	1	2287837,5000**	1,0000
R.L. V%=33 dentro de % CC	1	200200050,0000**	0,9963
R.Q. V%=33 dentro de % CC	1	735000,0000 ^{ns}	1,0000
R.L. V%=23 dentro de % CC	1	133089588,0275**	0,9946
R.Q. V%=23 dentro de % CC	1	717603,1292 ^{ns}	1,0000
R.L. 70% CC dentro de V%	1	1544,9627 ^{ns}	0,0003
R.Q. 70% CC dentro de V%	1	4564271,7040**	1,0000
R.L. 55% CC dentro de V%	1	1056791,0448 ^{ns}	0,8503
R.Q. 55% CC dentro de V%	1	186125,6219 ^{ns}	1,0000
R.L. 40% CC dentro de V%	1	692785,2612 ^{ns}	0,4682
R.Q. 40% CC dentro de V%	1	786831,4055 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	397049,3056	

^{ns}: não significativo (P > 0,05); ** : significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática.

Tabela X. Teste de Tukey da massa de matéria seca de folhas (MSF) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Disponibilidade hídrica ¹ (% CC)	Médias do teste de Tukey ² da MSF (mg)		
	Acidez (V%) ³		
	55	33	23
70	11842,50 aB	12980,00 aA	11550,00 aB
55	8765,00 bA	8502,50 bA	7990,00 bA
40	3835,00 cA	2975,00 cA	3392,50 cA
DMS	1112,1591		
% CC	MSF (mg)		
	V%		
	55	33	23
70 - 55	-3077,50	-4477,50	-3560,00
55 - 40	-4930,00	-5527,50	-4597,50
V%	MSF (mg)		
	% CC		
	70	55	40
55 - 33	+1137,50	-	-
33 - 23	-1430,00	-	-

¹ Disponibilidade hídrica: 70% CC, 55% CC, 40% CC; ²Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05); ³ Acidez: V%=55, V%=33, V%=23. DMS: Diferença Mínima Significativa.

Tabela XI. Análises das regressões polinomiais da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios MSC (mg)	Coefficiente de Determinação (R²)
R.L. V%=55 dentro de % CC	1	42827512,50**	0,9721
R.Q. V%=55 dentro de % CC	1	1228537,50**	1,0000
R.L. V%=33 dentro de % CC	1	74115312,50**	0,9932
R.Q. V%=33 dentro de % CC	1	507504,17 ^{ns}	1,0000
R.L. V%=23 dentro de % CC	1	50300450,00**	0,9980
R.Q. V%=23 dentro de % CC	1	101400,00 ^{ns}	1,0000
R.L. 70% CC dentro de V%	1	4044465,67**	0,4691
R.Q. 70% CC dentro de V%	1	4578134,33**	1,0000
R.L. 55% CC dentro de V%	1	12027022,57**	0,9997
R.Q. 55% CC dentro de V%	1	3794,09 ^{ns}	1,0000
R.L. 40% CC dentro de V%	1	8905649,44**	0,9939
R.Q. 40% CC dentro de V%	1	55067,23 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	216409,95	

^{ns}: não significativo (P > 0,05); ** : significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática.

Tabela XII. Teste de Tukey da massa de matéria seca de colmos (MSC) de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito interativo da disponibilidade hídrica e da acidez no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Disponibilidade hídrica ¹ (% CC)	Médias do teste de Tukey ² da MSC (mg)		
	Acidez (V%) ³		
	55	33	23
70	9460,00 aA	9625,00 aA	7750,00 aB
55	7825,00 bA	6145,00 bB	5437,50 bB
40	4832,50 cA	3537,50 cB	2735,00 cB
DMS	821,0759		
% CC	MSC (mg)		
	V%		
	55	33	23
70 - 55	-1635,00	-3480,00	-2312,50
55 - 40	-2992,50	-2607,50	-2702,50
V%	MSC (mg)		
	% CC		
	70	55	40
55 - 33	- 165,00	-1689,00	-1295,00
33 - 23	-1875,00	- 707,50	- 802,50

¹ Disponibilidade hídrica: 70% CC, 55% CC, 40% CC; ²Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05); ³ Acidez: V%=55, V%=33, V%=23. DMS: Diferença Mínima Significativa.

Tabela XIII. Análises das regressões polinomiais do número de folhas de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de Determinação (R ²)
		Folhas (número)	
R.L. para % CC	1	21,1250**	0,9826
R.Q. para % CC	1	0,3750 ^{ns}	1,0000
Resíduo	24	0,2315	

^{ns}: não significativo (P > 0,05); ** : significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática.

Tabela XIV. Análises das regressões polinomiais da área foliar de plantas jovens de cana-de-açúcar, cv. IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, aos 60 dias sob estresse. Jaboticabal, SP. 2006-2007.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de Determinação (R ²)
		Área foliar (dm ²)	
R.L. para % CC	1	87,0540**	0,9301
R.Q. para % CC	1	6,5417**	1,0000
Resíduo	24	0,7092	

** : significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática.