

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS BOTUCATU

**ÍNDICE SPAD E TROCAS GASOSAS AO LONGO DO DIA PARA  
DIFERENCIAÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

**MARCELA CRISTINA BRUNELLI**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da UNESP –  
Campus de Botucatu, para a obtenção do  
título de Mestre em Agronomia  
(Agricultura)

BOTUCATU – SP

JULHO 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS BOTUCATU

**ÍNDICE SPAD E TROCAS GASOSAS AO LONGO DO DIA PARA  
DIFERENCIAÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

**MARCELA CRISTINA BRUNELLI**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

BOTUCATU – SP

JULHO 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Brunelli, Marcela Cristina, 1982-  
B894i Índice SPAD e trocas gasosas ao longo do dia para diferenciação de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica / Marcela Cristina Brunelli. - Botucatu : [s.n.], 2014  
ix, 63 f. : grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2014  
Orientador: Marcelo de Almeida Silva  
Inclui bibliografia

1. Cana-de-açúcar - Fisiologia. 2. Secas. 3. Clorofila. 4. Desidratação (Hídrica). I. Silva, Marcelo de Almeida. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ÍNDICE SPAD E TROCAS GASOSAS AO LONGO DO DIA PARA  
DIFERENCIAÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR SOB DEFICIÊNCIA  
HÍDRICA"

ALUNA: MARCELA CRISTINA BRUNELLI

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO DE ALMEIDA SILVA

APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. MARCELO DE ALMEIDA SILVA

  
\_\_\_\_\_  
PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ELIZABETH ORIKA ONO

  
\_\_\_\_\_  
PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. CLAUDIANA MOURA DOS SANTOS

Data da Realização: 25 de julho de 2014.



Aos meus queridos pais João Carlos Brunelli e Rosmeyre Benedita de Castro Luz Brunelli, pelo apoio e incentivo ao longo desta jornada e contínuo estímulo à realização dos meus sonhos.

Ao meu irmão Leandro Brunelli tão importante em todos os momentos da minha vida.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por estar presente em minha vida em todos os momentos me dando força para seguir em frente;

À Faculdade de Ciências Agronômicas, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado;

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva, por todos os ensinamentos, amizade e confiança depositada em mim desde a graduação;

Aos amigos e companheiros de trabalho Paula Caroline Silva Moura, Renata Passos Pincelli, Fernanda Pacheco de Almeida Prado Bortolheiro, Laís Fernanda Melo Pereira, Lucas Almeida de Holanda, Rodrigo Oliver, Breno Kennedy Lima Bezerra, Alexandrius de Moraes Barbosa e Jose Gerardo Espinosa Veliz e Camila Pinto da Cunha pela ajuda na condução do experimento e momentos de descontração;

Ao estagiário Leandro Bianchi pela ajuda na condução do experimento;

Aos amigos Francine Vercese, Mateus Olivo, Gleize Levinski, Rosilaine Araldi, Juliana Campana, Renake Nogueira Teixeira e os meninos da República SAMU pelos momentos de descontração e risadas;

À Claudiana Moura dos Santos, pela amizade, apoio, incentivo e ótimas conversas;

À querida Amanda Cristina Esteves Amaro pela prestatividade e colaboração no trabalho;

Ao meu namorado Renan Fonseca Nascentes pela ajuda, apoio, paciência e amizade;

À minha família, meus pais Meyre e João Brunelli e meu irmão Leandro Brunelli, e à família Moura que mesmo de longe sempre estiveram me incentivando e divertindo;

À CAPES, pelo auxílio financeiro;

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

A todos meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	V
LISTA DE TABELAS .....	VII
LISTA DE FIGURAS .....	IX
1 RESUMO .....	1
2 SUMMARY .....	2
3 INTRODUÇÃO .....	4
4 REVISÃO DE LITERATURA .....	7
4.1 Aspectos gerais da cana-de-açúcar .....	7
4.2 Estresse por deficiência hídrica .....	9
4.3 Deficiência hídrica em cana-de-açúcar .....	10
4.4 Melhoramento da cana-de-açúcar para tolerância à deficiência hídrica .....	11
4.5 As Clorofilas .....	14
4.6 Estimativa do conteúdo de clorofila (SPAD) .....	15
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
5.1 Localização do experimento.....	18
5.2 Material Vegetal .....	18
5.2.1 RB867515.....	19
5.2.2 RB855453.....	19
5.3 Tratamentos e condução do experimento.....	19
5.4 Avaliações de atributos fisiológicos .....	21
5.4.1 Estimativa do conteúdo de clorofila via índice SPAD (CE).....	21
5.4.2 Conteúdo de clorofila via espectrofotômetro .....	21
5.4.3 Trocas gasosas .....	22
5.4.4 Máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) .....	22
5.4.5 Potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) .....	22
5.5 Massa de matéria seca da parte aérea e das raízes .....	23

5.6	Análise estatística .....	23
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6.1	Conteúdo de clorofila total (CC $a+b$ ).....	24
6.2	Índice SPAD.....	27
6.3	Temperatura foliar .....	31
6.4	Potencial Hídrico Foliar ( $\Psi_w$ ).....	33
6.5	Trocas gasosas.....	37
6.5.1	Condutância estomática.....	37
6.5.2	Taxa de Assimilação de $CO_2$ .....	40
6.5.3	Transpiração .....	43
6.5.4	Eficiência do uso da água.....	45
6.7	Máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) .....	47
6.8	Massa de matéria seca.....	49
7	CONCLUSÕES .....	52
	REFERÊNCIAS .....	53



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química dos macronutrientes do solo. ....	20
Tabela 2. Análise química dos micronutrientes do solo. ....	20
Tabela 3. Caracterização do ambiente da casa de vegetação, às 7,10,13 e 16 horas do dia. Temperatura máxima e mínima (°C), Umidade Relativa do ar máxima e mínima (%) e Radiação fotossinteticamente ativa máxima e mínima ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) $\pm$ desvio padrão. ....	20
Tabela 4. Resumo da análise de variância do conteúdo de clorofila total (CC <i>a+b</i> ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares e regimes hídricos em quatro horários de avaliação. Botucatu – SP, 2013. ....	24
Tabela 5. Desdobramento da interação entre cultivares (RB867515 e RB855453) de cana-de-açúcar e regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para conteúdo de clorofila total (CC <i>a+b</i> , em $\mu\text{g cm}^{-2}$ ). Botucatu – SP, 2013. ....	25
Tabela 6. Resumo da análise de variância do índice SPAD em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013. ....	27
Tabela 7. Desdobramento da interação entre cultivares (RB867515 e RB855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para índice SPAD. Botucatu – SP, 2013. ....	28
Tabela 8. Resumo da análise de variância temperatura foliar (°C) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013. ....	31
Tabela 9. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para temperatura foliar (°C). Botucatu – SP, 2013. ....	31
Tabela 10. Resumo da análise de variância do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013. ....	34
Tabela 11. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para potencial hídrico $\Psi_w$ (MPa). Botucatu – SP, 2013. ....	34
Tabela 12. Resumo da análise de variância da condutância estomática ( $g_s$ ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013. ....	37
Tabela 13. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para condutância estomática $g_s$ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Botucatu – SP, 2013. ....	38

Tabela 14. Resumo da análise de variância da Taxa de assimilação de CO <sub>2</sub> em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.....	40
Tabela 15. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para taxa de assimilação de CO <sub>2</sub> , A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) . Botucatu – SP, 2013.....	41
Tabela 16. Resumo da análise de variância da Transpiração em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.....	43
Tabela 17. Resumo da análise de variância da Eficiência do uso da água em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.....	45
Tabela 18. Resumo da análise de variância da máxima eficiência fotoquímica da fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.....	47
Tabela 19. Resumo da análise de massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares e regimes hídricos. Botucatu – SP, 2013. ....	49

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Conteúdo de clorofila total CC  $a+b$  ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....26
- Figura 2. Índice SPAD ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....29
- Figura 3. Temperatura foliar ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....32
- Figura 4. Potencial hídrico  $\Psi_w$  (MPa) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....35
- Figura 5. Condutância estomática,  $g_s$  ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....39
- Figura 6. Taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....42
- Figura 7. Transpiração ( $E$ ,  $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....44
- Figura 8. Eficiência do uso da água (EUA,  $\mu\text{mol CO}_2 (\mu\text{mol H}_2\text{O})^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....46
- Figura 9. Máxima eficiência fotoquímica da fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....48
- Figura 10. Matéria seca da parte aérea MSPA (g) das cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada barra indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....50
- Figura 11. Matéria seca de raiz MSR (g) das cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada barra indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão. ....50

## 1 RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura globalmente importante não só para a produção de açúcar como também para a produção de bioenergia. A seca é um dos fatores ambientais mais importantes que limita a produção mundial de cana-de-açúcar. Devido à natureza irregular das chuvas, os produtores têm certa dependência da irrigação para manter as metas de produção. Entretanto, a água para irrigação é limitada, e deve ser utilizada racionalmente, não só para reduzir o desperdício, mas também pela redução dos custos de produção e manutenção de produtividade. O desenvolvimento e estudo de variedades tolerantes ao estresse hídrico é crucial para a produção em áreas onde a água é escassa ou limitada. É verificado, em algumas culturas, que a concentração de clorofila e o esverdeamento das folhas se correlacionam com tolerância à deficiência de água, porém essas variáveis recebem influência de diferentes condições ambientais, tais como irradiância, temperatura do ar e condições hídricas da folha, que normalmente ocorrem grandes variações durante o dia. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência do estresse hídrico e do horário de avaliação sobre a leitura do índice SPAD e das trocas gasosas em cana-de-açúcar. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, onde foram avaliadas as variedades RB867515 e RB855453, sob ou não deficiência hídrica em relação a índice SPAD, conteúdo de clorofila total, temperatura foliar, potencial hídrico foliar ( $\psi_w$ ), taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$ , máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm), radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e umidade do ar na folha +1 em quatro horários do dia (7, 10, 13 e 16h). Para tanto, constatou-se a variação do índice SPAD durante o dia, obtendo uma tendência decrescente com o passar das horas, tendo o conteúdo de clorofila total extraído variando da mesma maneira. No geral, para a maioria das variáveis fisiológicas, com exceção da condutância estomática, da máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) e da eficiência do uso da água os melhores resultados foram obtidos para a variedade RB867515, a qual é considerada tolerante ao estresse por déficit hídrico, e para o regime hídrico sem deficiência entre os horários 10 e 13 horas. Portanto, os horários que o índice SPAD é mais representativo quanto ao conteúdo de clorofila na folha, são aqueles entre 10 e 13 horas, quando a temperatura e radiação se encontram em níveis elevados; principalmente quando se trata de plantas sob déficit hídrico.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp., seca, clorofila, curso diário, atributos fisiológicos.



## **SPAD INDEX AND GAS EXCHANGE DURING THE DAY TO SELECT THE SUGARCANE VARIETIES UNDER WATER STRESS**

Botucatu, 2014. 56 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista

Author: MARCELA CRISTINA BRUNELLI

Adviser: Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA

### **2 SUMMARY**

The sugarcane (*Saccharum* spp.) is a globally important not only for sugar production but also for the production of bioenergy crop. The drought is one of the most important environmental factors limiting the global production of sugarcane. Due to the irregularity rainfall, growers have some dependence of irrigation to maintain production targets. However, the water irrigation is limited and must be rationally utilized not only to reduce wastage, but also to reduce the costs of production and maintenance of productivity. The study and development of tolerant varieties to water stress is crucial for production in areas where water is scarce or limited. It is found, in some cultures, the concentration of chlorophyll and the greening of leaves correlate with tolerance to water stress, but these variables are influenced by different environmental conditions, such as irradiance, air temperature and leaf water conditions, that occur in a large variation during the day. The study aimed to evaluate the influence of water stress and time of assessment on reading the SPAD index on sugarcane. The experiment was conducted in a greenhouse, where RB867515 and RB855453 varieties were evaluated, by water stress or not water stress, in relation to SPAD index, total chlorophyll content, leaf temperature, leaf water potential ( $\psi_w$ ), CO<sub>2</sub> rate assimilation, maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm), photosynthetic active radiation, temperature and humidity on +1 leaf in four times of the day (7, 10, 13 and 16 hours). Thus, we found the variation of SPAD index during the day, that showed a decreasing tendency over the hours, and it was verified that the total chlorophyll content extracted ranging in the same way. Overall, the most significant results of physiological parameters, except for stomatal conductance, for the maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and for the water use efficiency were obtained for variety RB867515, that is considered more tolerant to drought stress, and in the treatment without water deficiency between 10 and 13 hours. Therefore, the period

of the day that the SPAD index is more representative for the leaf chlorophyll content is between 10 and 13 hours, when the temperature and radiation are at high levels; especially whether the plants are under drought stress.

**Key words:** *Saccharum* spp., drought, chlorophyll, daily course, physiological attributes.

### 3 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é conhecida pela grande produção de biomassa e utilizada principalmente para produção de açúcar e biocombustível. Para que se obtenha alta produção de biomassa, essa cultura deve ser produzida em alta quantidade e com boa qualidade do suco. Os produtos da biomassa de cana, entretanto, são drasticamente reduzidos diante do estresse por deficiência hídrica.

Um dos primeiros efeitos da deficiência hídrica nas plantas vasculares manifesta-se sobre os estômatos. Com a progressão do dessecamento, ocorre a desidratação do protoplasma e a redução da capacidade fotossintética. A sensibilidade das trocas de CO<sub>2</sub> à deficiência hídrica é uma característica da espécie, sendo, porém aclimatável.

Existem numerosos estudos indicando que a fotossíntese (assimilação de CO<sub>2</sub>) pode ser limitada pelo fechamento estomático, seja em resposta ao decréscimo no potencial hídrico foliar, diminuição da umidade relativa do ar, ou como uma resposta direta dos estômatos ao déficit hídrico do solo. Além disso, apesar das difíceis condições como à seca, o crescimento de algumas plantas em regiões semiáridas indica que

esses vegetais têm aparatos fotossintéticos incrivelmente resistentes à desidratação da folha (Jangpromma et al., 2005). Um exemplo é a cana-de-açúcar, espécie que possui cultivares tolerantes à seca, sendo a capacidade de manter a fotossíntese mesmo sob deficiência hídrica um dos mecanismos de resistência a esse estresse abiótico.

O declínio progressivo da capacidade fotossintética das plantas sob estresse por seca também é caracterizado pela degradação de clorofila. O que leva a análise dos pigmentos fotossintéticos a ser uma importante ferramenta para avaliação da sanidade e integridade dos aparatos internos da célula durante o processo de fotossíntese e fornecer uma precisa técnica de detecção e quantificação de plantas tolerantes ao estresse hídrico.

As clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente, com seu crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes. Sendo assim, a clorofila responde a variações ambientais. O conteúdo de clorofila e carotenoides foliar é obtido por meio de extração pelo uso de extratos orgânicos, tais como a acetona, o N, N-dimetilformamida (DMF), entre outros, e posterior determinação por espectrofotometria. Entretanto, esses métodos são destrutivos e demorados. Logo, tem sido proposto o uso de medidores portáteis, denominados clorofilômetros, que permitem leituras instantâneas e de modo não destrutivo para avaliar o estado hídrico da planta em tempo real pela análise da intensidade do verde das folhas e como indicador indireto do estado hídrico da planta.

Silva et al. (2012) verificaram correlação positiva entre índice SPAD com fotossíntese e potencial hídrico sob condições de seca em cana-de-açúcar, e de acordo com os autores, o índice SPAD é um dos principais parâmetros fisiológicos a ser considerado em programas de melhoramento de cana-de-açúcar com o objetivo de diferenciar genótipos tolerantes e susceptíveis ao estresse hídrico.

Juntamente com a fotossíntese, limitações não-estomáticas também ocorrem com a escassez de água, essas respostas podem ajudar no entendimento fisiológico da cana-de-açúcar. Estudos sobre máxima eficiência quântica do fotossistema II, razão ( $F_v/F_m$ ), que reflete a máxima eficiência com que a luz absorvida pelo complexo-antena do fotossistema II é convertida em energia química (Maxwell e Johnson, 2000), têm mostrado ser uma boa referência fisiológica para diagnosticar a integridade do sistema fotossintético em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica (Gonçalves et al., 2010; Silva et



al., 2014b). Outros estudos em cana-de-açúcar utilizando teor relativo de água da folha (Santos, 2013) e potencial hídrico foliar (Inman-Bamber e Smith, 2005; Silva et al., 2013), têm sido propostos como critérios confiáveis de seleção para triagem de cultivares que apresentam maior adaptação a seca.

Porém essas variáveis recebem influência de diferentes condições ambientais, tais como irradiância, temperatura do ar e condições hídricas da folha, que normalmente ocorrem grandes variações durante o dia (SILVA, 2011). Dessa maneira, há a necessidade de estudos em diferentes períodos do dia que possam indicar o melhor horário para compreensão das relações hídricas e das respostas fisiológicas da cana-de-açúcar sob condições de seca, essas informações são importantes à medida que possam ser utilizadas em programas de melhoramento genético visando à tolerância à seca.

Diante disso, o presente trabalho objetiva-se em determinar o horário de avaliação mais confiável para o uso do índice SPAD e trocas gasosas que possa distinguir cultivares de cana-de-açúcar mais tolerantes e susceptíveis à deficiência hídrica.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Aspectos gerais da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta monocotiledônea, alógama e perene, provavelmente originária das regiões da Indonésia e Nova Guiné, pertencente à família *Poaceae*. Suas atuais cultivares são híbridos interespecíficos, sendo que nas constituições genéticas participam as espécies *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e *S. edule* (GUPTA et al., 2010).

Trata-se de uma planta de reprodução sexuada, porém quando cultivada comercialmente é multiplicada assexuadamente, por propagação vegetativa (CAIEIRO et al., 2010). É caracterizada pela inflorescência do tipo panícula, flor hermafrodita, caule em crescimento cilíndrico composto de nós e entrenós, e folhas alternas, opostas, presas aos nós dos colmos, com lâminas de sílica em suas bordas, e bainha aberta (MILLER; GILBERT, 2009). É cultivada em regiões tropicais e subtropicais de mais de 90 países, difundida em uma ampla faixa de latitude de 35°N e 30°S, adaptando-se a diversas condições de clima e solo exigindo precipitações pluviométricas entre 1500 a 2500 mm por ciclo vegetativo (DOOREMBOS; KASSAM, 1979; TAVARES, 2009).

Apresenta metabolismo C4, pois forma compostos orgânicos com quatro carbonos e possui uma das maiores taxas fotossintéticas, chegando à saturação de  $0,9 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  (AUDE, 1993), sendo que as características das variedades influenciam a eficiência fotossintética da cana, além das variações climáticas que ocorrem durante o desenvolvimento da cultura (RODRIGUES, 1995).

A cana-de-açúcar se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira. O Brasil não é apenas o maior produtor de cana. É também o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol proveniente dessa cultura e conquista, cada vez mais, o mercado externo com o uso do biocombustível como alternativa energética (MAPA, 2012).

A produtividade média brasileira está estimada em  $74.769 \text{ kg ha}^{-1}$ , 7,7% maior que na safra 2012/13, que foi de  $69.407 \text{ kg ha}^{-1}$ . A área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2013/14 está estimada em 8.811,43 mil hectares, distribuídos em todos estados produtores conforme suas características. São Paulo permanece como o maior produtor com 51,7% (4.552,0 mil hectares) da área plantada, seguido por Goiás com 9,3% (818,4 mil hectares), Minas Gerais com 8,9% (779,8 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 7,4% (654,5 mil hectares), Paraná com 6,7% (586,4 mil hectares), Alagoas com 4,7% (417,5 mil hectares) e Pernambuco com 3,2% (284,6 mil hectares). Estes sete estados são responsáveis por 91,9% da produção nacional. Os demais estados produtores possuem áreas menores, com representações abaixo de 3,0% (CONAB, 2014).

Vários fatores interferem na produção e maturação da cultura da cana-de-açúcar, sendo os principais a interação edafoclimática, o manejo da cultura e a cultivar escolhida (MAULE et al., 2001). Esses fatores estão sendo constantemente estudados sob diferentes aspectos. Estudar a cultura no seu ambiente de desenvolvimento pode gerar uma enorme quantidade de informações para adequar o melhor manejo e cultivar para os ambientes específicos (solo e clima). Assim é possível explorar ao máximo o local de produção para promover o melhor rendimento da cultura e conseqüentemente maior lucratividade ou competitividade para as agroindústrias da cana-de-açúcar.

Além disso, o desempenho vegetativo da cana-de-açúcar é altamente dependente de fatores climáticos, as variações na disponibilidade térmica, pluviosidade, intensidade de luz exercem grande influência sobre o desenvolvimento

fenológico da cultura afetando sua produtividade (LIU et al., 1998; SMIT; SINGELS, 2006; UEHARA et al., 2009).

## **4.2 Estresse por deficiência hídrica**

Dentre os estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a deficiência hídrica constitui uma das mais importantes limitações à produtividade e à distribuição dos vegetais, apresentando influência negativa em mais de 10% das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS; SUNKAR, 2005), principalmente em lavouras de espécies economicamente importantes como arroz, soja e cana-de-açúcar (GARG et al., 2002). Esta última necessita de elevada disponibilidade de água, durante o estágio vegetativo, a fim de apresentar rendimento adequado, sendo necessários em geral de 130 a 150 litros de água para a produção de 1 kg de matéria seca (CASTRO, 2000).

O termo estresse geralmente é definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta. Este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável (TAIZ e ZEIGER, 2013). O estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida, e induz a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanente (LARCHER, 2004). A persistência da condição de estresse leva a intensificação da resposta, tendo em vista a sobrevivência em detrimento de eficiência e produtividade. Esse quadro faz parte dos processos de tolerância ou resistência que cada espécie desenvolveu no curso da sua história evolutiva (HSIAO, 1973; MORGAN, 1984; BRAY, 1997).

Em condições de estresse por deficiência hídrica, vários processos fisiológicos são alterados, tais como: fotossíntese, respiração, transpiração, abertura estomática, produção de ácido abscísico, abscisão foliar e ajuste osmótico. Além disso, a deficiência hídrica provoca severos danos no crescimento vegetal, através, primordialmente, da diminuição da expansão celular. De fato, é indiscutível a importância da água para o crescimento, devido à turgidez celular ocasionada pelo influxo de água no vacúolo, quando os hormônios do crescimento vegetal (auxinas ou giberelinas) estão promovendo o alongamento celular (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Nestas alterações o sistema radicular é a primeira região da planta a detectar e sinalizar às demais células, tecidos e órgãos os efeitos do estresse. A emissão de sinais químicos pelas raízes é responsável por modificações no comportamento estomático durante o déficit hídrico. Desta maneira o ácido abscísico (ABA), o pH e a redistribuição iônica, parecem desempenhar papel importante na sinalização de longa distância entre as raízes e a parte aérea (SAUTER et al., 2001; DAVIES et al., 2002; TAIZ e ZEIGER 2013).

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

O uso de irrigação para atenuar o efeito da escassez de água na produção de cana-de-açúcar é uma alternativa ainda pouco utilizada nos países produtores (INMAN-BAMBER, 2004; SANTOS, 2005), pois a disponibilidade de água é limitada em algumas regiões e os custos dos equipamentos tornam esse tipo de estratégia muito dispendiosa (BOYER, 1996); uma alternativa para amenizar tais custos seria a seleção e uso de genótipos tolerantes à deficiência hídrica (SILVA et al., 2007) e compreensão dos mecanismos de adaptação das plantas à seca (ABDUL JALEEL et al., 2007).

### **4.3 Deficiência hídrica em cana-de-açúcar**

A cana-de-açúcar é adaptada às condições de alta intensidade luminosa, altas temperaturas e relativa escassez de água, uma vez que a cultura necessita de uma grande quantidade de água para suprir suas necessidades hídricas. Como a maioria das poáceas (gramíneas), é uma planta de metabolismo C<sub>4</sub>, apresentando elevada eficiência na utilização e resgate de CO<sub>2</sub> da atmosfera. No entanto, essa eficiência pode variar em função da disponibilidade hídrica do solo (SEGATO et al., 2006).

Essa cultura possui quatro etapas distintas de crescimento: germinação (brotação), perfilhamento, crescimento dos colmos e maturação (GASCHO; SHIH, 1983). Segundo Ramesh (2000), o perfilhamento e alongamento dos colmos, que constituem a fase de formação da cana, foram identificados como um dos períodos críticos por demanda de água, principalmente porque esta é a fase em que 70-80% do rendimento da cana é produzido (SINGH; RAO, 1987). Relações hídricas e respostas fotossintéticas

que ocorrem durante esta fase de crescimento podem, por conseguinte, ser úteis na identificação genótipos tolerantes à seca.

Ao estudar o período crítico de déficit hídrico para cana-planta, Rosenfeld (1989) concluiu que o início do seu estágio de máximo desenvolvimento é o período mais sensível a deficiência hídrica. Para cana-de-açúcar plantada em fevereiro a junho na região Centro-Sul do Brasil, o período mais crítico é o do 4<sup>o</sup> ao 8<sup>o</sup> mês de idade; já para a cana plantada em outubro, o período mais crítico é do 8<sup>o</sup> ao 10<sup>o</sup> mês. As maiores reduções de produção são provocadas por períodos secos durante o verão em canas com idade de 4 a 8 meses, assim como o período de seca para o crescimento de cana-planta.

O baixo teor de umidade nos tecidos pode reduzir pela metade o comprimento de alguns entrenós, mas se houver disponibilidade de água novamente, a perda pode ser recompensada pelo maior comprimento dos entrenós seguintes (CASTRO; KLUGE, 2001).

Lucchesi (1987) menciona que em épocas de déficit hídrico, a planta apresenta as folhas mais enroladas, podendo reduzir de 10 a 20% da transpiração. Entretanto, o conteúdo hídrico interno além de influenciar a fotossíntese, pois folhas mais túrgidas apresentam maior área foliar, também influencia a translocação de fotoassimilados. Segundo o autor, em condições hídricas deficientes, pode haver acúmulo do material fotossintetizado, devido à dificuldade de translocação.

#### **4.4 Melhoramento da cana-de-açúcar para tolerância à deficiência hídrica**

Vários critérios, com base em medições de umidade do solo e análise da distribuição da precipitação podem ser utilizados para avaliar os níveis de tensão momentânea ao qual a planta está sujeita. Do ponto de vista ecofisiológico, o conhecimento de fatores externos não é suficiente para conclusões precisas sobre o grau de seca (LARCHER, 2004). É, portanto, importante compreender as respostas fisiológicas e os processos que atuam sobre as plantas em condições de estresse causado por déficit hídrico. Entender como as plantas toleram o déficit hídrico pode melhorar significativamente esta situação de seca em eventos futuros e mecanismos de identificação de tolerância ao estresse por seca é fundamental para o desenvolvimento de novas cultivares comerciais tolerantes (NEPOMUCENO et al., 2001). O desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca tem sido um dos objetivos dos programas de melhoramento

genético envolvendo cana-de-açúcar (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005), e requer a identificação de mecanismos fisiológicos importantes para o uso como critério de seleção (SMIT; SINGELS, 2006).

Nos programas de melhoramento, o uso de diferentes técnicas para a seleção de materiais, como por exemplo, os marcadores moleculares, tem gerado resultados positivos diminuindo o tempo entre a seleção e comercialização de novas cultivares (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Entretanto, a análise de características fisiológicas também permite a seleção e classificação de cultivares por meio de testes comparativos com genótipos já conhecidos quanto à tolerância ou sensibilidade ao déficit hídrico. Algumas variáveis devem ser consideradas quando se trata de seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico, tais como: temperatura foliar (SILVA et al., 2010), condutância estomática (SMIT; SINGELS, 2006), taxa de assimilação de carbono (MACHADO et al., 2009), fluorescência da clorofila (SILVA et al., 2007), potencial hídrico (PIMENTEL, 2004) e conteúdo de clorofila foliar (SILVA et al., 2010).

A manutenção da temperatura foliar pela planta requer a evaporação de grande quantidade de água para que essa temperatura não exceda a temperatura ambiental e, como consequência, ocorra um adequado funcionamento do aparato fotossintético (TAIZ; ZEIGER 2013; HABERMANN et al., 2008). A correlação entre a temperatura da cultura e o estresse por déficit hídrico baseia-se na observação de que, como uma cultura transpira através dos estômatos, a água evaporada esfria as folhas para aproximadamente ou até mesmo abaixo da temperatura do ar. À medida que a cultura se torna estressada pela falta de água, diminui a transpiração, aumentando a temperatura da folha. Outros fatores precisam ser contabilizados, a fim de obter uma medida correta do nível real de estresse, mas a temperatura da folha é um dos mais importantes (JONES, 1999; LU et al., 1998; MANSFIELD; ATKINSON, 1990; PETERSEN et al., 1992).

A condutância foliar é composta em pequena parte pela condutância cuticular da epiderme e, quando os estômatos estão abertos, pela condutância estomática, que é controlada pelas células guardas dos estômatos. Assim, a condutância é proporcional ao número e tamanho dos estômatos e também ao diâmetro da abertura estomática e depende da interação de um grande número de fatores ambientais como a radiação solar, nível de CO<sub>2</sub> no mesófilo, umidade relativa (déficit de pressão de vapor do ar), potencial hídrico, umidade do solo e outros, de menor magnitude, como vento,

substâncias de crescimento e ritmos endógenos próprios de cada espécie (NILSEN; ORCUTT, 1996).

O efeito da seca é muito variado e depende muito da intensidade de déficit de água no solo que a planta está submetida. Uma redução na condutância estomática afeta uma série de interações planta-ambiente, uma vez que os estômatos são pontos de controle de entrada e saída de vapor d'água e balanço de energia entre o vegetal e o ambiente. Embora a redução na taxa de perda de água possa representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido, ela pode afetar diretamente o balanço de calor sensível sobre o vegetal, e ainda a absorção de CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, a taxa fotossintética (BRUNINI; CARDOSO, 1998).

A presença de condições ambientais estressantes leva ao decréscimo característico na eficiência quântica potencial no PSII, podendo ser detectada pela queda na relação  $F_v/F_m$ ; paralela à queda da fotossíntese devido à menor eficiência fotoquímica, pode ocorrer redução na atividade de algumas enzimas de ciclo de Calvin e mudanças nas rotas químicas, como acúmulo de aminoácidos e ácidos orgânicos (CHAGAS, 2007).

A disponibilidade de água (ou seja, sua capacidade de realizar trabalho e translocação) é expressa como potencial hídrico de um sistema aquoso, tendo por referência o potencial da água pura, significando que, quanto maior for a negatividade do potencial hídrico do sistema considerado, menor será também a disponibilidade de água nesse sistema (LARCHER, 2004).

Para a maioria das espécies, o potencial hídrico acompanha as variações diurnas da demanda evaporativa da atmosfera, atingindo um valor máximo logo antes do nascer do sol. Nesse momento, as plantas encontram-se com a máxima turgescência possível para uma dada condição hídrica no solo (KRAMER; BOYER, 1995). Dessa forma, o potencial hídrico no início da manhã, tem sido considerado um indicativo do estado hídrico das plantas, bem como da quantidade de água disponível no solo (LARCHER, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013). De acordo com Nogueira et al. (2005), o efeito da deficiência hídrica sobre as plantas é complexo, não havendo um mecanismo universal de resistência à seca, pois as plantas respondem através de vários processos adaptativos à escassez de água como, por exemplo, através da capacidade de reduzir o potencial hídrico.



O conteúdo de clorofila na folha também é uma variável muito importante e indispensável para a discriminação de cultivares de cana-de-açúcar quanto à tolerância e susceptibilidade ao estresse por déficit hídrico (Silva et al., 2014a). E, pode ser considerado uma ferramenta rápida e de baixo custo para esta análise quando mensurado pelo clorofilômetro portátil (SPAD) (SILVA et al., 2012).

#### **4.5 As Clorofilas**

As clorofilas são pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais. Estudos em uma grande variedade de plantas caracterizam que os pigmentos clorofilianos são os mesmos. De acordo a Von elbe (2000) as diferenças aparentes na cor do vegetal são devidas à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenoides, os quais sempre acompanham as clorofilas.

A clorofila é o pigmento que torna as folhas verdes, absorve luz principalmente nos comprimentos de onda azul e vermelho; como reflete a luz verde, sua aparência é de cor verde (RAVEN, 2007).

Nas plantas, a maior parte da radiação incidente na folha não é utilizada nos processos fotossintéticos. Esta radiação é perdida de várias formas, sendo uma parte refletida e outra transmitida, ou seja, atravessa a folha sem ser absorvida, enquanto uma terceira fração é absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes. No entanto, nem todos esses fótons absorvidos pelos pigmentos são utilizados nos processos fotoquímicos (TAIZ e ZEIGER, 2013). Por sua estrutura química ser instável, as clorofilas são facilmente degradadas, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos vegetais (STREIT et al., 2005). As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, onde ocorre a fotossíntese, a qual possui duas reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacóides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos denominados de acessórios, tais como os carotenoides (carotenos e xantofilas) (LARCHER, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Ao absorver a energia luminosa, as moléculas de clorofila modificam temporariamente suas configurações eletrônicas, passando do estado basal para o estado mais energético, sendo ainda muito instável e de vida curta. Assim, após absorver

os fótons, esses pigmentos podem dissipar o excesso de energia proveniente da luz por meio de quatro formas competitivas: dissipação fotoquímica (utilizada na fotossíntese), fluorescência (reemissão na forma de luz), conversão direta de energia (retorno da clorofila ao seu estado base sem ocorrer emissão de fótons) e dissipação não-fotoquímica (reemissão na forma de calor) (MAXWELL e JONHSON 2000; CAMPOSTRINI, 2008; TAIZ e ZEIGER, 2013).

O déficit hídrico caracteriza-se como um dos estresses ambientais responsáveis pela alterações dos pigmentos nas folhas, alterando a relação clorofila *a* e *b*, a qual pode ser usada em plantas terrestres como indicativo de respostas a sombreamento e senescência, e a relação clorofila: carotenoides que é usada em menor proporção para diagnosticar senescência sob condições de estresse hídrico (HENDRY; PRICE, 1993). Assim, métodos de quantificação e de estimativa de tais pigmentos, de certa forma, também podem ser utilizados como ferramentas para seleção de genótipos tolerantes à seca (SILVA et al., 2007).

Métodos de extração de clorofila e carotenoides com acetona ou dimetil formamida, e posterior determinação em espectrofotômetro, são citados na literatura como sendo relativamente eficiente, entretanto, possuem metodologia destrutiva e relativamente vagarosa. Um método não destrutivo, caracterizado pela simplicidade e rapidez, através de medidores de clorofila tais como o SPAD-502, permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha (ARGENTA et al., 2001; SILVA et al., 2007).

#### **4.6 Estimativa do conteúdo de clorofila (SPAD)**

O índice SPAD tem sido utilizado na quantificação de clorofilas, caracterizando-se pela rapidez, simplicidade e, principalmente, por possibilitar uma avaliação não destrutiva do tecido foliar (AMARANTE et al., 2010). Para a quantificação de clorofilas, o equipamento emite luz, que atravessa o tecido foliar e atinge um receptor (fotodiodo de silicone). A luz transmitida é convertida em sinais digitais, sendo usados por um microprocessador para calcular a leitura SPAD (“Soil Plant Analytical Division Value”, na faixa de 0-100). A intensidade de cor verde é detectada no aparelho através da quantidade de luz absorvida pela folha, nos comprimentos de onda ( $\lambda$ ) de 650 nm (vermelho) e 940 nm (vermelho distante próximo). A luz absorvida no  $\lambda$  de 650 nm (pelas

clorofilas, sem a interferência ocasionada pelos carotenoides) indica a quantidade de clorofilas, enquanto a quantidade absorvida próximo do  $\lambda$  de 940 nm serve como referência interna na compensação da espessura e conteúdo de água da folha (SWIADER e MOORE, 2002). Esse equipamento tem sido utilizado com sucesso como uma ferramenta confiável não destrutiva para a verificação rápida para tolerância à seca em cana-de-açúcar (SILVA, et al., 2007).

O SPAD, mesmo com sistema de compensação (luz absorvida no comprimento de onda de 940 nm) para alterações na espessura e conteúdo de água da folha, apresenta grandes variações de leitura entre espécies de plantas (RICHARDSON et al., 2002) e entre genótipos de uma mesma espécie (BULLOCK e ANDERSON, 1998) cultivados em uma mesma condição de ambiente, devido a diferenças na estrutura e anatomia foliar. O mesmo genótipo pode apresentar grandes variações no índice SPAD, ocasionadas por diferenças nas condições edafoclimáticas (PALIWAL e KARUNAICHAMY, 1995), no conteúdo de água (MARTINEZ e GUIAMET, 2004), estágio fenológico (PALIWAL e KARUNAICHAMY, 1995) e posição/idade da folha na planta (HOEL e SOLHAUG, 1998; GIL et al., 2002).

Folhas que estão submetidas a ambiente sombreado possuem maior teor de clorofilas e menor relação clorofila *a/b*, visando aumentar a eficiência de absorção de luz pelos cloroplastos (MARTINEZ e GUIAMET, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013). Como o comprimento de onda emitido pelo SPAD-502 (650 nm) está muito próximo do pico de absorção da clorofila *a* na faixa vermelha do espectro (663 nm), a maior parte da luz vermelha emitida pelo aparelho é absorvida pela clorofila *a*. Portanto, em estudos que visam à calibração desse aparelho, para se obter medidas indiretas de clorofila, deve-se evitar leituras em folhas excessivamente sombreadas, pois nesta condição o teor de clorofila *b* é proporcionalmente maior do que o de clorofila *a* quando comparadas com as folhas em pleno sol interferindo assim nos valores de leitura do clorofilômetro.

O nível de radiação no momento da medição também interfere na leitura do clorofilômetro. Os cloroplastos mudam sua orientação nas células em resposta ao nível de radiação incidente. Em baixa radiação, os cloroplastos orientam-se ao longo das paredes celulares superiores e inferiores, perpendicularmente ao sentido de incidência da luz, enquanto em alta radiação eles estão orientados, principalmente, ao longo das paredes

verticais das células, paralelamente ao sentido de incidência da luz (TAIZ e ZEIGER, 2013). Como consequência disso, as leituras do clorofilômetro são maiores quando medidas em condições de baixa luminosidade, como, por exemplo, no início da manhã ou no final da tarde, ou em folhas sombreadas da planta (HOEL e SOLHAUG, 1998, MARTINEZ e GUIAMET, 2004).

O conteúdo de clorofila das folhas é bem correlacionado com índice SPAD em milho e soja (MARKWELL et al., 1995); Santos (2013), trabalhando com variedades de cana-de-açúcar, obteve correlação positiva entre o conteúdo de clorofila e o índice SPAD. Schlemmer et al. (2005) notaram que o uso do clorofilômetro em tecido de milho que passou estresse por deficiência hídrica superestimou o conteúdo de clorofila, o que levou a indicar que a deficiência hídrica não havia afetado o conteúdo de clorofila. Para Silva (2007), o índice SPAD diminuiu progressivamente com a exposição à seca sendo que o declínio mais grave no genótipo de cana-de-açúcar sensível ao estresse hídrico. Todos os autores tiveram suas avaliações de SPAD em apenas um determinado horário do dia, sendo assim possível contestar a validade dos testes.

De acordo com Silva (2011), dependendo do horário de avaliação houve aumento linear na leitura SPAD em batata. Martínez e Guiamet (2004) verificaram em plantas de trigo, cultivadas em vasos, que as leituras realizadas com o SPAD no começo da tarde (14 horas) foram 2,7 unidades maiores do que quando realizadas pela manhã (9 horas), embora não tenham sido observadas diferenças no conteúdo de clorofila extraível da folha nesses períodos. De acordo com esses autores, a diferença de irradiância entre os períodos da manhã e da tarde parece não ser o principal responsável pelas diferenças entre as leituras, mas sim o conteúdo de água na folha. Diante disso, estudos a partir de plantas sob déficit hídrico tornam-se importantes para a determinação do melhor horário de medição e qual deles representa o real teor de clorofila na folha.

Como a cana-de-açúcar apresenta genótipos tolerantes ao déficit hídrico, os quais apresentam menor degradação dos pigmentos fotossintéticos (PARDO; DELGADO, 1989), a questão varietal também pode ser percebida quanto à variação do conteúdo diário de clorofila.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Localização do experimento**

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada na Fazenda Lageado, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP (22°52'47" latitude S, 48°25'12" longitude O e altitude de 810 m).

### **5.2 Material Vegetal**

Foram utilizadas duas cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), RB867515 e RB855453, que segundo Pincelli e Silva (2012), são consideradas padrão de tolerância e de susceptibilidade à deficiência hídrica, respectivamente. O material vegetal foi doado pela Usina da Barra – Grupo Raízen, localizada no município de Barra Bonita – SP.

### 5.2.1 RB867515

Apresenta hábito de crescimento ereto e despalha fácil. O perfilhamento é médio com colmos de diâmetro médio e alta uniformidade. Tem boa capacidade de brotação mesmo em plantios tardios sob baixas temperaturas. Em cana planta, em plantio de ano e meio, pode ocorrer tombamento ao final do ciclo devido ao crescimento vigoroso. Pode ocorrer florescimento. Colheita indicada de junho a agosto (DAROS et al., 2010).

### 5.2.2 RB855453

Possui colmos eretos, medianamente empalhados, de diâmetro médio a grosso. É de difícil tombamento, bom fechamento de entrelinhas, florescimento frequente, ótima brotação, médio perfilhamento, possui alta exigência de ambiente e não deve ser plantada como cana de ano. Tem alta produtividade agrícola, teor de sacarose muito alto e PUI (período útil de industrialização) curto. É resistente a maioria das doenças. Colheita indicada entre maio e julho (HOFFMANN et al., 2008).

## 5.3 Tratamentos e condução do experimento

O plantio foi realizado no dia 20 de dezembro de 2012, feito com três mini toletes (mesma idade e bom aspecto sanitário), com uma gema cada, plantados diretamente em vasos de 22 litros, preenchidos com solo Latossolo Vermelho distroférico de textura argilosa (EMBRAPA, 2006) misturados a  $0,75\text{g vaso}^{-1}$  de Ureia,  $3,21\text{g vaso}^{-1}$  de Superfosfato triplo e  $2,28\text{g vaso}^{-1}$  de Cloreto de Potássio. A adubação de ureia foi repetida em cobertura aos 30 dias após o plantio. A recomendação de adubação seguiu instruções do Boletim 100 para cana-de-açúcar (IAC, 1996), com base na análise de solo do mesmo (Tabela 1 e 2). Aos 35 dias após o plantio (DAP) foi feito um desbaste retirando as plantas extras, deixando somente uma planta por vaso, de modo que as plantas permanecessem na mesma condição. Tal prática foi repetida durante toda a condução do experimento.

Tabela 1. Análise química dos macronutrientes do solo.

pH	M.O.	P <sub>resina</sub>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					mg dm <sup>-3</sup>			
5,63	21	14	0	19	1,3	29	17	47	66	72	3

Tabela 2. Análise química dos micronutrientes do solo.

BORO	COBRE	FERRO	MANGANÊS	ZINCO
mg dm <sup>-3</sup>				
0,13	3,6	16	18,2	1,1

O teor de água do solo foi controlado com o uso de tensiômetros de punção em 16 vasos (um por bloco), sendo a tensão medida diariamente com um tensiômetro digital. A água foi adicionada manualmente, com um recipiente graduado. Todas as plantas foram mantidas em solo na capacidade de campo até os 162 DAP, em seguida cada cultivar foi separada em dois tratamentos, sem deficiência hídrica (-D) em que as plantas foram hidratadas com quantidade necessária para manter o teor de água no solo na capacidade de campo (CC) e o tratamento com estresse (+D) quando o teor de umidade no solo foi reduzido para 50% da CC, com suspensão parcial da rega (considerando como seca moderada).

As condições ambientais, dentro da casa de vegetação, foram monitoradas diariamente com um termohigrógrafo portátil (marca Acurite, China), obtendo-se temperaturas e umidades relativas do ar máxima e mínima. Durante o dia de avaliação as temperaturas, umidades e radiação máximas e mínimas foram acompanhadas para a caracterização do ambiente (Tabela 3). As medidas de radiação foram obtidas por intermédio de um medidor de radiação (Apogee Instruments, Inc., Roseville, CA, EUA).

Tabela 3. Caracterização do ambiente da casa de vegetação, às 7,10,13 e 16 horas do dia. Temperatura máxima e mínima (°C), Umidade Relativa do ar máxima e mínima (%) e Radiação fotossinteticamente ativa máxima e mínima ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )  $\pm$  desvio padrão.

Horário	Temperatura (°C)		Umidade relativa ( $\mu\text{mol s}^{-1}$ )		Radiação ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	
	Maxima	Minima	Maxima	Minima	Maxima	Minima
7	25,26 $\pm$ 0,31	20,41 $\pm$ 1,56	62,5 $\pm$ 4,09	48,69 $\pm$ 1,06	127 $\pm$ 5,87	93 $\pm$ 4,20
10	39,3 $\pm$ 0,48	23,36 $\pm$ 2,76	58,5 $\pm$ 6,08	41,5 $\pm$ 0,47	248 $\pm$ 15,67	194 $\pm$ 6,03
13	32,82 $\pm$ 0,49	28,82 $\pm$ 1,49	49,6 $\pm$ 2,29	40,5 $\pm$ 1,11	387 $\pm$ 18,67	119 $\pm$ 72,18
16	30,07 $\pm$ 0,09	26,19 $\pm$ 1,30	51,9 $\pm$ 1,54	46,4 $\pm$ 0,21	91 $\pm$ 18,20	33 $\pm$ 2,55

O delineamento estatístico utilizado foi em blocos inteiramente casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 2x2, sendo os fatores de variação: duas variedades e dois regimes hídricos (sem deficiência hídrica = -D, e com deficiência hídrica = +D), avaliados em quatro horários diferentes (7, 10, 13 e 16 h).

#### **5.4 Avaliações de atributos fisiológicos**

Todas as avaliações foram feitas aos 21 dias após a aplicação do tratamento (190 DAP) em quatro horários do dia (7, 10, 13 e 16 h).

Em todas as plantas foram utilizadas a primeira folha totalmente expandida e com lígula aparente (folha +1) para as avaliações, iniciando-se pelas variáveis não destrutivas e em seguida realizando as destrutivas.

##### **5.4.1 Estimativa do conteúdo de clorofila via índice SPAD (CE)**

O CE foi medido usando-se um clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corp., Ramsey, NJ, EUA) e considerou-se a média de três leituras nas folhas +1. A leitura (índice SPAD) corresponde ao teor de pigmento na folha, e seu valor é equivalente à quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimento de onda, nas quais a absorção de clorofila é diferente (MALAVOLTA et al., 1997). Dessa maneira, o valor fornecido é proporcional à quantidade de clorofila existente na folha, sendo esta medida indireta.

##### **5.4.2 Conteúdo de clorofila via espectrofotômetro**

O conteúdo de clorofila via espectrofotômetro foi determinado retirando, por meio de furador, dois discos foliares da folha +1, entre a borda e a nervura central da folha, cada um com  $0,69 \text{ cm}^2$ . A extração da clorofila *a* e clorofila *b* foram determinadas segundo a metodologia de Lichtenthaler (1987), para realização do cálculo do conteúdo de clorofila total CC *a+b* ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ), o método consiste na utilização de 1 mL do extrato de clorofila obtido à partir da extração por ácido dimetil-formamida (DMF). A solução foi mantida protegida da luz por 24 h, até o momento da extração. As leituras



foram feitas nos comprimentos de onda de 647 e 664 nm, com o extrato diluído em 1mL de água deionizada.

#### 5.4.3 Trocas gasosas

A temperatura da folha ( $^{\circ}\text{C}$ ), a condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e transformado para  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), a concentração interna de  $\text{CO}_2$  na câmara subestomática ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ), a transpiração ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e a eficiência do uso da água ( $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ) foram determinadas na parte mediana da folha +1, pelo aparelho analisador de trocas gasosas por radiação infravermelha (“*Infra Red Gas Analyser – IRGA*”, modelo LI-6400, LI-COR), realizado em luz ambiente.

#### 5.4.4 Máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ )

A máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II foi determinada nas folhas +1 por meio de um fluorômetro portátil (Opti-Sciences, Inc., Hudson, NH, EUA) com o qual foi obtido os valores da fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ) e da máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ). As folhas foram pré-escurecidas por aproximadamente 30 minutos, com auxílio de cliques específicos, antes das medidas de fluorescência.

#### 5.4.5 Potencial hídrico ( $\Psi_w$ )

As medidas de  $\Psi_w$  (MPa) foram feitas na extremidade superior (ponta) da folha +1, utilizando a câmara de pressão de Scholander (SoilMoisture Equipament, Santa Barbara CA, EUA).

### **5.5 Massa de matéria seca da parte aérea e das raízes**

Ao final da avaliação, as plantas foram retiradas dos vasos e as raízes separadas da parte aérea. As raízes foram lavadas em água corrente. Em seguida, ambas as partes foram levadas para estufa de circulação forçada de ar para serem secas a 70°C durante 72 horas. O material foi pesado em uma balança de precisão.

### **5.6 Análise estatística**

Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância (teste F), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ou desvio padrão.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Conteúdo de clorofila total (CC *a+b*)

As causas de variação cultivar e regime hídrico promoveram efeito significativo no teor de clorofila total em todos os períodos avaliados (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância do conteúdo de clorofila total (CC *a+b*) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares e regimes hídricos em quatro horários de avaliação. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar (C)	88,39**	15,17**	59,29**	7,52*
Regime hídrico (Rh)	114,45**	73,71**	72,62**	48,39**
C x Rh	15,56**	1,03 <sup>ns</sup>	12,14**	3,17 <sup>ns</sup>
CV%	2,38	4,18	4,30	3,61

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Houve interação significativa nos períodos de 7 e 13 horas (Tabela 5). Em ambos os horários a cultivar RB867515 apresentou maior conteúdo de clorofila total tanto em hidratação plena (-D) quanto sob deficiência hídrica (+D) quando comparada a cultivar RB855453. Sob déficit hídrico (+D) nos mesmos horários, ambas revelaram menores valores de clorofila total.

Tabela 5. Desdobramento da interação entre cultivares (RB867515 e RB855453) de cana-de-açúcar e regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para conteúdo de clorofila total (CC  $a+b$ , em  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ). Botucatu – SP, 2013.

7 Horas	CC $a+b$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	
	-D	+D
RB867515	68,58 aA	63,56 aB
RB855453	64,52 bA	53,63 bB
13 Horas	-D	+D
RB867515	64,52 aA	58,38 aB
RB855453	59,38 bA	44,73 bB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Às 7 horas a redução de clorofila total pelo déficit hídrico foi de  $5,02 \mu\text{g cm}^{-2}$  (7,3 %) na cultivar RB867515 e de  $10,59 \mu\text{g cm}^{-2}$  (17%) na RB855453. Já às 13 horas houve maiores reduções entre as cultivares, na tolerante de  $6,14 \mu\text{g cm}^{-2}$  (14%) e de  $14,65 \mu\text{g cm}^{-2}$  (19%) para a RB85545 (Figura 1 e tabela 5). Essa variação na redução dos valores de clorofila total entre regimes hídricos pode estar envolvida a alteração de temperatura, radiação e umidade no período das 13 horas, pois tais condições climáticas se apresentavam mais intensas (Tabela 3). A degradação da clorofila é uma das consequências ao estresse que pode ser resultado da fotoinibição e diminuição da eficiência fotossintética entre outros processos celulares, como a divisão e expansão celular (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). Segundo Du et al. (1996); Moore e Botha (2014), a redução no conteúdo de clorofila total pode ser de até 50% sob déficit hídrico.

A deficiência hídrica promoveu diferenças no conteúdo de clorofila entre os tratamentos, na cultivar RB867515 de 7 a 14% e na RB855453 14 a 24% durante o dia (Figura 1). Foi verificado por Silva et al. (2010) que ocorre grande redução no teor de

clorofila em cana-de-açúcar submetida ao déficit hídrico em cultivares sensíveis, causando, às vezes, danos irreversíveis a integridade do pigmento fotossintético.

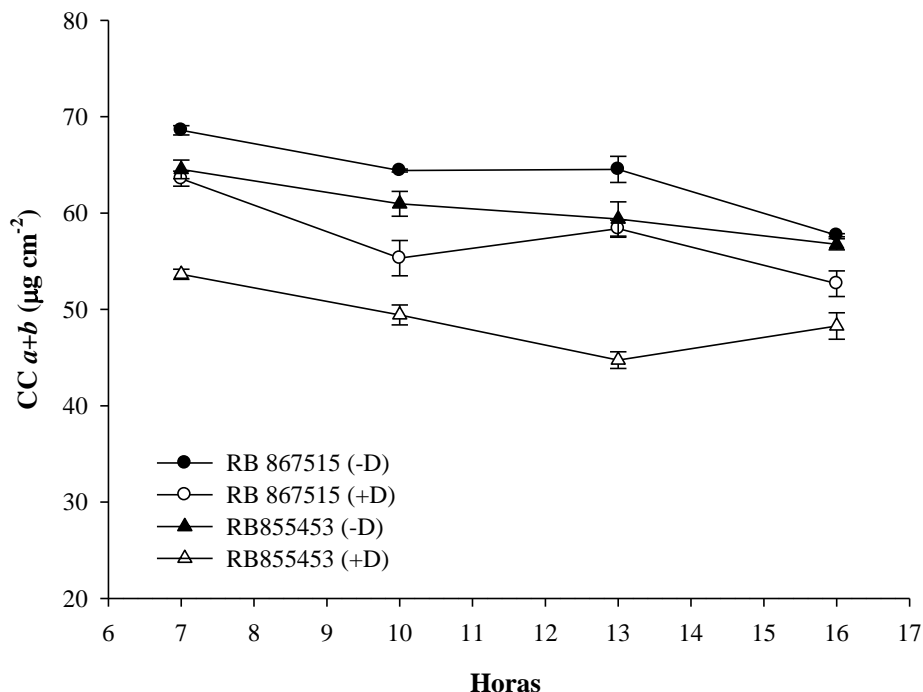


Figura 1. Conteúdo de clorofila total  $CC\ a+b$  ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Em trabalhos realizados por Pincelli (2010), Holanda (2012) e Carlin (2012), constatou-se que cultivares tolerantes de cana-de-açúcar apresentaram menor redução de teor de clorofila total comparada com as sensíveis, quando submetidas a deficiência hídrica.

Teixeira e Gaeta (1991), trabalhando com fitoplâncton, verificaram que a concentração da clorofila mostrou uma variação muito grande entre as diferentes horas das coletas. Os autores constataram que a variação da concentração de clorofila nas diferentes horas de um mesmo dia foi de 1,48 a 4,80  $\text{mg m}^{-3}$  durante o verão e de 2,0 a 2,48  $\text{mg m}^{-3}$  no inverno. Os mesmos autores citam que há oscilações das atividades biológicas a qual refere-se à integração do ciclo diurno dos elementos bioquímicos do interior das células e à influência do ambiente aliado ao efeito da oscilação solar.

O conteúdo de clorofila nas folhas é uma variável fundamental para a compreensão das respostas de uma planta ao ambiente em que ela está inserida e,

portanto, é um indicador em potencial do grau de estresse, pois tem papel direto no processo fotossintético de captação de luz e início do transporte de elétrons (ZARCO-TEJADA et al., 2002). O potencial fotossintético é diretamente proporcional à quantidade de clorofila presente no tecido foliar (SCHLEMMER et al., 2005). Em adição, a seca normalmente interfere negativamente sobre estes pigmentos.

Segundo Taiz e Zeiger (2013), a disponibilidade de água afeta diretamente a estabilidade da molécula da clorofila, pois, no cloroplasto ocorre oxidação da água (reação de Hill), para recompor os elétrons liberados pela fotooxidação da clorofila.

## 6.2 Índice SPAD

A análise de variância para índice SPAD indicou efeito significativo para cultivar no período de 10 h. Já o regime hídrico promoveu efeito significativo em todos os períodos avaliados durante o dia (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância do índice SPAD em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar (C)	1,44 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>*</sup>	1,49 <sup>ns</sup>	2,21 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	21,86 <sup>**</sup>	86,72 <sup>**</sup>	21,78 <sup>**</sup>	12,83 <sup>**</sup>
C x Rh	2,95 <sup>ns</sup>	20,74 <sup>**</sup>	6,80 <sup>*</sup>	3,36 <sup>ns</sup>
CV%	3,66	2,99	7,36	6,05

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Nos períodos de 10 e 13 h houve interação cultivar x regime hídrico. Sob déficit hídrico (+D) em ambos os horários, pôde-se diferenciar as cultivares, sendo que a RB867515 obteve maiores valores de índice SPAD. Já no tratamento sem déficit (-D), observou-se que às 10 horas a cultivar RB855453 obteve médias superiores a RB867515 e não diferiram significativamente às 13 h (Tabela 7). O genótipo RB855453, em ambos os horários, apresentou menor valor de índice SPAD sem deficiência hídrica; e o RB867515 não diferiu para regime hídrico às 13h. Pode-se fazer uma analogia ao conteúdo de clorofila total extraído, que também permitiu a diferenciação das cultivares às

13 horas. Neste horário as condições ambientais como temperatura e radiação influenciam na leitura, assim como potencial hídrico da folha.

Tabela 7. Desdobramento da interação entre cultivares (RB867515 e RB855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para índice SPAD. Botucatu – SP, 2013.

10 Horas	Índice SPAD	
	-D	+D
RB867515	38,20 bA	35,57 aB
RB855453	40,72 aA	33,07 bB
13 Horas	-D	+D
RB867515	37,45 aA	34,77 aA
RB855453	39,25 aA	29,80 bB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação à variação do índice SPAD ao longo do dia, às 10 horas houve redução de cerca de 2 unidades na cultivar RB867515 quando submetida a deficiência hídrica e na RB855453, considerada sensível à seca, apresentou variação de cerca de 7 unidades sob tal tratamento (Figura 2). No período de 13 horas a RB867515 apresentou a mesma oscilação, e a cultivar RB855453 obteve uma redução de 9 unidades. Silva et al. (2010) verificaram que cultivares de cana-de-açúcar sensíveis ao déficit hídrico apresentaram reduções significativas de índice SPAD quando comparado a tolerante sob condições seca.

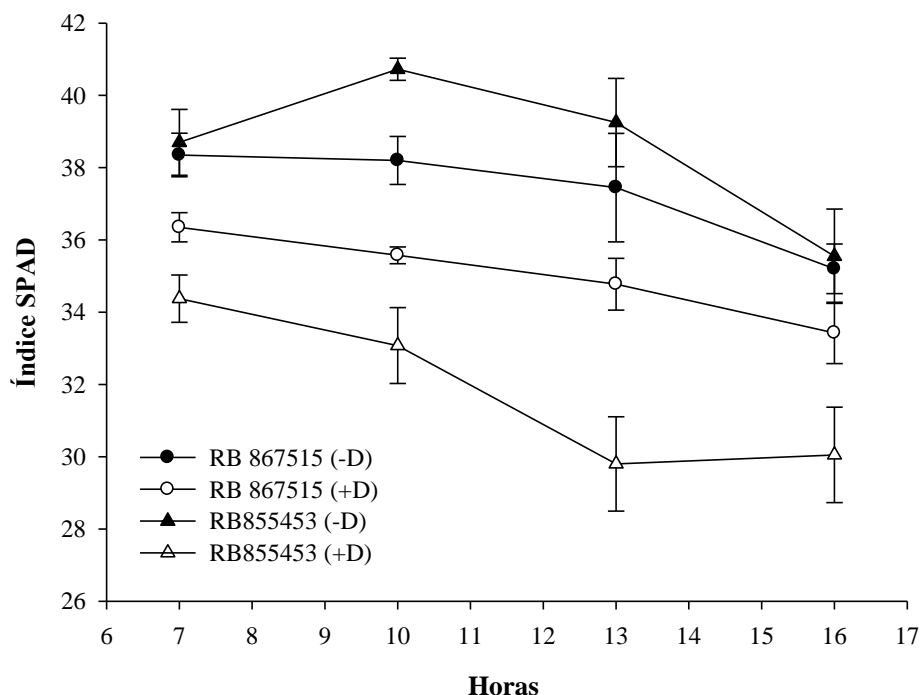


Figura 2. Índice SPAD ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Nos períodos de 7 e 16 horas as reduções no índice SPAD causadas pelo déficit hídrico dentro das duas cultivares foram menores. Isto aconteceu devido a menor luminosidade do horário, já que esta interfere nas leituras do clorofilômetro. Segundo Taiz e Zeiger (2013) o teor de clorofila *b* é proporcionalmente maior do que o de clorofila *a* em ambiente sombreado, quando comparadas com as folhas em pleno sol. Visto que o clorofilômetro emite comprimentos de onda absorvidos apenas pela clorofila *a*, a luminosidade do horário pode interferir nos valores da leitura.

O índice SPAD apresentou tendência de queda nos valores ao longo do dia, comportamento semelhante ao observado por Silva (2011) e Holanda (2012) que encontraram a queda nos valores com o passar dos dias em cana-de-açúcar.

Martínez e Guiamet (2003) encontraram diferentes valores de índice SPAD nas mesmas folhas em resposta a mudanças no status hídrico foliar e irradiância na hora da medição. As medições também diferem significativamente entre manhã e tarde, e parte dessas flutuações diárias pode ser atribuída a mudanças no conteúdo



de água na folha. Os mesmos autores afirmam que fatores como status hídrico e irradiância podem alterar em 2 a 4 unidades SPAD na leitura.

Grant (1987) verificou em seu trabalho que a diminuição do potencial hídrico foliar causou aumento nas leituras SPAD, isto é, houve uma diminuição na transmitância aparente das folhas. O aumento da reflectância da luz pode ser uma explicação para a diminuição da transmitância aparente em folhas ligeiramente desidratadas. A luz é refletida através das interfaces da folha com diferentes índices de refração, por exemplo, as interfaces de parede celular ou espaços intercelulares.

A desidratação do protoplasto pode aumentar a área de superfície total da interface da célula, aumentando assim reflectância de luz na folha, particularmente na região visível do espectro entre 600 e 700 nm (CARTER e McCAIN, 1993). Uma vez que o medidor SPAD não pode discriminar se uma diminuição na quantidade de luz que atinge o sensor é perdida por absorção ou reflexão; um aumento na reflectância em baixo potencial hídrico foliar pode ser erroneamente contabilizado, que seria na verdade uma diminuição da transmitância e, por conseguinte, como um maior teor de clorofila das folhas.

Portanto, neste trabalho verificou-se que o índice SPAD é uma variável confiável para diferenciação de cultivares sob deficiência hídrica nos horários mais quentes do dia. Por outro lado, Jesus e Marengo (2008), avaliando frutíferas, relataram que a falta de linearidade entre os teores relativos (obtidos pelo clorofilômetro) e os teores absolutos de clorofila sugere que a distribuição da clorofila na superfície da folha apresenta certa desuniformidade.

Silva et al. (2013) constataram que cultivares de cana-de-açúcar com habilidade de manter maiores valores do índice SPAD sob deficiência hídrica moderada durante o período de maior desenvolvimento foram mais produtivas. De acordo com os autores, o índice SPAD é um dos principais parâmetros fisiológicos que deve ser considerado em programas de melhoramento a fim de discriminar cultivares tolerantes e sensíveis à seca.

### 6.3 Temperatura foliar

A análise de variância revelou efeito significativo sobre a temperatura foliar nos períodos de 10, 13 e 16h promovido pela causa de variação regime hídrico (Tabela 8). A interação entre cultivar e regime hídrico foi significativo em apenas um momento, às 10 h (Tabela 8).

Tabela 8. Resumo da análise de variância temperatura foliar (°C) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar (C)	0,09 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>	3,54 <sup>ns</sup>	5,03 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	2,71 <sup>ns</sup>	85,96 <sup>**</sup>	40,70 <sup>**</sup>	11,82 <sup>**</sup>
C x Rh	0,28 <sup>ns</sup>	7,68 <sup>*</sup>	1,19 <sup>ns</sup>	0,58 <sup>ns</sup>
CV%	3,90	2,44	2,24	2,03

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Verifica-se que às 10h a cultivar RB867515 possui um incremento na temperatura foliar de 2,36 °C quando submetida ao déficit hídrico, o que se mostra menor do que na cultivar RB855453 (4,37°C) que é considerada sensível à deficiência hídrica (Tabela 9 e figura 3). A situação sugere que mesmo que a temperatura foliar aumente com o decréscimo do status hídrico da planta, a cultivar tolerante possui maior capacidade de se manter protegida de faixas térmicas muito elevadas com sua capacidade de resfriamento foliar.

Tabela 9. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para temperatura foliar (°C). Botucatu – SP, 2013.

10 Horas	Temperatura foliar (°C)	
	-D	+D
RB867515	28,74 aB	31,10 aA
RB855453	27,47 bB	31,84 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Efeitos semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2007), que constataram aumento da temperatura foliar para todos os genótipos estudados independente da sua classificação de tolerância e susceptibilidade. O mesmo autor destaca que alguns genótipos suscetíveis tiveram sua temperatura aumentada em resposta ao estresse hídrico do que a dos genótipos tolerantes; como observado neste trabalho (Figura 3).

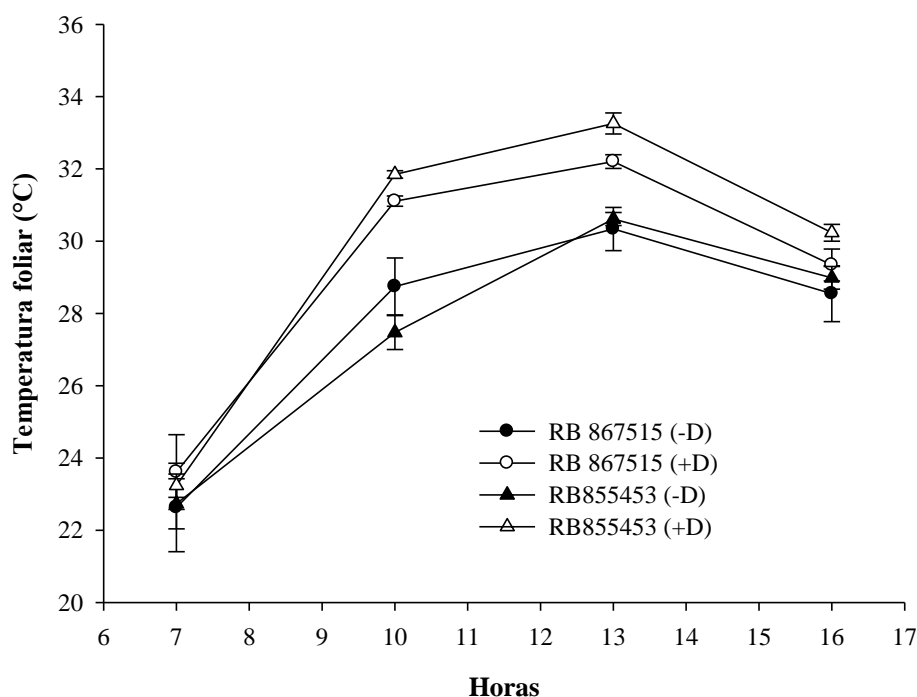


Figura 3. Temperatura foliar ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

A temperatura foliar foi relativamente menor no genótipo tolerante, o resultado pode ser atribuído ao melhor status hídrico foliar que permitiu assim, que os estômatos permanecessem mais abertos sustentando o resfriamento através da transpiração. Como consequência, o influxo de  $\text{CO}_2$  foi mantido, permitindo que a planta obtivesse resultados melhores na taxa fotossintética.

Os valores de temperatura foliar apresentam médias próximas de 20 a 23°C no período das 7 h; 27 a 31°C às 10 h; 30 a 33°C às 13 h e de 28 a 30°C às 16 h

(Figura 3). Tais variações de temperatura acompanham as mudanças das condições microclimáticas que ocorreram durante o dia.

O período de 13 horas apresentou a máxima diferença entre a temperatura foliar da cultivar tolerante e sensível sob deficiência hídrica ( $1,05^{\circ}\text{C}$ ) (Figura 3). De acordo com Silva et al. (2007), sob déficit hídrico, a temperatura foliar dos genótipos tolerantes foi, em média,  $2,2^{\circ}\text{C}$  menor do que a dos genótipos suscetíveis.

O aumento da temperatura foliar foi, provavelmente, devido à redução da transpiração, resultante do fechamento induzido dos estômatos. Como os estômatos se fecham em resposta ao estresse hídrico, a transpiração cessa, levando ao aumento na temperatura da folha (LUQUET et al, 2003; JONES, 2004). Embora esta resposta fisiológica ao aumento do estresse por deficiência hídrica pode ajudar a prevenir o desenvolvimento de déficits hídricos letais, ele também pode levar a temperaturas letais em condições quentes e ensolarados como observada no período mais quente do dia, entre 10 e 13 horas.

A variação entre a temperatura foliar da cultivar RB867515 e a temperatura máxima do ambiente às 13 horas foi de  $2,98^{\circ}\text{C}$  (-D) e  $1,11^{\circ}\text{C}$  (+D), enquanto a RB855453 de  $2,7^{\circ}\text{C}$  (-D) e  $0,06^{\circ}\text{C}$  (+D) (Figura 3). De acordo com Taiz e Zeiger (2013), em geral as plantas C4 podem ter elevadas em 4 a  $5^{\circ}\text{C}$  a temperatura foliar em relação à temperatura do ambiente, sob luz solar plena e deficiência hídrica do solo. Os autores também afirmam que as folhas transpiram ativamente e mantém a sua temperatura, em geral, mais baixa do que a temperatura do ar, mas a deficiência hídrica restringe a transpiração e causa o superaquecimento e estresse por calor.

#### **6.4 Potencial Hídrico Foliar ( $\Psi_w$ )**

De acordo com a análise de variância, o fator cultivar promoveu efeito significativo no potencial hídrico na folha em todos os horários, enquanto para regime hídrico houve efeito significativo entre 10 h as 16h (Tabela 10).

Tabela 10. Resumo da análise de variância do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar(C)	6,97*	25,06**	30,64**	17,96**
Regime hídrico (Rh)	3,36 <sup>ns</sup>	448,08**	174,61**	139,95**
C x Rh	1,05 <sup>ns</sup>	18,00**	0,39 <sup>ns</sup>	2,38 <sup>ns</sup>
CV%	15,18	5,92	6,08	8,77

ns: não significativo; \* significativo ( $P < 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ); C.V.: coeficiente de variação.

Às 10h houve interação significativa entre cultivar e regime hídrico. Nota-se que a cultivar RB867515, quando submetida ao déficit hídrico, possui médias de potencial hídrico maiores que da cultivar RB855453, o que não acontece em hidratação plena que não difere estatisticamente (Tabela 11). Em ambas as cultivares o regime hídrico sem deficiência hídrica apresentaram os maiores valores de potencial hídrico, mostrando que as plantas estavam bem hidratada no momento da avaliação as 10h (Tabela 12).

Tabela 11. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para potencial hídrico  $\Psi_w$  (MPa). Botucatu – SP, 2013.

10 Horas	$\Psi_w$ (MPa)	
	-D	+D
RB 867515	-1,12 aA	-1,98 aB
RB 855453	-1,16 aA	-2,41 bB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O  $\Psi_w$  foliar reflete as condições da dinâmica do processo de transporte no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo-se no principal componente responsável pelo fluxo de água na planta. Essa variável acompanhou a tendência dos valores de temperatura durante o dia, sendo que os valores mais negativos foram obtidos em horas mais quentes do dia, entre 10 e 13 horas sob condições de estresse. Nota-se que

no período de 10 h houve variação de  $\Psi_w$  de  $-1,12$  a  $-1,16$  MPa nas cultivares quando hidratadas e o decréscimo no  $\Psi_w$  de  $-1,9$  MPa para cultivar RB8667515 e  $-2,4$ MPa para cultivar RB855453 sob deficiência hídrica. Já às 13h determinou-se uma variação de  $-1,33$  a  $-1,61$  MPa em plantas hidratadas as quais apresentaram redução no  $\Psi_w$  de  $-2,0$  a  $-2,4$ MPa sob deficiência hídrica (Figura 4).

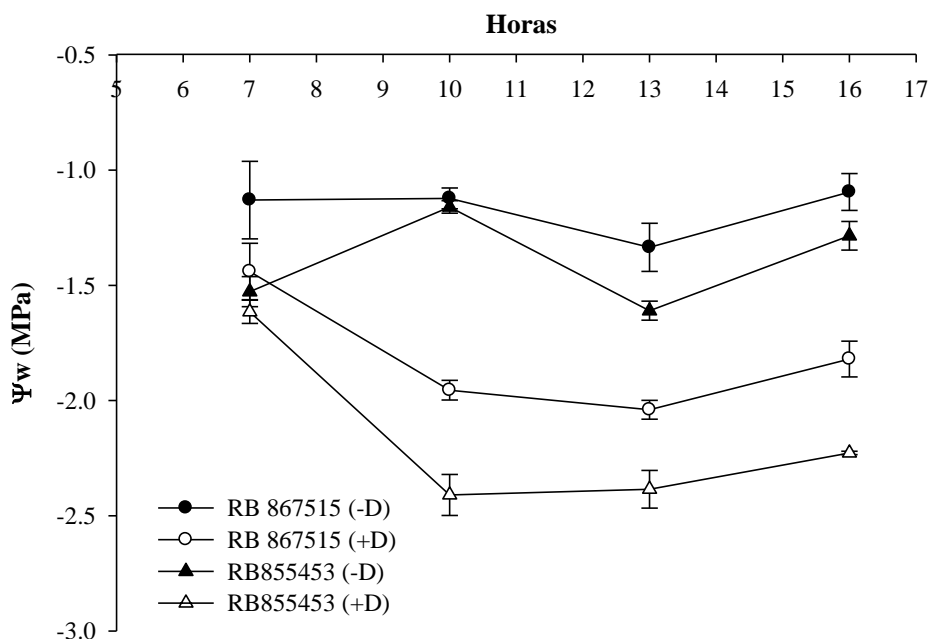


Figura 4. Potencial hídrico  $\Psi_w$  (MPa) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Diante dessa resposta, pode-se verificar que a deficiência hídrica, bem como o horário analisado afetou o status hídrico de ambas as variedades, causando diminuição de  $\Psi_w$ , que pode ter levado a uma sinalização hidráulica que levou ao fechamento estomático.

A variação diurna do potencial hídrico observado neste estudo é similar à relatada por outros pesquisadores. Perez e Morais (1991), estudando plantas de cerrado, notaram que os valores de  $\Psi_w$  da folha diminuem até atingir um mínimo próximo das 14:00 h, observando-se reidratação da folha ao final da tarde. Em outros estudos, Naves-Barbiero et al. (2000) observaram que  $\Psi_w$  da folha é máximo pela manhã, mas

diminui até atingir valores mínimos entre 13:00 e 15:00 h, aumentando a turgidez da folha ao final da tarde.

Estudos em cana-de-açúcar mostraram que o potencial hídrico em plantas com boa disponibilidade hídrica pode atingir  $\Psi_w$  de -0,5 MPa ao meio-dia, enquanto sob deficiência hídrica apresentam valores menores entre -1,5 a -2 MPa (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005). PINCELLI (2010) trabalhando em casa de vegetação, encontrou valores de potencial hídrico próximos de -3,0 MPa nas cultivares sensíveis com 56 dias de deficiência hídrica. Maiores reduções do  $\Psi_w$  em cultivares sensíveis sob deficiência hídrica também foram verificadas por ENDRES et al. (2010) em condições de campo e SILVA et al. (2012) em casa de vegetação.

O potencial de água da folha indica o seu estado energético, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000) de modo que, variações no potencial hídrico da folha podem afetar a assimilação do carbono da planta (HSIAO, 1973). Isto porque, se a planta perde água a uma taxa superior à sua capacidade de absorção e transporte o potencial hídrico da folha diminui, levando ao fechamento dos estômatos e redução da fotossíntese.

Presume-se que nos horários mais quentes do dia a condutância estomática diminua a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha diminua abaixo de níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água (OREN et al., 1999). O nível mínimo que o potencial hídrico pode atingir durante os horários de transpiração intensa depende tanto de fatores genéticos como de fatores ambientais. Contudo, em situação de baixa disponibilidade de água no solo as plantas reduzem a perda de água ao reduzir a condutância estomática. Para favorecer a turgescência celular em situações de estresse hídrico, ocorrem ajustes no metabolismo celular, por exemplo, via o acúmulo de substâncias orgânicas, tais como a prolina, o que contribui para a osmorregulação (SILVA et al., 2004).

## 6.5 Trocas gasosas

### 6.5.1 Condutância estomática

As causas de variação cultivar e regime hídrico promoveram efeito significativo na condutância estomática para os horários 7, 10 e 13 horas e às 16 horas esse efeito foi verificado somente para regime hídrico (Tabela 12).

Tabela 12. Resumo da análise de variância da condutância estomática (g<sub>s</sub>) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar (C)	18,06**	54,12**	17,86**	4,59 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	50,14**	82,06**	14,81**	34,87**
C x Rh	5,27*	0,0 <sup>ns</sup>	1,09 <sup>ns</sup>	1,68 <sup>ns</sup>
CV%	16.66	13.96	23.77	24.24

G.L.: Graus de liberdade; ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Essa variável se mostrou mais confiável para diferenciação de cultivares de cana-de-açúcar no período de 7 horas sem deficiência hídrica (-D), sendo que para a RB867515, como nas demais variáveis avaliadas, obteve maior condutância estomática do que a RB855453 (Tabela 14). Neste momento em particular, a RB867515 teve uma redução, de cerca de 50% na condutância estomática, causada pelo estresse hídrico, enquanto a RB855453 apresentou queda de aproximadamente 39% pelo mesmo tratamento (Tabela 13).



Tabela 13. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para condutância estomática  $g_s$  ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Botucatu – SP, 2013.

7 Horas	$g_s$ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	
	-D	+D
RB867515	159,9 aA	80,21 aB
RB855453	104,26 bA	63,61 aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após às 7 horas a cultivar RB867515 apresentou menor redução na condutância estomática quando comparada a RB855453 ( Figura 5). A RB867515 teve queda de 40% (10h), 23% (13h) e 39% (16h) e a RB855453 de 59% (10h), 55% (13h) e 66% (16h) quando submetidas à deficiência hídrica( Figura 5). Os resultados provam que a cultivar tolerante tem a capacidade de reduzir menos na tentativa de manter a condutância sob mudanças ambientais, como seca, temperatura e radiação elevada.

Os valores da condutância estomática ao longo do dia variaram entre 56,6 a 159,9  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para a cultivar RB867515 (-D) e entre 34,15 e 80,15  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (+D). Ainda, para RB855453 os valores ficaram entre 45,01 a 104,2  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (-D) e 17,4 a 63,6  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (+D) (Figura 5).

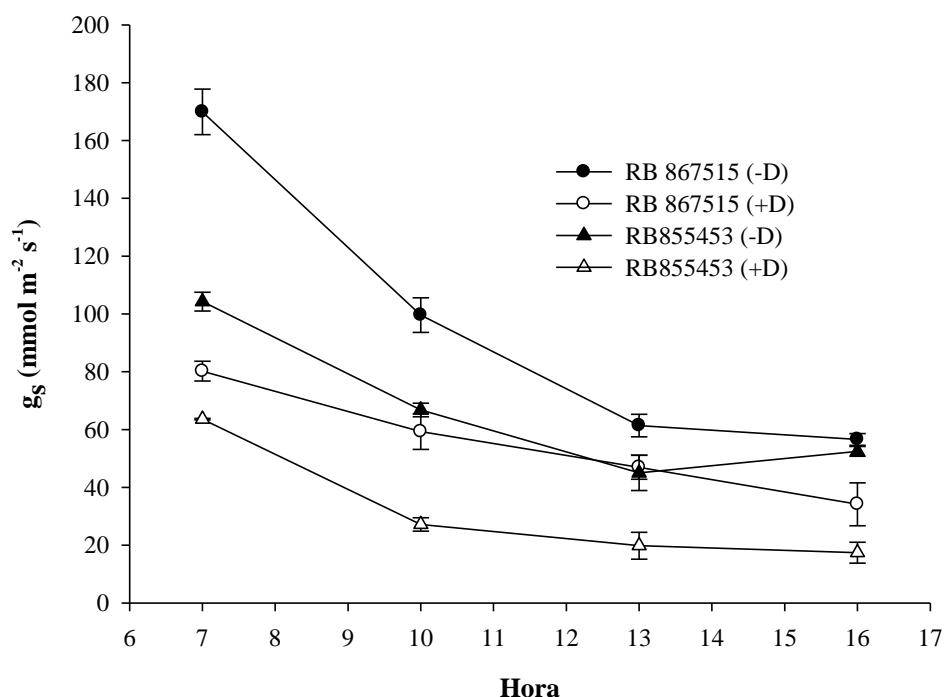


Figura 5. Condutância estomática,  $g_s$  ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Nota-se a queda da condutância estomática ( $g_s$ ) ao longo do dia nas duas variedades com e sem déficit hídrico, podendo ela ser atribuída ao aumento da temperatura (Figura 3), à diminuição do potencial hídrico da folha (Figura 4) ou um efeito combinado de ambos os fatores, sem excluir o efeito da irradiância, a qual também aumenta com o passar das horas. O fechamento estomático reduz a transpiração, diminuindo a capacidade de refrigeração da folha e aumentando a temperatura da mesma (ARAÚJO et al., 2010).

Gonçalves et al. (2010) estudaram quatro genótipos de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica e também constataram que ocorreu tendência de redução na  $g_s$  ao longo do tempo.

Holanda (2012), estudando cultivares de cana-de-açúcar sob deficiência hídrica constatou que o maior fechamento estomático se dá às 10 horas da manhã, o que não é verificado no presente trabalho, pois verifica-se que a  $g_s$  para as duas

cultivares com e sem deficiência hídrica apresenta uma tendência decrescente ao longo do dia (Figura 5), a qual segue uma relação inversa com a temperatura.

Os resultados corroboram com os apresentados por Silva et al. (2012), que, estudando cana-de-açúcar sob déficit hídrico, verificaram que a redução de gs foi menor em genótipos tolerantes e sugerem que a redução estomática e maiores taxas fotossintéticas foram identificados como alguns mecanismos fisiológicos responsáveis pela tolerância à seca.

### 6.5.2 Taxa de Assimilação de CO<sub>2</sub>

As causas de variação cultivar e regime hídrico promoveram efeito significativo na assimilação de CO<sub>2</sub> para todos os horários analisados (Tabela 14).

Tabela 14. Resumo da análise de variância da Taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar (C)	114,46**	8,28*	30,91**	52,00**
Regime hídrico (Rh)	165,24**	43,00**	44,32**	99,27**
C x Rh	18,64**	0,01 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
CV%	5,33	11,98	11,25	13,43

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Houve interação significativa entre cultivar e regime hídrico para taxa de fotossíntese às 7 h, em que o comportamento da cultivar RB867515 mostrou maior assimilação de CO<sub>2</sub> que a cultivar RB855453 tanto sob deficiência hídrica (+D) como para as plantas plenamente hidratadas (-D) (Tabela 15). Em ambas as cultivares o efeito do déficit hídrico diminuiu a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> no horário as 7h, com redução para RB867515 de 18% e RB855453 42% (Figura 6). No tratamento –D as médias de fotossíntese foram maiores, indicando maior assimilação de CO<sub>2</sub> sob hidratação adequada.

O horário das 7 horas se mostrou eficiente quando se trata da variável fotossíntese bem como para conteúdo de clorofila (Figura 1) na indicação de estresse nas cultivares. De acordo a Taiz e Zeiger (2013) a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> se associa com o conteúdo de pigmentos nas folhas, pois a absorção de luz para a fotossíntese ocorre nas clorofilas que determinam a eficiência fotossintética.

Tabela 15. Desdobramento da interação entre cultivares (RB 867515 e RB 855453) de cana-de-açúcar submetidas aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D) para taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) . Botucatu – SP, 2013.

7 Horas	A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
	-D	+D
RB867515	9,95 aA	8,15 aB
RB855453	8,60 bA	4,98 bB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

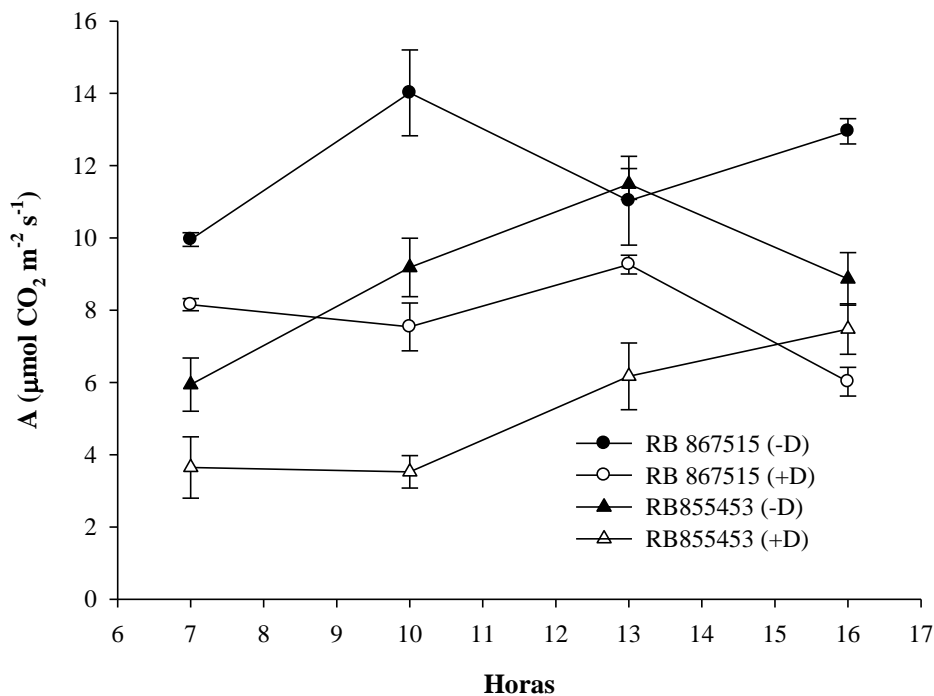


Figura 6. Taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Considerando-se a curva de assimilação de CO<sub>2</sub> ao longo do dia, pode-se observar picos de fotossíntese em diferentes horários do dia em plantas hidratadas. Também foi verificado maiores reduções da taxa fotossintética às 10 horas e 13 horas em ambas as cultivares sob condições de estresse, para RB867515 de 31% e 27% e RB855453 de 35% e 37% respectivamente (Figura 6).

Os resultados corroboram com o estudo da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em folhas de laranja “Valência” (*Citrus sinensis* L.), em que foi observado que a taxa de fotossíntese foi maior no período da manhã (aproximadamente 10 horas) do que na parte da tarde (MACHADO et al., 2002). Analogamente, em *Guazuma ulmifolia* (Lam.) e *Croton* spp., espécies arbóreas pioneiras, os valores de fotossíntese são também maiores nas primeiras horas da manhã (RIBEIRO et al., 2005).

A inibição da fotossíntese induzida pelo estresse hídrico pode ser devida à limitação estomática, como verificado em quatro diferentes espécies de gramíneas, por Ghannoum et al. (2003). Gonçalves et al. (2008), analisando genótipos de

cana-de-açúcar sob déficit hídrico, verificaram que as plantas do tratamento de irrigação adequada (-D), embora com os estômatos parcialmente fechados, mostraram tendência em manter ou reduzir em menor proporção a taxa de fotossíntese líquida. A assimilação de CO<sub>2</sub> depende não só do grau de abertura dos estômatos, mas, também, do aumento da resistência de CO<sub>e</sub> atividade enzimática (INMAN-BAMBER; SMIT, 2005).

### 6.5.3 Transpiração

A análise de variância para transpiração indicou efeito significativo para cultivar em todos os períodos analisados. Já o regime hídrico promoveu efeito significativo nos horários a partir das 10 horas (Tabela 16).

Tabela 16. Resumo da análise de variância da Transpiração em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	GL	Valores de <i>F</i>			
		Horário			
		7	10	13	16
Cultivar (C)	1	12.07**	28.03**	12.80**	0.00*
Regime hídrico (Rh)	1	4.94 <sup>ns</sup>	26.05**	15.52**	12.03**
C x Rh	1	2.49 <sup>ns</sup>	0.56 <sup>ns</sup>	1.02 <sup>ns</sup>	3.25 <sup>ns</sup>
CV%		31.08	27.44	23.15	29.77

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

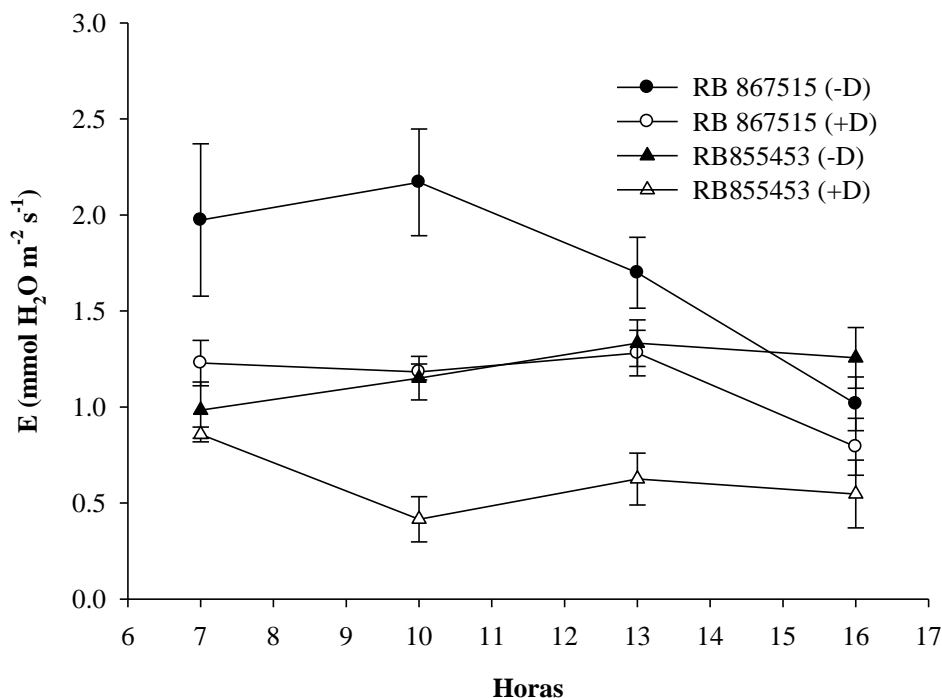


Figura 7. Transpiração ( $E$ ,  $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

A transpiração das plantas em ambas as variedades foi maior quando estas se encontravam hidratadas (Figura 7). Para a cultivar RB867515 a maior diferença entre os regimes hídricos se deu às 10 horas, onde as plantas hidratadas apresentaram uma transpiração 45% maior que as plantas sob deficiência hídrica. Já para a cultivar RB855453, essa diferença também foi maior no período de 10h, revelando redução de 63% na transpiração quando submetidas ao déficit hídrico. O potencial hídrico foliar teve a maior queda neste mesmo horário, explicando assim tal redução na transpiração.

Reduções significativas na transpiração foliar também foram observadas em genótipos de milho (Cruz, 2006), assim como em variedades de cana-de-açúcar (Arias et al., 1996) submetidas a deficiência hídrica. Nable et al. (1999) também encontraram reduções nas taxas transpiratórias em sorgo e cana-de-açúcar, sendo que nesta última foram mais severas, sempre que a fração de água disponível no solo decrescia.

#### 6.5.4 Eficiência do uso da água

A análise de variância revelou efeito significativo sobre a eficiência do uso da água às 13h promovido pela causa de variação cultivar e às 7 e 16h pela causa de variação regime hídrico (Tabela 17).

Tabela 17. Resumo da análise de variância da Eficiência do uso da água em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	GL	Valores de <i>F</i>			
		Horário			
		7	10	13	16
Cultivar (C)	1	0.0046 <sup>ns</sup>	0.40 <sup>ns</sup>	17.92 <sup>**</sup>	1.28 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	1	11.89 <sup>**</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	1.40 <sup>ns</sup>	8.83 <sup>*</sup>
C x Rh	1	0.98 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	1.60 <sup>ns</sup>	3.52 <sup>ns</sup>
CV%		69.29	94.66	40	52.81

ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.



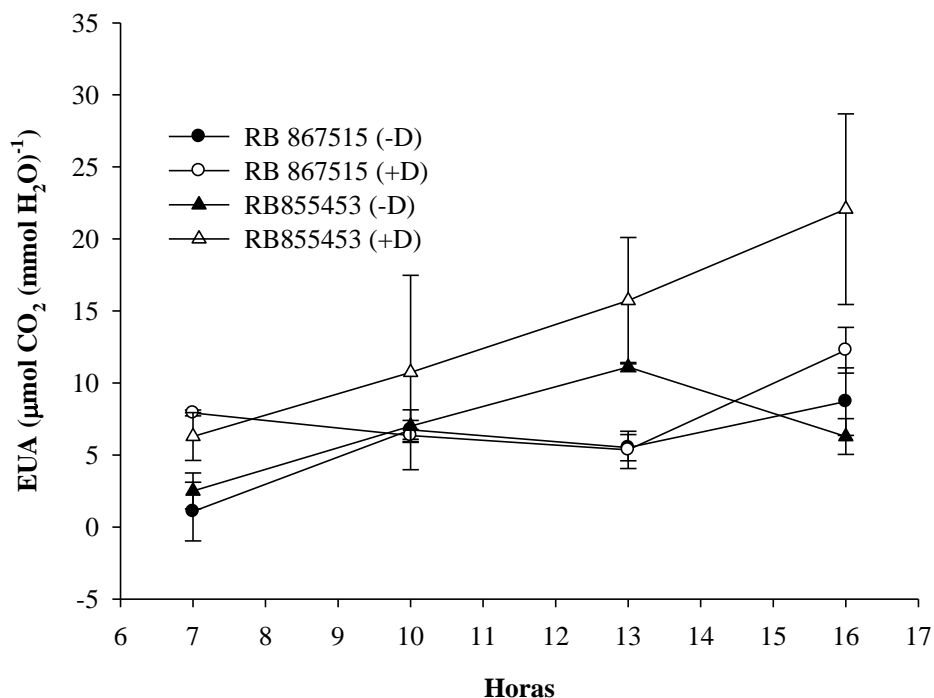


Figura 8. Eficiência do uso da água (EUA,  $\mu\text{mol CO}_2 (\mu\text{mol H}_2\text{O})^{-1}$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB855453 submetida aos regimes hídricos adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

A eficiência do uso da água na cultivar RB867515 apresentou valores maiores quando submetida ao déficit hídrico em todo o período analisado, tendo a maior diferença entre os regimes hídricos às 7 e 16h. No primeiro período as plantas sob déficit hídrico tiveram valores de eficiência do uso da água maiores que quando hidratadas, de 86% e 60% para a RB867515 e RB855453 respectivamente. Já no período de 16h essa diferença foi de 29% e 71% para as cultivares.

De modo geral, sob estresse hídrico as plantas adotam um mecanismo conservativo, reduzindo a condutância estomática e a transpiração e aumentando a eficiência do uso da água. Nessas condições, a taxa de fotossíntese também acaba sendo reduzida.

### 6.7 Máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm)

Não houve efeito significativo das causas de variação cultivar e regime hídrico para a Fv/Fm, com exceção de regime hídrico as 7 h (Tabela 18). Isso revela que a cultivar e o regime hídrico não influenciaram para essa variação durante os períodos analisados.

Tabela 18. Resumo da análise de variância da máxima eficiência fotoquímica da fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares, regimes hídricos e horários de avaliações. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>			
	Horário			
	7	10	13	16
Cultivar(C)	0.05 <sup>ns</sup>	0.17 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	0.35 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	5.93*	0.65 <sup>ns</sup>	1.61 <sup>ns</sup>	1.19 <sup>ns</sup>
C x Rh	3.02 <sup>ns</sup>	0.27 <sup>ns</sup>	1.84 <sup>ns</sup>	1.48 <sup>ns</sup>
CV%	1.51	4.01	5.95	3.09

ns: não significativo; \* significativo ( $P < 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ); C.V.: coeficiente de variação.

A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II, representada pela razão Fv/Fm não se constatou alteração significativa entre os tratamentos em ambas cultivares, foi verificada na cultivar RB867515 razão de Fv/Fm entre 0,73 a 0,79 no controle e 0,75 a 0,82 sob deficiência hídrica (Figura 7). Valores de Fv/Fm próximo ao controle e maiores ou igual 0,75, indicam nesse estudo que a maior parte da radiação talvez estivesse sendo utilizada na fase fotoquímica da fotossíntese não havendo, portanto, comprometimento do PSII em virtude do estresse hídrico (GONÇALVES et al., 2010; SILVA et al., 2014 b).

Já a cultivar RB855453 apresentou valores médios de Fv/Fm entre 0,79 a 0,75 no controle e 0,82 a 0,75 sob estresse. Observa-se em RB855453 uma maior redução às 13 horas com valor médio de Fv/Fm (7,5%) (Figura 7) mostrando maior sensibilidade na relação Fv/Fm em função do estresse hídrico nesse horário. Entretanto, no presente trabalho verificou-se que no período em que a Fv/Fm teve alteração foi o mesmo em que a temperatura e radiação se encontravam em valores máximos durante o dia.

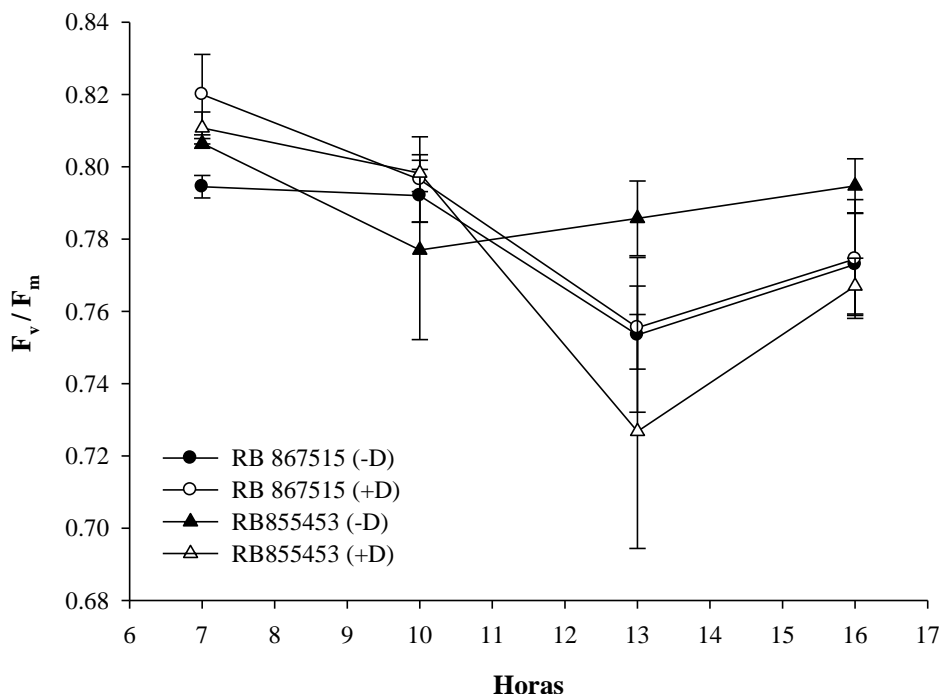


Figura 9. Máxima eficiência fotoquímica da fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) ao longo do dia nas cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada símbolo indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

De acordo com Silva et al. (2007), a habilidade de manter altos valores de  $F_v/F_m$  sob condições de estresse promovido por deficiência hídrica indica que a planta mantém a alta eficiência do uso da radiação pela fotoquímica e assimilação de carbono. Ainda, Colom e Vazzana (2003) relataram correlação positiva entre tolerância à seca e altos valores de  $F_v/F_m$  assim como entre susceptibilidade à seca e baixos valores de  $F_v/F_m$ .

Reduções mais severas de  $F_v/F_m$  foram apresentadas por Gonçalves et al. (2010); Santos (2013) e Silva et al. (2014b) esses autores observaram valores  $F_v/F_m$  abaixo de 0,75 em cultivares de cana-de-açúcar suscetíveis à seca, indicando danos ao aparato fotossintético atribuindo-se, ainda, este fato, à menor eficiência do fotossistema II.

## 6.8 Massa de matéria seca

Na análise de variância para matéria seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) a causa de variação cultivar teve efeito significativo somente para MSPA, enquanto o regime hídrico produziu efeito significativo em ambas as partes da planta (Tabela 19).

Tabela 19. Resumo da análise de massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR) em cana-de-açúcar sob efeito de cultivares e regimes hídricos. Botucatu – SP, 2013.

Fonte de variação	Valores de <i>F</i>	
	MSPA (g)	MSR (g)
Cultivar(C)	11.90**	1.44 <sup>ns</sup>
Regime hídrico (Rh)	82.23**	26.63**
C x Rh	0.13 <sup>ns</sup>	3.52 <sup>ns</sup>
CV%	31,66	61.11

G.L.: Graus de liberdade; ns: não significativo; \* significativo (P<0,05); \*\*: significativo (P<0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Tanto a produção de matéria seca da parte aérea como a de raízes são variáveis que permitem inferir sobre a translocação orgânica, facilitando a compreensão do desempenho vegetal em termos de produtividade (BARBOSA, 1991), e a baixa disponibilidade hídrica pode implicar em reduções no acúmulo de matéria seca nessas regiões (SADRAS; MILROY, 1996).

A deficiência hídrica reduziu as massas de matéria seca da parte aérea nas duas cultivares, no entanto foi verificado que na RB867515 houve redução de 46,5% enquanto na RB855453 e redução foi de 60,4% (Figura 10), indicando maior sensibilidade dessa cultivar. Silva (2010), trabalhando com cana-de-açúcar sob déficit hídrico, encontrou reduções de 40% na matéria seca da parte aérea. Já Gonçalves (2008), em experimento semelhante, encontrou reduções de até 52% trabalhando com plantas estressadas pela seca.

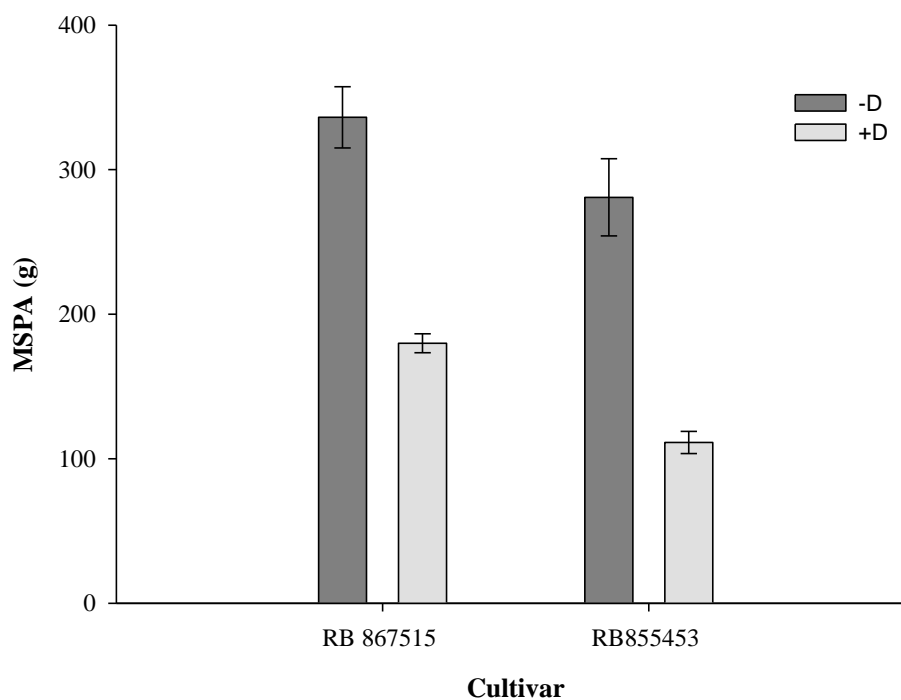


Figura 10. Matéria seca da parte aérea MSPA (g) das cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada barra indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

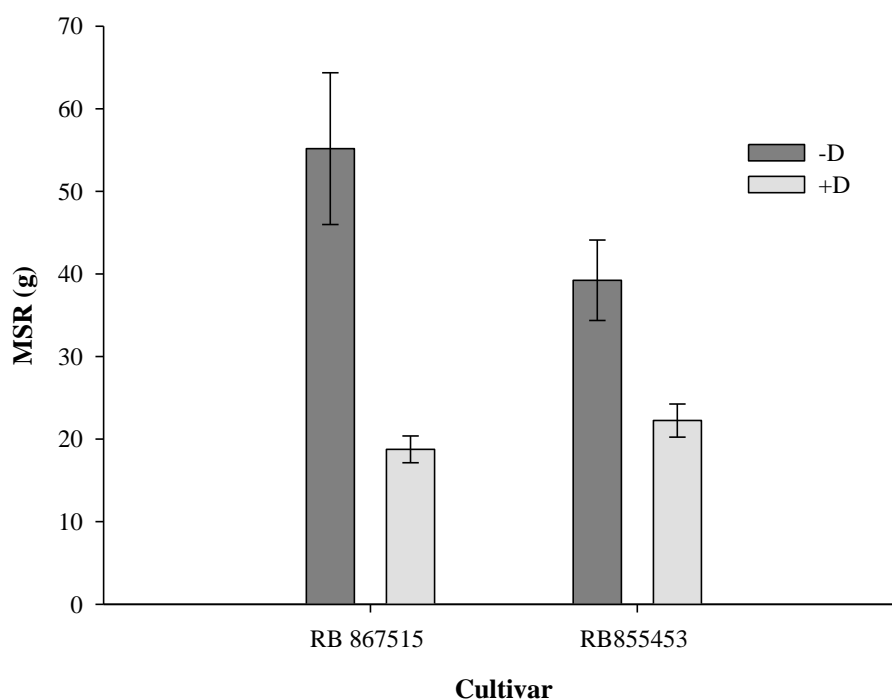


Figura 11. Matéria seca de raiz MSR (g) das cultivares RB867515 e RB 855453 submetida aos regimes hídricos: adequado (-D) e deficiência hídrica (+D). Cada barra indica o valor médio de quatro repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Considerando a massa de matéria seca das raízes, a deficiência hídrica também reduziu a produção de raízes nas duas cultivares. Observa-se que houve redução de 66% na RB867515 e de 43,2% na RB855453 (Figura 11). Nota-se que a primeira, considerada tolerante ao déficit hídrico, apresentou redução mais acentuada na produção de raízes indicando que tal cultivar, provavelmente tenha investido mais no crescimento da parte aérea sob restrição hídrica.

Tal fato é controverso ao relatado pela literatura. Em cana-de-açúcar, as características do sistema radicular influenciam na resposta da planta ao déficit hídrico. Em condições hídricas restritivas, as gramíneas tendem a diminuir o desenvolvimento foliar, priorizando o crescimento radicular (RAMESH, 2000; DIAS-FILHO, 2011). O desenvolvimento de sistemas radiculares mais profundos permite a captação de águas profundas, reduzindo a vulnerabilidade da planta à seca (KULKARNI et al., 2008). Provavelmente, neste trabalho, as raízes das plantas da RB867515 tenham sido limitadas pelo espaço do vaso, levando ao investimento no crescimento da parte aérea sob restrição hídrica.

O menor acúmulo de matéria seca pelas plantas sob deficiência hídrica é consequência do decréscimo do conteúdo total de clorofila na folha, e redução na condutância estomática, o que leva certamente a diminuição da assimilação de CO<sub>2</sub> e redução no acúmulo de biomassa pelas plantas estressadas pela seca.

## 7 CONCLUSÕES

O horário de avaliação, por apresentar características ambientais próprias, tem grande influência nas variáveis fisiológicas avaliadas.

O índice SPAD, conteúdo de clorofila, temperatura e potencial hídrico foliar são ferramentas eficientes em diferenciar cultivares de cana-de-açúcar quanto à sensibilidade à seca entre 10 e 13 h.

As variáveis de trocas gasosas são bons marcadores fisiológicos para diferenciar cultivares de cana-de-açúcar tolerante a deficiência hídrica entre o período de 7 h as 13h.

A cultivar RB855453 possui características fisiológicas de maior susceptibilidade à seca, como aumento da TF, intensa redução de  $g_s$ ,  $A$ ,  $\Psi_w$  ao longo do dia, além de apresentar menor taxa de clorofila e matéria seca. Por outro lado, se comparada a cultivar tolerante (RB867515), apresenta maior eficiência do uso da água e menor transpiração ao longo do dia quando submetida ao déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS

ABDUL JALEEL, C. et al. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.59, n.2, p.150-157, 2007.

AMARANTE, C.V.T et al. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, n.1, p. 39-50, 2010.

ARAÚJO, S.A.C. et al. Características fotossintéticas de genótipos de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum.) em estresse hídrico. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.32, p.1-7, 2010.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B. Revisão, Fotoinibição da Fotossíntese, **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.

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

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

AUDE, M.I.S. Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade. **Ciência Rural**, v. 23, n. 2, p. 241-248, 1993.

BARBOSA, D.C.A. Crescimento de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan (Leguminosae – Mimosoideae), **Phyton**, v. 52, n. 1, p. 51-62, 1991.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.

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

BOYER, J.S. Advances in drought tolerance in plants. **Advances in Agronomy**, v.56, p. 187-218, 1996.



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

BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito do déficit hídrico do solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1053-1060, 1998.

BULLOCK, D.G.; ANDERSON, D.S. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. **Journal of Plant Nutrition**, v.21, n.4, p.741- 755, 1998.

CAIEIRO, J.T. et al. Physical purity and germination of sugarcane seeds (Caryopses) (*Saccharum*spp.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p. 140-145, 2010.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila A**: considerações teóricas e aplicações práticas. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <[http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO\\_CCTA\\_1629\\_1112121492.pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO_CCTA_1629_1112121492.pdf)>. Acesso em: 05 jun. 2014.

CARLIN, S.D.; RHEIN, A.F.L.; SANTOS, D.M. Efeito simultâneo da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo na cultivar IAC91-5155 de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 553-564, 2012.

CARTER, G. A.; MCCAIN D. C. Relationship of leaf spectral reflectance to chloroplast water content determined using NMR microscopy. **Remote Sens. Environ.** V.46, p. 305-310, 1993.

CASTRO, P.R.; KLUGE, R.A. **Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar; seringueira; coqueiro; dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2001. 128 p.

CASTRO, P.R.C. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: **Simpósio Internacional de Fisiologia da Cana-de-Açúcar - STAB**, 2000, 01 CD-ROM.

CHAGAS, R.M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharumofficinarum*L.) tratadas com paraquat**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

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

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar**. Primeiro levantamento, abril de 2014. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014.

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

DAMATTA, F.M.; MAESTRI, M. Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Photosynthetica**, v.34, p. 439-446, 1997.

DAROS, E. et al. Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar. Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar. Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro, Curitiba, 2010, 136p.

DAVIES, W.J.; WILKINSON, S.; LOVEYS, B. Stomatal control by chemical signaling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. **New Phytologist**, v. 153, n. 3, p. 449-460, 2002.

DIAS-FILHO, M.B. Processes, reasons and recovery strategies. 4 Ed. MBDF, Belém, PA, Brazil (in Portuguese), 2011.

DOOREMBOS, J.; KASSAM, A.H. Crop yield response to water. In: **Irrigation and Drainage**, Rome: FAO, n.33, p.193, 1979.

Du, Y.C., et al. Effects of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum* sp.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v.23, p.719–726, 1996.

EMBRAPA. Centro Nacional e Pesquisa em Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação e Solos**. Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa-Solos, 2006. 306 p.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

GARG, A.K. et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. **PNAS**, v. 99, n. 25, p. 15898-15903, 2002.

GASCHO, G.J.; SHIH, S.F. Sugarcane. In: **I.D. Teare and M.M. Peet (eds), Crop Water Relations**, New York, p.445-479, 1983.

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

GIL, P.T. et al. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 611-615, 2002.

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

GONÇALVES, E.R. **Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quarto variedades de cana-de-açúcar submetida à deficiência hídrica**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal)-Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo, 2008.

GRANT L. Diffuse and specular characteristics of leaf reflectance. **Remote Sens. Environ.** v.22, p. 309–322, 1987.

GRUPTA,V.et al. The water-deficit stress- and red-rot-related genes in sugarcane. **Functional Integrative Genomics**, v.10, n.2, p.207-214, 2010.

HABERMANN,G. et al. Leaf heliotropism in *Styrax camporum* Pohl from the Brazilian cerrado – distinct gas exchange and leaf structure, but similar leaf temperature and water relations. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 71-83, 2008.

HENDRY, G. A. F; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Eds.) **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 148-152.

HOEL, B. O.; SOLHAUG, K. A. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Annals of Botany**, v. 82, n. 3, p. 389- 392, 1998.

HOFFMANN, H. P. et al. **Variedades RB de cana-de-açúcar**. Araras: Ed. UFSCAR, 2008. 30 p.

HOLANDA, L.A. **Resposta varietal da cana-de-açúcar à deficiência hídrica, durante o desenvolvimento inicial em um latossolo vermelho distroférico**. 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Irrigação e drenagem)-Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

HSIAO, T.C. Plant Responses to Water Stress. **Annual Review of Plant Physiology**, v.24, n.1, p.519-570, 1973.

IAC. **Boletim Técnico 100**: Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. Campinas, SP. 1996. 285p.

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

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

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

JESUS, S.V.; MARENCO, R.A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazônica**, v.38, n.4, p.815 – 818, 2008.

JONES, H. G. Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as a possible aid to irrigation scheduling. **Agricultural and Forest Meteorology**, n.95, 139–149, 1999.

JONES, H.G. Application of thermal imaging and infrared sensing in plant physiology and ecophysiology. **Adv. Bot. Res**, v.41, p.107–163.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press. 1995. 495 p.

KULKARNI, M; BORSE, T; CHAPHALKAR, S. Minimizing anatomical traits: A novel modeling approach for increased water use efficiency under drought condition in plants. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.44, n.1, p.11-21, 2008

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

LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. Berlin: Springer, 542 p, 2003.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.** v.148, p.331-382, 1987.

LIU, D. L.; KINGSTON, G.; BULL, T.A. A new technique for determining the thermal parameters of phenological development in sugarcane, including sub optimum and supra-optimum temperature regimes. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.90, p.119-139, 1998.

LU, Z. et al. Stomatal conductance predicts yields in irrigated Pima cotton and bread wheat grown at high temperature. **Journal of Experimental Botany**, v.49, p. 453– 460, 1998.

LUCCHESI, A. A. Fatores da produção vegetal. In: Castro, P. R. C.; Ferreira, S. O.; Yamada, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 1-11, 1987.

LUQUET, D. et al. Using multidirectional thermography to characterize water status of cotton. **Remote Sensing of Environment**, n.84, p.411–421, 2003.

MACHADO, E.C. et al. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira ‘Valência’. **Scientia Agricola**, v.59, n.1, p. 53-58, 2009.

MACHADO, R.S. et al. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.12, p.1575-1582, 2002.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MANSFIELD, T. A.; ATKINSON, C. J. **Stomatal behavior in water stressed plants**. Stress response in plants: adaptation and acclimation mechanisms. Wiley-Liss, p. 241– 264, 1990.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2009/2010 a 2019/2020** – Brasília : Mapa/ACS, 2010. 76 p, 2010.

MARENCO, R.A.; GONÇALVES, J.F.C.; VIEIRA, G. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in Central Amazonia. **Tree Physiology**, v.21, n.18, p. 1311-1318, 2001.

MARKWELL, J.; OSTERMAN, J. C.; MITCHELL, J. L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 467-472, 1995.

MARTÍNEZ, D. E.; GUIAMET, J. J. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. **Agronomie**, v. 24, n. 1, p. 41-46, 2004.

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 agrícola**, v. 58, n. 2, p. 295-301, 2001.

MAXWELL C.; JOHNSON, G. M. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668, 2000.

MILLER, J.D.; GILBERT, R.A. **Sugarcane Botany: A Brief View**. University of Florida IFAS extension. <http://edis.ifas.ufl.edu/SC034>. 2009.

MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry and Functional Biology**. Wiley Blackwell, 2014, 683p.

MORGAN, J.M.. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.35, n.1, p.299–319, 1984.

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

NAVES-BARBIERO, C.C. et al. Fluxo de seiva e condutância estomática de duas espécies lenhosas sempre-verdes no campo sujo e cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.2, p.119-134, 2000.

NEPOMUCENO, A.L. et al. Tolerância a seca em plantas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.4, p.12–18, 2001.

NILSEN, E. T.; ORCUTT, D. M. **Physiology of plants under stress: abiotic factors**. New York: John Wiley e Sons, p. 689, 1996.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 500 p.

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

OREN, R.; et al. Survey and synthesis of intra and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. **Plant, Cell and Environment**, v.22, n.12,p.1515-1526, 1999.

PALIWAL, K.; KARUNAICHAMY, K. S. T.K. In-situ estimation of leaf chlorophyll by light transmittance in vegetable crops. **Indian Journal Agricultural Science**, v. 65, n. 5, p. 361-362, 1995.

PARDO, J.; DELGADO, E. O. Efecto del estrés hídrico sobre los pigmentos fotosintéticos en dos variedades de caña de azúcar. **Ciencias de la agricultura**, p. 96-100, 1989.

PASSOS, C.D.; PASSOS, E.E.M.; PRADO, C.H.B.A. Comportamento sazonal do potencial hídrico e das trocas gasosas de quatro variedades de coqueiro-anão. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.2, p.248-254, 2005.

PEREZ, S.C.J.G.A.; MORAES, J.A.P.V. Determinações de potencial hídrico, condutância estomática e potencial osmótico em espécies dos estratos arbóreo, arbustivo e herbáceo de um cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.3, n.1, p.27-37, 1991.

PETERSEN, K. L. et al. Computing transpiration of sunlit and shaded cotton foliage under variable water stress. **Agronomy Journal**, v.84, p.91– 97, 1992.

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

PINCELLI, R. P. ; SILVA, M. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 546-556, 2012.

PINCELLI, R. P. **Tolerância a deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas**. 2010. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

POSPISILOVÁ, J.; SANTRUCEK, J. Stomatal patchiness. **Biologia Plantarum**, v.36, n.4. p.481-510, 1994.

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

RAVEN, *Biologia Vegetal*. p.127-133, 2007.

RIBEIRO, R.V. et al. Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. **Revista Brasileira de Botânica**, v.28, n.1, p.149-161, 2005.

RICHARDSON, A. D.; DUGAN, S. P.; BERLYN, G. P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, v. 153, n. 1, p. 185- 194, 2002.

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: Instituto de Biociência, 1995. 101 p. Apostila.

ROSENFELD, U. **Período crítico de deficiência hídrica para a cana planta em cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum*spp.)**. 1989. 89 p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

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

SANTOS, C.M. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da cana-de-açúcar sob estresses induzidos por deficiência hídrica e paraquat**. 2013. 93 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

SANTOS, M.A.L. **Irrigação suplementar da cana-de-açúcar (*Saccharum*spp.): um modelo de análise de decisão para o Estado de Alagoas**. 2005. 101 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

SAUTER, A.; DAVIES, W. J.; HARTUNG W. The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 52, n. 363, p. 1991-1997, 2001.

SCHLEMMER, M.R. et al. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. **Agronomy Journal**, Madison, v. 97, p. 106-112, 2005.

SEGATO, S. V.; MATTIUZ, C. F. M.; MAZAMBANI, A. E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. : **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. 415 p.



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

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

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

SILVA, M.A. et al. Assessment of chlorophyll and leaf relative water content as indicators of drought tolerance on sugarcane initial growth. **Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.**, v.27, 2010.

SILVA, M.A. et al. Photosynthetic Capacity and Water Use Efficiency in Sugarcane Genotypes Subject to Water Deficit During Early Growth Phase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.56, n.5, p. 735-748, 2013.

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

SILVA, M.A. et al. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. **Journal of Agricultural Science**, v.152, p.104-118, 2014b.

SILVA, M.C.C et al. Índice SPAD em função de diferentes horários e posições no folíolo da batata sob fertilização nitrogenada. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 971-977, 2011.

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

SINGELS, A., SMIT, M.A.; REDSHAW, K.A.; DONALDSON, R.A. The effect of crop start date, crop class and cultivar on sugarcane canopy development and radiation interception. **Field Crops Research**, v.92, p.249-260, 2005.

SINGH, S.; RAO, P.N.G. Varietal differences in growth characteristics in sugarcane. **J. Agri. Sci.**v.108, p.245-247, 1987.

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

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

SWIADER, J. M.; MOORE, A. SPAD-chlorophyll response to nitrogen fertilization and evaluation of nitrogen status in dryland and irrigated pumpkins. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, n. 5, p. 1089-1100, 2002.

TAIZ L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, p.954, 2013.

TAVARES, A. C. S. **Sensibilidade da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) ao excesso de água no solo**. 2009, 220 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

TEIXEIRA, C.; GAETA, S.A. Variação nictemeral da clorofila a, produção primária do fitoplâncton e fatores ambientais da região de Ubatuba (Lat.23°30'5 Long. 45°06'W). **Bolm Insl oceanogr.**, v.39, n.1, p.15-24,1991.

UEHARA, N.; SASAKI, N.; AOKI, N.; OHSUG, R. Effects of the temperature lowered in the daytime and night-time on sugar accumulation in sugarcane. **Plant Production Science**, v.12, n.4, 420-427, 2009.

VON ELBE J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza : Wisconsin - Madison, 2000. Cap.10, p.782-799.

ZARCO-TEJADA, P. J. et al. Leaf Chlorophyll *a+b* and canopy LAI estimation in crops using R-T models and Hyperspectral Reflectance Imagery. In: CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR AGRONOMY, 7., 2002. **Proceedings...** Cordoba, 2002.