

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**QUANTIFICAÇÃO DA TREALOSE E DA PROLINA LIVRE EM
CANA-DE-AÇÚCAR SOB EFEITO DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA
DO SOLO**

Rafaela Josemara Barbosa Queiroz

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**QUANTIFICAÇÃO DA TREALOSE E DA PROLINA LIVRE EM
CANA-DE-AÇÚCAR SOB EFEITO DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA
DO SOLO**

Rafaela Josemara Barbosa Queiroz

Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Agronomia – Área de concentração Produção Vegetal.

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2006

Queiroz, Rafaela Josemara Barbosa
Q3q Quantificação da trealose e da prolina livre em cana-de-açúcar
sob efeito da disponibilidade hídrica do solo / Rafaela Josemara
Barbosa Queiroz. -- Jaboticabal, 2006
xi, 59 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Banca examinadora: Márcia Justino Rossini Mutton, João Atílio
Jorge
Bibliografia

1. *Saccharum* spp 2. Osmoprotetores. 3. Estresse hídrico I. Título.
II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.61

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAFAELA JOSEMARA BARBOSA QUEIROZ - nascida em São Luis, Maranhão, em 19 de novembro de 1980, é Engenheiro Agrônomo, pela Universidade Federal Rural da Amazônia – Belém, PA, título concedido em novembro de 2003. Foi bolsista de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas Instituições: Universidade Federal Rural da Amazônia (PIBIC/CNPq/UFRA), no período de 2000/2001, e Embrapa Amazônia Oriental, em 2002/2003 (PIBIC/CNPq/Embrapa), participando ativamente de projetos nas áreas de Produção Vegetal, Fisiologia de Sementes, Ecofisiologia Vegetal e Fisiologia do Estresse; sendo um de seus trabalhos desenvolvidos, premiado no XII Seminário de Iniciação Científica da FCAP & VI da Embrapa Amazônia Oriental. Em Julho de 2001, foi convidada a participar do Programa Paraense de Tecnologias Apropriadas, projeto este desenvolvido pelo Governo do Estado do Pará, exercendo a função de bolsista de Iniciação Tecnológica Industrial (ITI), vinculado ao Programa de Tecnologias Apropriadas do CNPq (PTA/CNPq), no período de 2001/2002. Foi idealizadora e coordenadora do I Encontro de Integração Acadêmica da Universidade Federal Rural da Amazônia, realizado no segundo semestre de 2003. Em agosto de 2004, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *Campus* de Jaboticabal, obtendo segundo lugar na classificação do processo seletivo, desenvolvendo a pesquisa da dissertação como bolsista do CNPq, entre outros projetos vinculados à área de concentração da Fisiologia do Estresse. Em 2005, foi Professora Voluntária do Cursinho Unificado Popular, onde ministrou aulas de Biologia. Em Junho de 2006 foi aprovada no Curso de Doutorado na mesma área e instituição em que realizou o Mestrado.

Ontem...

(Nilson Chaves e Jamil Damous)

Da minha terra

Te trago da minha terra
O que ela tem de melhor
Um doce de bacuri
Um curió cantador
Trago da minha cidade
Tudo o que lá deixei
Dentro do bolso a saudade
E na mala o que sei

E eu sei tão pouco menina
Desse planeta azul
Sei por exemplo que o norte
Fica pros lados do sul
Sei que o Rio de Janeiro
Deságua em Turiaçú
Sei que você é pra mim
O que o ar é pro urubu

Te trago da minha terra
O que ela tem de melhor
Tigela de açaí
Bumba-meu-boi dançador
Trago da minha cidade
Tudo o que lá deixei
Numa das mãos a vontade
E na outra o que sonhei

E eu sonhei tanto menina
Londres, Estocolmo, Stambul
Sonhei New York, Caracas
Roma, Paris e Seul
Mas hoje o Rio de Janeiro
Ainda é Turiaçú
Só você pra mim já é
Leste, Oeste, Norte, Sul

Hoje

“...Hoje me sinto mais forte,
mais feliz quem sabe
eu só levo a certeza
de que muito pouco eu sei,
ou nada sei...”

(Almir Sater e Renato Teixeira)

Amanhã...

O tempo tem tempo de tempo ser, o
tempo tem tempo de tempo dar,
tempo da noite que vai, correr, o tempo
do dia que vai chegar”

(Paulo André e Ruy Barata)

A DEUS por ser o alimento/alicerce de minha alma e ser, tornando meu coração mais submisso ao amor, para que, durante esta jornada, nos tropeços e quedas, pudesse extrair bons ensinamentos para que eu entendesse que depois do inverno vigoroso, chega a primavera amena.

OFEREÇO

A Minha Amada Mãe, Mara Inêz Mascarenhas Barbosa, pelo exemplo de mulher que é, a quem devo o meu ser, o que sou e onde estou, pois sempre me fez enxergar além... para que eu chegasse onde parecia inalcançável... e que quando eu chegasse lá, visse que ainda poderia ir mais adiante.

Aos meus queridos irmãos Saulo José e Paula Jéssica, a minha Vó Inêz (*in memoriam*), ao meu Pai José Maria, Arlis Sodré, tios, primos e amigos que sempre me instigaram a correr atrás dos meus sonhos e a não esmorecer frente aos obstáculos.

DEDICO

“Aquele que ama a sabedoria, ama a vida... Ela o cumula de alegria, desvenda-lhe seus segredos e enriquece-o com tesouros de ciência, de inteligência e de justiça”

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos**, pela orientação deste trabalho, receptividade, confiança, incentivo e aos seus ensinamentos que para sempre ficarão e contribuirão para minha formação profissional.

Ao **Prof. Dr. Antônio Orlando Di Mauro**, pela cessão da casa de vegetação, peça fundamental para a realização deste trabalho.

À **Profa. Dra. Sônia Marli Zingaretti Di Mauro**, pela disposição em conseguir a casa de vegetação para condução do experimento.

Ao **Prof. Dr. João Atílio Jorge** da FCLRP/USP, a quem denomino carinhosamente de “anjo”, pela receptividade, paciência, disposição em ensinar, e cessão da infra-estrutura do Laboratório de Microbiologia da FCLRP/USP para realização das análises de trealose, além da valiosa contribuição para a minha pesquisa e vida acadêmica.

À estudante de Doutorado da FCLRP/USP **Giovana Cristina Giannesi**, pelo auxílio durante as quantificações de trealose.

Ao **Prof. Dr. José Frederico Centurion**, pela avaliação e interpretação das análises do solo e pelas orientações prévias à montagem do ensaio experimental e discussão dos resultados obtidos.

Ao **pesquisador DSc. Marcelo de Almeida Silva** da APTA/IAC, pela cessão do material botânico utilizado do estudo e sua disposição em sempre contribuir positivamente no trabalho.

Ao **Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta**, pela paciência em responder aos meus questionamentos, minha insaciável busca dos “porquês”, e pela preciosa contribuição de seus ensinamentos e cessão de equipamentos.

Ao **Prof. Dr. David Ariovaldo Banzatto** e ao **Prof. Dr. Antonio Sérgio Ferraudo**, pelo auxílio e interpretação das análises estatísticas.

Ao **Prof. Dr. Luiz Carlos Pavani** e ao **Prof. Dr. Jairo Augusto Campos de Araújo**, pelas orientações prévias à montagem do ensaio experimental.

Aos demais professores da FCAV/Unesp, pela contribuição intelectual e exemplo profissional.

Ao **Pesquisador Ph.D. Moacyr B. Dias-Filho** da Embrapa Amazônia Oriental,, meu querido e eterno orientador, mestre e amigo, a quem sempre disponho para conselhos profissionais e pessoais, responsável pelos meus “despertar” e “aguçar” à pesquisa científico-acadêmica.

Ao **Pesquisador DSc. Eniel David Cruz** e à **Pesquisadora DSc. Walnice Maria Oliveira do Nascimento** da Embrapa Amazônia Oriental, pelo incentivo e ajuda durante a fase de seleção do curso de Pós-Graduação, além da contribuição em minha formação científico-acadêmica.

Ao **pesquisador MSc. José Paulo Chaves da Costa** da Embrapa Amazônia Oriental, pela função de pai que exerceu durante muitos anos em minha vida, dando subsídios para que parte desta conquista fosse realizada.

Aos estudantes de Pós-Graduação da FCAV/Unesp e “irmãozinhos”, **Adão Marin, Juliana Moraes Boldini, Moacir Vinícius Pereira Destro e Samira Domingues Carlin** e ao meu querido “escragiário” **Rodrigo Vezzani Franzé (Bolaxão)**, pela solicitude durante a condução do ensaio experimental e análises, convívio e amizade.

À técnica **Sônia Maria Raymundo Carregari** e, principalmente, ao auxiliar agropecuário **Jamil Aparecido Ferraz** pela ajuda de “peso” dada durante a condução do experimento.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal da FCAV/Unesp, sempre dispostos a deixar a realização das tarefas mais prazerosa e menos maçante.

A **Marcelo Lira Pinheiro**, pelo incentivo, carinho, amizade e amor a mim confiados.

Aos amigos decênios **Maria das Graças Sant’anna Ferreira dos Santos, Poliana Bento Bejo, Carlos Eduardo Freitas Valadão, Milena do Nascimento e**

suas respectivas famílias, pela acolhida durante a fase de seleção para o ingresso no curso de Pós-Graduação, que, apesar da distância, não deixaram esmorecer os laços de amizade.

À minha pequena-grande notável amiga, companheira, confidente, **Andréa Krystina Vinente Guimarães**, por ter me confiado a sua amizade desde a graduação, e estendido a mão em um momento delicado da minha vida.

À **D. Lurdinha**, pela recepção carinhosa e acolhida, durante os primeiros meses de retorno à “Jabuka” e pela minha inclusão em suas orações.

Às minhas queridas irmãs e companheiras da república “Cantinho Farfaruei”, **Natasha Deboni Cereser**, **Vanessa Cristiane Vollet** e **Fernanda Malva Ramos Costa**, pela amizade, incentivo, convivência alegre, paciência mútua, descobertas e apoio nos momentos mais difíceis durante o andamento do mestrado.

À nova geração “Farfaruei”, **Greicy Mitzi Bezerra Moreno** e **Johanna Ramírez Díaz**, pela nova amizade e pelos sorrisos e situações inusitadas, porém divertidas, compartilhadas.

Às amigas **Juliana Regina Rossi**, **Gisele Cristina Dedemo** e aos amigos do “23”, **Elízio Ferreira Frade Junior**, **Ernesto Rinaldi Mouta** e **Roberto Savério Souza Costa**, pela conquista da amizade e proporção de momentos de alegria e descontração.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação pela troca de experiências, ensinamentos e bons momentos compartilhados.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/Unesp), ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Produção Vegetal (PG/PV), pela oportunidade e contribuição em minha formação profissional e ao Laboratório de Fisiologia Vegetal do DBAA/FCAV pelo apoio e uso infra-estrutural de suas dependências para realização desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	x
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Origem e Importância econômica da cultura da cana-de-açúcar	03
2.2. A cultura da cana-de-açúcar	04
2.2.1. Cultivares utilizadas no estudo: IAC91-2195 e IAC91-5155.....	06
2.3. Disponibilidade hídrica do solo versus produtividade da cana-de-açúcar	07
2.4. Mecanismos de tolerância ao estresse hídrico.....	08
2.4.1. Ajustamento osmótico: acúmulo de trealose e prolina livre.....	09
2.4.1.1. Trealose	10
2.4.1.2. Prolina livre.....	13
2.4.2. Crescimento vegetal e estresse hídrico.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Instalação e condução experimental	17
3.2. Coleta e preparo das amostras	20
3.3. Avaliações bioquímico-fisiológicas	21
3.3.1. Trealose	21
3.3.2. Prolina livre.....	22
3.4. Avaliações fisiológicas biométricas	23
3.5. Tratamento estatístico	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5. CONCLUSÕES	47
6. REFERÊNCIAS.....	48

QUANTIFICAÇÃO DA TREALOSE E DA PROLINA LIVRE EM CANA-DE-AÇÚCAR SOB EFEITO DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA DO SOLO

RESUMO – No presente estudo, verificou-se o acúmulo da trealose e da prolina livre e o crescimento inicial de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sensível e tolerante ao estresse hídrico, respectivamente. Inicialmente, as mudas foram cultivadas sem qualquer restrição hídrica. Após 40 dias, foram transferidas para vasos com três níveis de disponibilidade hídrica do solo (DHS): 55% (sem estresse), 40% (estresse moderado) e 25% (estresse severo), mantidos pelo método das pesagens durante 30 e 60 dias. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, em arranjo fatorial 2x3x2 (cultivares x deficiência hídrica x épocas de crescimento). O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada (29°C e 75% UR). A cultivar IAC91-5155 apresentou maior acúmulo de trealose e de prolina livre nos menores níveis de disponibilidade hídrica do solo, indicando tolerância às condições de estresse hídrico. Aos 30 dias, sob estresse hídrico, houve maior acúmulo de prolina livre apenas na cv. IAC91-5155. Os osmoprotetores, trealose e prolina livre, podem ser indicados como marcadores bioquímico-fisiológicos de tolerância ao estresse hídrico somente para a cv. IAC91-5155. A cv. IAC91-5155 pode ser considerada mais tolerante ao estresse hídrico que a cv. IAC91-2195.

Palavras-Chave: osmoprotetores, *Saccharum* spp, Poaceae, estresse hídrico, crescimento inicial

QUANTIFICATION OF TREHALOSE AND FREE PROLINE IN SUGARCANE UNDER SOIL WATER DEFICITS

SUMMARY – In this work, the accumulation of trehalose and free proline and the initial growth were measured in two sugarcane cultivars, IAC91-2591 and IAC91-5155, sensitive and stress tolerant, respectively. Buds, after 40 days old cultivated in soil with no water restriction when were transferred to pots and submitted to three soil water levels: 55% (no stress), 40% (moderate stress) and 25% (severe stress). The experiment was carried out in greenhouse (29°C and 75% RH). The Weighing Method was used to control the soil water levels for 30 and 60 days. The experimental design was randomized blocks with four replicates in 2x3x2 factorial arrangement (cultivars, water deficit and periods of growth). The cultivar IAC91-5155 showed higher accumulation of the trehalose and free proline under water deficiency. The accumulation of the proline was higher in IAC91-5155 cultivar at 30 days under soil water levels. Trehalose and free proline could only be considered as biochemical-physiological markers to soil water deficits in cultivar IAC91-5155. The cultivar IAC91-5155 may be more tolerant to water stress than IAC91-2195.

Keywords: osmoprotectors, *Saccharum* spp, Poaceae, water stress, initial growth

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) é uma das principais e mais antigas culturas agrícolas do Brasil e, atualmente, ocupa o topo do ranking mundial na produção de açúcar e álcool. Também, fornece subprodutos de grande interesse econômico como o bagaço de cana, utilizado como fonte de energia e celulose e a vinhaça muito usada como fertilizante e na nutrição animal.

Como qualquer outro cultivo agrícola, a cana-de-açúcar tem sua produção diretamente influenciada pelos estresses ambientais (MAULE et al., 2001). O aumento do aquecimento global tem ocasionado a ampliação dos períodos de seca, influenciando de forma direta na disponibilidade de água do solo em canaviais, reduzindo, significativamente, os rendimentos destas áreas (TERAMOTO, 2003). Como as regiões produtoras estão alocadas em locais com diferentes variações climáticas (Norte-Nordeste e Centro-Sul), a cana-de-açúcar é cultivada em diferentes tipos de solo, sob influência de diversos fatores abióticos peculiares a cada região, ocasionando, com isso, diferenças na produtividade vegetal. Assim, o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas às condições distintas de manejo e para locais específicos de cultivo, é de suma importância na manutenção dos índices de produção e rendimento da lavoura.

A cana-de-açúcar vem se destacando produtivamente e ampliando suas fronteiras agrícolas através do uso de cultivares mais adaptadas às distintas regiões de produção, lançadas por centros de pesquisas e estações experimentais. Entretanto, as seleções de genótipos geralmente são realizadas por meio de técnicas do melhoramento genético clássico, baseadas em observações de campo.

A demanda por cultivares mais tolerantes a períodos mais severos e mesmo prolongados de seca tem provocando na comunidade científica relevante interesse na investigação dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos, utilizados pelas plantas em resposta ao estresse hídrico (BARTELS & SUNKAR, 2005). Algumas plantas com maior desenvolvimento do sistema radicular com conseqüente aumento de pêlos absorventes, acúmulo de osmoprotetores que provocam o ajustamento osmótico celular, auxiliam às

plantas a tolerar maior severidade de deficiência hídrica no solo. Neste caso, o ajustamento osmótico constitui-se um importante mecanismo de tolerância à seca, pois capacita a planta a continuar a expansão celular, favorecendo o crescimento vegetal (BARTELS & SUNKAR, 2005). Estes compostos atuam como osmoprotetores (solutos compatíveis) e, em alguns casos, como estabilizadores, entre os quais destaca-se o dissacarídeo trealose e o aminoácido prolina.

O acúmulo de trealose e prolina livre nos tecidos vegetais é descrito em muitos estudos como um mecanismo de osmoproteção ou osmoregulação de genótipos tolerantes à seca.

Devido a carência de estudos, na literatura pertinente, sobre o ajustamento osmótico em cana-de-açúcar sob estresse hídrico, através do acúmulo de trealose e prolina livre, este estudo teve como objetivos: a) quantificar os teores de trealose e prolina livre em cana-de-açúcar, cv. IAC91-2195 e cv. IAC91-5155, b) identificar a cultivar mais tolerante à seca, utilizando estes osmoprotetores como marcadores bioquímico-fisiológicos da carência hídrica no solo; c) verificar se existem alterações no acúmulo de trealose e/ou prolina livre no crescimento inicial da cana-de-açúcar, especificamente, em duas épocas de crescimento, 30 e 60 dias; d) verificar a produtividade de ambas cultivares, através de avaliações biométricas do crescimento sob diferentes níveis de estresse hídrico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem e importância econômica da cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar tem origem asiática, presumidamente, nas regiões de Nova Guiné e Indonésia, Sudeste Asiático (DANIELS & ROACH, 1987). Em território brasileiro, a cana-de-açúcar passou a ser cultivada a partir de 1522 em São Vicente. Posteriormente, a cultura foi introduzida em Pernambuco, expandindo-se para outras regiões. Nesta época já se atingia importantes índices de exportação do produto, desempenhando notória função na evolução histórica do Brasil sob o aspecto infra-estrutural e sócioeconômico (BASTOS, 1987). Desde os tempos do Brasil Colônia a cultura vem se destacando no setor agrícola, devido à condição climática tropical do país ser favorável à formação de grandes latifúndios monocultores, que se conservaram nos séculos XVI e XVII, consolidando a colonização brasileira e sustentando a economia do país. No século XIX e início do XX, o cultivo da cana-de-açúcar perdeu importância no cenário econômico do país, com o fortalecimento da cultura do café e também devido à concorrência do açúcar produzido pelo mercado externo (MARQUES et al., 2001; UNICA, 2004). A partir da década de 20, o país começou a utilizar o álcool como combustível em automóveis, sendo precursor e difusor desta finalidade. Com a criação do Proálcool, em meados da década de 70, houve incentivo governamental à produção de álcool combustível devido à crise do petróleo. Apesar da mitigação destes incentivos durante os anos 90, a produção de etanol se manteve, pois o álcool etílico anidro carburante passou a ser misturado à gasolina, proporcionando aumento gradativo da produção deste produto, compensando a queda no consumo de álcool hidratado. Os avanços tecnológicos continuaram e o Brasil detém, hoje, a supremacia na geração e difusão de tecnologias da cadeia açúcar/álcool de cana-de-açúcar (NEGRÃO & URBAN, 2005).

Atualmente, a cana-de-açúcar é uma das mais importantes culturas agrícolas do país e do mundo, pois é uma das melhores opções de fonte de energia renovável

(MAULE et al., 2001), sendo o Brasil o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, e dos derivados, açúcar e álcool, onde pouco mais de um terço da cana cultivada no mundo está em solo brasileiro (CANAOSTE, 2006). Em menos de 1% das áreas agricultáveis do Brasil são cultivados cerca de 5 milhões de hectares da cultura (AGRIBUS, 2005), equivalendo a 19% da área do Reino Unido, 8% da França e no Brasil correspondendo a duas vezes a área do Estado do Piauí (UNICA, 2004).

O setor sucroalcooleiro resulta ao país cerca de 10 bilhões de dólares por ano e um milhão de empregos diretos (RODRIGUES, 2004). Além dos benefícios sócio-econômicos, existe a importância ambiental, pois o setor é um dos pioneiros ao associar suas atividades ao Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) para reduzir as emissões de gases de efeito estufa na atmosfera (PINAZZA & ALIMANDRO, 2003). Ressalta-se que o “sistema cana”, seqüestra 20% de todas as emissões de CO₂ do setor petroleiro, e derivados do Brasil (NEGRÃO & URBAN, 2005).

O mercado externo tem aumentado seu interesse em produtos e subprodutos oriundos da cana-de-açúcar (PINAZZA & ALIMANDRO, 2003). Os canaviais podem crescer em até 800 mil hectares em sete anos, caso o mercado seja ampliado (AGRIBUS, 2003). Os preços do açúcar no mercado internacional em 2000 e 2001 foram suficientes para o crescimento da área plantada em 138 mil hectares (de 4,59 milhões de ha para 4,728 milhões de ha), saltando nos anos de 2002 e 2003 para 4,96 milhões de hectares, com produção de 326,75 milhões de toneladas. Para a safra de 2003/2004 a área ultrapassou 5 milhões de hectares com uma produção estimada de 356,85 milhões de toneladas de cana-de-açúcar (AGRIBUS, 2003). Na safra 2005/2006, foi estimada produção máxima de 397 milhões de toneladas, com aumento, aproximado, de 6% comparado com a de 2004/2005 que apresentou 386,22 milhões de toneladas (REVISTA ALCOOLBRAS, 2005a).

As regiões produtoras de cana-de-açúcar estão distribuídas nas regiões do Centro-Sul e Norte-Nordeste, o que permite dois períodos de safras (MAULE et al., 2001). No entanto, a maior área de cultivo se concentra na região sudeste, onde São Paulo se destaca como maior produtor, detendo, aproximadamente, 60% de toda produção brasileira. Estima-se que o Centro-Sul foi responsável por 71% de toda a

produção de cana-de-açúcar na safra 2005/2006 (UNICA, 2006). A área plantada com cana-de-açúcar cresceu 72,9% em 86 municípios das regiões Centro, Norte e Nordeste de São Paulo, e aumentou de 10,58 mil para 18,29 mil quadrados no período de 15 anos (1988 a 2003). A cana-de-açúcar já ocupa 3,45 milhões dos 18 milhões de hectares que o Estado possui de área agricultável (REVISTA ALCOOLBRAS, 2005b).

2.2. A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar pertence a uma das maiores famílias de angiospermas, a Poaceae, a qual inclui espécies importantes na alimentação humana (SOUZA et al., 2005). A principal espécie cultivada era a *Saccharum officinarum* L., mas os genótipos desta espécie passaram a ter problemas de adaptação ecológica e susceptibilidade a pragas agrícolas, provocando severos danos à produtividade agrícola (TERAMOTO, 2003). Dessa forma, muitos centros de pesquisa e ensino lançaram híbridos, através de programas de melhoramento genético, mais resistentes às fitossanidades e mais adaptados às diversas condições ambientais, favorecendo a expansão da cultura pelo Brasil e o mundo (MATSUOKA et al., 1999).

Atualmente, os plantios comerciais (MATSUOKA et al., 1999) são formados a partir do uso de híbridos provenientes de cruzamento interespecífico de espécies do gênero *Saccharum* (*S. officinarum*, *S. sinensi*, *S. barberi*, *S. spontaneum*, *S. robustum*). As cultivares lançadas por programas de melhoramento genético são originadas de cruzamentos entre diversos híbridos oriundos de coleções de banco de germoplasma das instituições de pesquisa. A seleção é realizada através de vários ensaios de competição e desempenho destes materiais genéticos (LANDELL, 2003).

A cana-de-açúcar por ser uma cultura semiperene, sofre influência das variações climáticas durante o ano inteiro, o que pode interferir na produção, maturação e qualidade da cultura. Para manter índices de produção satisfatórios, esta cultura necessita de um período quente e úmido, com intensa radiação solar durante o estágio vegetativo, seguido de um período seco durante a fase de maturação e colheita (ALFONSI et al., 1987).

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

Os fatores ambientais que mais influenciam na produtividade da cultura são: quantidade de água disponível no solo, luminosidade e temperatura. Para a cana-de-açúcar, a disponibilidade de água no solo é importante no estágio vegetativo para estabelecimento da cultura (RAMESH, 2000). A luminosidade (intensidade e qualidade) exerce influência no crescimento vegetativo e na maturação, pois estabelece correlação direta com a síntese, translocação e acúmulo de carboidratos das folhas para o colmo (MARQUES et al., 2001). É uma cultura adaptada plenamente a climas tropicais, quente e úmido, com temperatura entre 19°C a 32°C (MARQUES et al., 2001). Entretanto, para FAUCONIER & BASSEREAU (1975), o crescimento da cana-de-açúcar é ótimo no intervalo de temperatura entre 30°C e 34°C, lento abaixo de 25°C e acima de 35°C, sendo praticamente nulo acima de 38°C. Os atributos edáficos satisfatórios às exigências da cana-de-açúcar são: solos arejados, profundos, boa fertilidade e pH variando de 5,0 a 6,5 (RAIJ et al., 1997, MARQUES et al., 2001).

No Brasil, a cana-de-açúcar tem sido cultivada em escala comercial em todas as regiões, resultando numa extrema diversidade de unidades edafoclimáticas (AGRIANUAL, 2005), ocasionado variabilidade na adaptação dos cultivares nas diversas regiões de cultivo de cana-de-açúcar.

2.2.1. Cultivares utilizadas no estudo: IAC91-2195 e IAC91-5155

A cultivar IAC91-2195 (RB785148 x ?) destaca-se por apresentar precocidade, boa produtividade em cana-planta e socas, e baixo índice de queda de produtividade ao longo dos cortes, conferindo uma expectativa favorável longevidade aos canaviais quando colhidos no outono (início de safra). Apresenta alto teor de sacarose, maturação precoce, baixo teor de fibra, adequada para colheita nos meses de abril a julho. Baixo

índice de queda de produtividade, conferindo favorável longevidade ao canavial. As principais regiões de adaptação são: Ribeirão Preto, Jaú, Piracicaba, Mococa e Pindorama, enquanto que nas condições climáticas dos Estados de Goiás e Minas Gerais apresentaram baixo desempenho produtivo (LANDELL et al., 2004). Esta cultivar possui média exigência em fertilidade do solo, é resistente à ferrugem, à escaldadura, ao carvão e, moderadamente, à broca.

A cultivar IAC91-5155 (SP80-3212 x ?) foi selecionada na região de Pindorama (Nordeste paulista), onde predominam solos caracterizados como argissolos. Destaca-se pela rusticidade, alta produtividade de soqueira e rápido crescimento inicial. O período de utilidade industrial (PUI) é longo. É adaptada a ambientes menos favoráveis. Apresenta alta tolerância à seca, bem como a solos de menor fertilidade, sendo indicada como uma boa opção para tais regiões de produção. Boa produção na cana-planta e alta nas soqueiras, alto teor de sacarose, teor baixo de fibra. Adequada para colheita no período compreendido entre maio a outubro. Quanto aos aspectos fitossanitários, é sensível à ferrugem, resistente ao carvão e à escaldadura e boa resistência à broca (LANDELL et al., 2004).

2.3. Disponibilidade hídrica do solo e a produtividade da cana-de-açúcar

O crescimento populacional aliado à contínua degradação de áreas agricultáveis, escassez de água e mudanças climáticas ameaçam a produção agrícola mundial (GARG et al., 2002a). A seca é um dos fatores abióticos que mais determinam a produtividade e distribuição de um vegetal, e tem influência negativa em mais de 10 % das áreas agrícolas do globo terrestre (BARTELS & SUNKAR, 2005), principalmente em lavouras de espécies economicamente importantes como arroz, milho, trigo, cana-de-açúcar, que são a base da alimentação humana (GARG et al., 2002b).

Embora sendo uma planta de metabolismo fotossintético C4, a qual minimiza a transpiração (utiliza mais eficientemente a água) para maximizar a fotossíntese, a demanda por água é elevada durante o estágio vegetativo, de crescimento vigoroso, de

expansão celular, sendo necessárias 250 partes de água para formar uma parte de massa seca de cana-de-açúcar (DILLEWIJN, 1952).

Os problemas suscitados pela diminuição da disponibilidade hídrica do solo são comuns nos canaviais (MAULE et al., 2001; TERAMOTO, 2003). Estudando-se a resposta da cana-de-açúcar à seca em diferentes épocas de crescimento da cultura, verificou-se que no estágio vegetativo é manifestada maior sensibilidade a esta condição, influenciando negativamente a fase de maturação (RAMESH, 2000).

Nas regiões produtoras de cana-de-açúcar brasileiras, observa-se, nos últimos anos, a redução nas quantidades de chuva, aumentando a frequência de “veranicos” (DIAS, 1999), o que influenciou negativamente na safra de 2005/2006 determinando quebras de produção em todas as regiões produtoras do Brasil (REVISTA ALCOOLBRAS, 2005b). A produção nacional de cana-de-açúcar na safra 2005/2006 alcançará máxima de 397 milhões de toneladas, isto é, diminuição de 1,81% na previsão que era de 404,3 milhões de toneladas (REVISTA ALCOOLBRAS, 2005b). Na região Centro-Sul, apesar da seca, houve um aumento de 6% da produção no ano-safra de 2005/2006, menor que a estimada pelo setor. Quanto ao segmento sucroalcooleiro nordestino, estima-se que a produção alcançará cerca de 48 milhões de toneladas, 15,7% menos que o ano-safra de 2004/2005 (PAES, 2006). Estes “veranicos” trazem maiores prejuízos quando ocorrem no estágio de desenvolvimento vegetativo da planta, período de maior necessidade de água (DIAS, 1999).

2.4. Mecanismos de tolerância ao estresse hídrico

O estresse desempenha importante função na determinação de como o solo e o clima limitam a distribuição de espécies vegetais. O estresse é medido em relação à sobrevivência da planta, produtividade agrícola, crescimento (acúmulo de massa seca), processo primário de assimilação (absorção de CO₂ e de minerais), que estão relacionados ao crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Dentre os mecanismos de tolerância ao estresse hídrico, variações das respostas fisiológicas, bioquímicas, bem como estratégias de crescimento têm sido

comparadas e discutidas em relação a características de tolerância de plantas à deficiência hídrica no solo (GRIFFITHS & PARRY, 2002; STRECK, 2004; BARTELS & SUNKAR, 2005). O grau de tolerância de uma espécie ou cultivar pode ser determinado através da capacidade de acumular solutos compatíveis e eficiência com que essa planta altera os padrões crescimento e de alocação de massa seca (BARTELS & SUNKAR, 2005).

O estudo de cultivares de cana-de-açúcar em condições de estresse hídrico já foi descrito em alguns trabalhos (BRINHOLI, 1975; RÍNCONES, 1997; BIDOIA et al., 2006) e foram verificadas diferenças quanto ao grau de tolerância à seca em cultivares. Estas diferenças dependem da severidade e da duração do estresse, do genótipo, do estágio vegetativo e da natureza do estresse (BRAY et al., 2001; NEPOMUCENO et al., 2001). Assim, tornam-se necessários estudos sobre a interação e sobreposição de mecanismos de tolerância, tanto do ponto de vista fisiológico quanto bioquímico, para a identificação e a caracterização de genótipos tolerantes à seca (DURÃES et al., 2004b). A elucidação destes mecanismos facilitará, por certo, o processo de desenvolvimento de novos materiais genéticos, além de contribuir para o desenvolvimento de técnicas de seleção que podem reduzir o tempo e o trabalho para avaliação de fontes genéticas de tolerância a estresses abióticos de seca (DURÃES et al., 2004b).

2.4.1. Ajustamento osmótico: acúmulo de trealose e prolina livre

A habilidade de algumas espécies ou genótipos de ajustar osmoticamente suas células em condições de estresse hídrico é uma resposta bioquímica-fisiológica que indica a capacidade destes organismos em aumentar a tolerância a períodos curtos de seca (NEPOMUCENO, et al., 2001).

A capacidade de acúmulo de solutos compatíveis é uma resposta comum em organismos sob condições adversas, e vem sendo investigada, nos últimos anos, em plantas (EI-BASHITI et al., 2005; HONGBO et al., 2006). Os vegetais superiores em condições de seca acumulam açúcares, prolina livre, ácidos orgânicos, íons, entre outros solutos (BARTELS & SUNKAR, 2005). Estes solutos compatíveis são moléculas

ou íons atóxicos que não interferem no metabolismo e se acumulam predominantemente no citoplasma, onde têm função de manter a turgescência celular, além de estabilizar proteínas e estruturas celulares nas condições subótimas dos fatores ambientais (BRAY et al., 2001; BARTELS & SUNKAR, 2005).

Muitos trabalhos evidenciam que o acúmulo da trealose e da prolina livre constitui-se em um critério para estudos de tolerância à seca, sendo estes osmoprotetores utilizados como indicadores bioquímico-fisiológicos de estresse hídrico (GARG et al., 2002a; GARG et al., 2002b; EI-BASHITI et al., 2005; YAMADA et al., 2005; BIDOIA et al., 2006; HONGBO et al., 2006; MARIN et al., 2006).

2.4.1.1. Trealose

A trealose dissacarídeo não redutor, solúvel, é composto de duas moléculas de glicose (α -D-glicopiranosil-[1,1]- α -D-glicopiranosídeo). Este carboidrato é isômero químico de outros dois dissacarídeos amplamente encontrados em plantas, a sacarose (α -D-glicose-[1,2]- β -D-frutose) e a maltose (α -D-glicose-[1,4]- α -D-glicose). Eles têm a mesma fórmula química ($C_{12}H_{22}O_{11}$), entretanto, diferentes estruturas (PATIST & ZOERB, 2005). Além destes isômeros, existem três outros isômeros do dissacarídeo trealose: α,α -trealose, α,β -trealose e β,β -trealose. Destes, apenas o α,α -trealose é encontrado endogenamente em plantas (EI-BASHITI et al., 2005). Apesar da biossíntese deste composto ser similar ao da sacarose, evolutivamente, a origem da trealose é mais antiga, devido à sua presença em todos os reinos (GODDIJN & DUN, 1999). A rota metabólica (Figura 1) foi descoberta em fungos por CABIB & LELOIR (1958), sendo, posteriormente, verificada a semelhança à biossíntese e ao catabolismo em vegetais (GODDIJN & DUN, 1999; MÜLLER et al., 1999). A trealose tem origem das moléculas de UDP-glicose e glicose-6-fosfato que envolvem a transferência do resíduo D-glicose do nucleotídeo UDP-glicose para glicose-6-fosfato, acoplando-as através da enzima trealose-6-fosfato sintase (TPS) [EC 2.4.1.15], resultando a molécula trealose-6-fosfato, a qual é desfosforilada em trealose através da enzima trealose-6-fosfato fosfatase (TPP) [EC 3.1.3.12] (CABIB & LELOIR, 1958). A trealose é catabolisada nos

vegetais através da enzima trealase [EC 3.2.1.28] que hidrolisa a ligação glicosídica $\alpha(1-1)$ produzindo duas moléculas de glicose (GODDIJN & DUN, 1999).

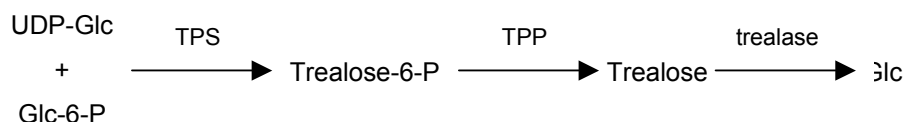


Figura 1. Biossíntese e degradação da trealose (CABIB & LELOIR, 1958).

Para explicar as propriedades protetoras da molécula de trealose, há modelos que elucidam o efeito de proteção da trealose na membrana da célula durante os processos de desidratação-hidratação. O modelo mais aceito é o proposto por CROWE et al. (1984), pelo qual a trealose interage com os grupos polares dos fosfolipídios na membrana celular. A trealose substitui a água perdida em condições de estresse hídrico, ligando-se às extremidades polares dos fosfolipídios. Com a ligação da trealose à membrana, não ocorre alteração do espaçamento entre os fosfolipídios, evitando assim as separações laterais dos componentes da membrana que interferem negativamente no complexo mosaico fluido. Com a substituição das moléculas de água pela trealose não há passagem da fase fluida para a fase gel da membrana, mantendo-se a integridade e a fluidez da membrana, e assim, a viabilidade celular (WINGLER, 2002; PATIST & ZOERB, 2005). Além disso, a trealose apresenta estabilidade à elevadas temperaturas e baixo pH (WINGLER, 2002).

Nos vegetais a trealose foi, primeiramente, quantificada na pteridófito *Selaginella lepdophylla* e, subseqüentemente, foi constatada a ocorrência em outros vegetais inferiores, onde os teores deste dissacarídeo aumentaram cerca de 20%, possibilitando a proteção das estruturas celulares e componentes de desnaturação (GODDIJN & SMEEKENS, 1998).

Em vegetais superiores, alguns estudos têm elucidado o acúmulo de trealose, embora em alguns casos, as técnicas utilizadas para a identificação deste osmoprotetor perdem em seletividade, impossibilitando a detecção da trealose ou, às vezes, a presença deste dissacarídeo é mascarada devido à contaminação microbiológica

(WINGLER, 2002). Para maioria das plantas é evidente que as quantidades de trealose acumuladas não são facilmente detectáveis, por serem valores bem inferiores comparados aos encontrados em fungos, que possuem biossíntese semelhante (NEVES et al., 1994). Por exemplo, a maior quantidade de trealose encontrada em vegetais ocorreu na espécie *S. lepdophylla*, que apresentou 10 mg g^{-1} de massa fresca (GARG et al., 2002b). A trealose também foi detectada em plantas de ecossistema de deserto, evidenciando altos níveis deste carboidrato em algumas espécies da família Poaceae, indicando-a como atributo à aquisição de tolerância à dessecação (ITURRIAGA et al., 2000).

Em várias plantas de interesse econômico, detectou-se acúmulo de trealose em condições de estresse hídrico. Verificou-se em arroz, milho, trigo, sorgo, *Arabidopsis*, fumo e cana-de-açúcar, que as quantidades de trealose diferiram entre as espécies quando submetidas à seca, tendo a cana-de-açúcar a maior quantidade acumulada, aproximadamente $0,15 \text{ mg g}^{-1}$ de massa fresca (GARG et al., 2002a). Neste estudo, foi evidenciado que a trealose pode ser utilizada como indicador bioquímico de estresse hídrico em cana-de-açúcar. Em cultivares de trigo, em condições de estresses abióticos, foi verificado o acúmulo de trealose tanto em tecidos foliares quanto radiculares, sendo o incremento deste dissacarídeo significativo em condições de seca e distinto entre as cultivares (EI-BASHITI et al., 2005).

A determinação da trealose foi realizada por muitos anos através de meios colorimétricos, particularmente, o procedimento baseado na reação antrona, entretanto, este método é sujeito a interferentes, os quais poderiam reagir com a antrona, produzindo resultados sem confiabilidade e pouco precisos (FERREIRA et al., 1997). Nos últimos anos, alguns grupos de pesquisadores têm descritos novos métodos para determinação da trealose por meios hidrolíticos mais específicos, através da utilização de diferentes preparações da enzima trealase e subsequente determinação da glicose formada pela reação glicose oxidase-peroxidase (NEVES et al., 1994; FERREIRA et al., 1997; ITURRIAGA et al., 2000).

Os métodos cromatográficos baseados no HPLC ("High Performance Liquid Chromatography") têm sido aplicados, também, para quantificação da trealose

(FERREIRA et al., 1997). O HPLC é o mais utilizado para quantificação da trealose em plantas (GARG et al., 2002a; El-BASHITI et al., 2005), apesar de ser de custo relativamente elevado e da difícil manipulação, a escolha do HPLC seja, talvez, devido ao fato de existir nas plantas quantidades diminutas de trealose, sendo necessária uma maior sensibilidade do método. Dessa forma, é necessário que se testem métodos alternativos que utilizem equipamentos facilmente encontrados em laboratórios, sem comprometer a confiabilidade dos resultados.

2.4.1.2. Prolina livre

A prolina livre é classificada como um “ α – iminoácido”, pois seu grupo amino está ligado a dois átomos de carbono, conferindo características de neutralidade à molécula. O acúmulo deste aminoácido pode ocorrer por duas vias paralelas nas plantas, uma direta e outra via ornitina (KAVI KISHOR et al., 2005). A principal diferença entre as duas vias está na acetilação dos intermediários em uma delas. Pela via direta (dependente de glutamato), após a formação do glutamato semi-aldeído, a molécula se transforma em uma estrutura cíclica (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato), precursor da prolina. A estrutura cíclica é formada pela reação intra-molecular (não-enzimática) dos grupos aminos e aldeído do glutamato-semi-aldeído. Na via dos derivados acetilados (dependente de ornitina), a presença dos grupos acetil ligado ao grupo 2-amino impede essa reação interna, e uma estrutura aberta, a ornitina, é formada. A ornitina pode ainda levar à formação da estrutura cíclica da prolina, após perda do grupo amino por transaminação (SODEK, 2004). Embora as duas vias de biossíntese de prolina livre sejam igualmente importantes em condições normais, existem evidências que favorecem a via direta do glutamato (sem acetilação) em condições de estresse hídrico (SODEK, 2004; BARTELS & SUNKAR, 2005; YAMADA et al., 2005).

Em condições de estresse, o metabolismo de aminoácidos é amplamente alterado, sendo a síntese de proteínas diminuída e a proteólise aumentada (SODEK, 2004). Como uma consequência disto, ocorre a indução da biossíntese de prolina promovida pelo incremento de metabólicos como poliaminas, amônia, arginina, ornitina,

glutamina, glutamato (SILVEIRA et al., 2002). Várias funções são propostas a este acúmulo: ajustamento osmótico, reserva de carbono e nitrogênio utilizada no crescimento para restabelecimento após estresse, desintoxicação do excesso de amônia, estabilizador de proteínas e membranas e eliminadores de radicais livres (SILVEIRA et al., 2002; KAVI KISHOR et al., 2005). Adicionalmente, existem evidências de que a biossíntese desse aminoácido poderia estar também associada à regulação do pH citosólico ou mediação do incremento da razão $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, influenciando o fluxo de carbono devido à via oxidativa da pentose fosfato (SILVEIRA et al., 2002; KAVI KISHOR et al., 2005). Além disso, pode atuar como fonte acessível de energia, onde uma única molécula oxidada é capaz de produzir 30 ATP (KAVI KISHOR et al., 2005).

O acúmulo de prolina livre em condições de estresse tem sido estudado por mais de 45 anos (KAVI KISHOR et al., 2005). Dentre os solutos compatíveis, a prolina é aquele que é mais pesquisado nas respostas de vegetais superiores a estresses abióticos (MALINOWSKI & BELESKY, 2000; NEPOMUCENO et al., 2001; KAVI KISHOR et al., 2005). Em muitos trabalhos, têm sido relatada a correlação do incremento de prolina livre na caracterização de genótipos tolerantes à seca (FUMIS & PEDRAS, 2002; YAMADA et al., 2005; HONGBO et al., 2006). Nos estudos de genótipos de cana-de-açúcar em diferentes níveis de disponibilidade hídrica do solo, verifica-se maiores quantidades deste osmólito em cultivares mais tolerantes sob os menores níveis de água no solo (RÍNCONES, 1997; BIDOIA et al., 2006).

2.4.2. Crescimento vegetal e estresse hídrico

As plantas sob condições adversas alteram seu crescimento e padrões de alocação de massa seca. A habilidade do vegetal em se desenvolver em ambiente com restrição hídrica no solo pode ser determinada através da eficiência com que a planta ajusta o seu comportamento bioquímico e fisiológico, visando a maximizar a aquisição de carbono (LARCHER, 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004). A avaliação das alterações do crescimento tem grande aceitação na investigação das respostas fisiológicas de cultivos agrícolas em condições de estresse hídrico (BORRELL et al., 2000a,b; RAMESH, 2000;

BARBOSA, 2005). Alguns autores consideram este tipo de avaliação como “método-padrão” para mensurar a produtividade biológica de uma cultura, permitindo o estudo de diferentes genótipos em distintos ambientes de produção (RAMESH, 2000; OLIVEIRA et al., 2005).

O crescimento resulta da interação de processos como expansão e alongamento celular, absorção e transporte de íons, fotossíntese, nutrição mineral e hormônios do crescimento vegetal, *e.g.*, auxina, giberelinas e citocininas (BUCHANAN et al., 2001; KERBAUY, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2004).

O crescimento celular que tem dois componentes, divisão e alongamento celular, é um dos processos da planta mais sensível à deficiência hídrica, e é, normalmente, reduzido mesmo antes da fotossíntese ou condutância estomática (DURÃES et al., 2004a). Com a diminuição da disponibilidade hídrica do solo, ocorre uma redução do alongamento celular, e conseqüentemente, no consumo de carbono e energia, sendo uma maior proporção de fotoassimilados distribuída ao sistema radicular, diminuindo dessa forma a razão parte aérea/raiz das plantas, provavelmente, porque em condições de deficiência hídrica o sistema radicular tende a se desenvolver até que sua necessidade em fotoassimilados seja igual à quantidade que é produzida na parte aérea (TAIZ & ZEIGER, 2004). A extensão do sistema radicular (profundidade e distribuição lateral) depende, especialmente, das características físico-químicas do solo e do conteúdo de água disponível (AIKEN & SMUCKER, 1996). A alocação de fotoassimilados é a distribuição do crescimento dentro da planta, em órgãos aéreos e subterrâneos (DURÃES et al., 2004a).

O crescimento foliar permite à planta incrementar sua capacidade fotossintética, enquanto o crescimento da raiz permite às plantas adicionais explorações do solo por água e nutrientes. Assim, estes órgãos estão em competição entre si pela demanda e assimilados fotossintéticos (DURÃES et al., 2004a). Em condições de estresse hídrico severo há um decréscimo na expansão foliar e, conseqüentemente, na emergência de folhas em cultivares mais sensíveis ao estresse (BORRELL et al., 2000a), bem como na massa seca das folhas, decrescendo, consideravelmente, de acordo com a severidade da seca (BORRELL et al., 2000b).

As plantas tendem a diminuir o crescimento sob condições de carência hídrica no solo, ou seja, ocorre significativa redução do acúmulo de massa seca. Todavia, a adaptação à seca nos vegetais, pode estar relacionada à síntese de solutos compatíveis (osmoprotetores) para a osmorregulação e/ou proteção de macromoléculas que induz a manutenção da integridade das membranas (BARTELS & SUNKAR, 2005). Inclusive, o acúmulo de massa seca permite avaliar e diferenciar a dinâmica da capacidade de produtiva de cultivares de cana-de-açúcar (BARBOSA, 2005). Devido à importância da cultura de cana-de-açúcar nos diferentes setores da indústria brasileira, as respostas à seca são de fundamental importância para identificar cultivares tolerantes ao estresse hídrico. Caracteristicamente, cultivares com distintos graus de tolerância à restrição hídrica são conseqüências das diferenças quantitativas e qualitativas das alterações bioquímicas e fisiológicas, capacitando-as à sobrevivência em períodos de seca.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Instalação e condução experimental

No presente estudo, utilizou-se duas cultivares de cana-de-açúcar, uma sensível, cv. IAC91-2195 (C₁) e outra tolerante, cv. IAC91-5155 (C₂) à seca, assim classificadas por LANDELL et al. (2004). As gemas foram provenientes de canavial de 3º corte com idade de nove meses, situado na Estação Experimental da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA, localizada no município de Jaú, SP. Os toletes foram coletados em 24 de agosto de 2005 e cada tolete, em média, tinha 5 cm, contendo uma gema cada. Após 24 horas da realização da coleta, foram plantados em recipientes com capacidade de 200 cm³, no mesmo solo coletado para o experimento. As mudas foram mantidas durante 40 dias sem restrição hídrica até serem transferidas para vasos de 12.000 cm³.

Após a transferência, as plantas foram cultivadas em três níveis de disponibilidade hídrica do solo, 55% (DH₁), 40% (DH₂) e 25% (DH₃) de poros preenchidos de água, durante 60 dias, sendo este período subdividido em duas épocas que foram as duas épocas iniciais de crescimento, E₁ e E₂, constituindo-se das idades de 70 dias (E₁) e 100 dias (E₂), incluídas no primeiro estágio da cana-planta (180 dias). Este critério foi adotado devido ao primeiro estágio da cana-planta, isto é, início de desenvolvimento e perfilhamento, se encerrar aos 180 dias (Shaw & Innes, 1965 citados por ROSENFELD & LEME, 1984), além das plantas de cana-planta neste estágio encontrarem-se mais suscetíveis ao estresse hídrico (ROSENFELD & LEME, 1984).

As plantas foram cultivadas em terra fina seca ao ar (peneira nº 16), oriunda de solo classificado como Latossolo Vermelho-Escuro distrófico (ANDRIOLI & CENTURION, 1999; PRADO, 2003), localizado nas proximidades do aeroporto, no Campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – FCAV/Unesp. O solo foi coletado na profundidade de 0-20 cm, e submetido à

análise química e granulométrica (RAIJ & QUAGGIO, 1983) e densidade de partícula (EMBRAPA, 1997). Análise química e granulométrica do solo utilizado está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Análise química e granulométrica do solo-Latossolo Vermelho-Escuro distrófico, localizado nas proximidades do aeroporto, no Campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), Jaboticabal (SP), em julho de 2005.

Análise Química												Análise Granulométrica			
Solo	pH	M.O	P resina	mmol dm ⁻³								g kg ⁻¹			Classe Textural
(cm)	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	T	%	Argila	Silte	Areia	
0-20	4,9	13	5	2,6	20	10	31	1	32,6	63,6	51	300	50	650	Média

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

Para o estudo da disponibilidade hídrica do solo descritos, foram considerados três tratamentos: 55% (DH₁), 40% (DH₂) e 25% (DH₃) dos poros preenchidos com água. Primeiramente, para a determinação destes tratamentos, os cálculos foram fundamentados na densidade de massa e porosidade de acordo com as fórmulas descritas abaixo (KLAR et al., 1966). Tais tratamentos foram baseados tanto nas Regras Brasileiras para Análise de Sementes, que indicam estes percentuais para espécies de gramíneas (BRASIL, 1992) como nos resultados apresentados por BIDOIA (2005).

(a) Densidade de massa:

$$\delta_b = \frac{M_s}{V}$$

sendo:

δ_b = densidade aparente do solo;

M_s = massa do solo seco (a $65 \pm 5^\circ\text{C}$)

V = volume de solo.

(b) Porosidade total:

$$f = (1 - \delta_b) / \delta_s$$

sendo:

f = porosidade total;

δ_b = densidade aparente do solo;

δ_s = densidade de partícula

A densidade de partícula foi de $2,73 \text{ g cm}^{-3}$, valor este específico para esse solo, bem como para o perfil em que foi coletado. Para o cálculo da média da densidade aparente do solo (g cm^{-3}) foram utilizadas oito repetições, sendo que em quatro, simulou-se leve compactação do solo para se ter um valor mais aproximado das reais características do solo utilizado no experimento, uma vez que os vasos eram pesados diariamente. O valor médio calculado foi de $1,44 \pm 0,38 \text{ g cm}^{-3}$.

A porosidade total do solo em volume de 12.000 cm^3 foi de 47,25%, correspondendo a um volume total de 5.670 cm^3 (quantidade de água para preencher todos os poros do solo). Foram efetuados três tratamentos de DHS, que consistiram em preencher com água 55 % (DHS₁= sem estresse), 40 % (DHS₂= estresse moderado) e 25 % (DHS₃= estresse severo) dos poros totais, sendo os seguintes valores para quantidade de água: DHS₁= 3.066 cm^3 , DHS₂= 2.215 cm^3 e DHS₃= 1.365 cm^3 .

O controle dos níveis de água no solo foi realizado pelo método das pesagens a partir do monitoramento diário da massa dos vasos, utilizando-se balança digital com capacidade máxima de 25 kg e precisão de 0,005 kg (COGO & GUERRA, 1978), realizando-se, nessas ocasiões, a complementação da água, de modo a manter a umidade no nível concernente a cada tratamento de acordo com metodologia de MARIN (2003) modificada. Assim, em cada rega, a correção da umidade do solo foi feita com base na diferença entre a massa atual do sistema (planta+vaso+solo) e a massa prefixada para cada tratamento. Assumindo-se que a água da torneira

apresentou relação peso/volume de 1:1, a rega foi realizada de modo a complementar a água evapotranspirada em termos de volume (mL).

A condução do experimento foi realizada em ambiente semi controlado, em casa de vegetação climatizada, localizada na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), município de Jaboticabal, SP (21° 15'15" Latitude Sul e 48° 18'09" Longitude Oeste e Altitude 595 m), durante 60 dias, no período de 04 de outubro de 2005 a 02 de dezembro de 2005.

A temperatura e a umidade relativa do ar foram monitoradas na casa de vegetação, com auxílio de um termohigrógrafo até o término do experimento. Os valores médios e respectivos desvios-padrão para temperatura e umidade relativa do ar foram: $29,7 \pm 4,3^{\circ}\text{C}$ e $75,0 \pm 10,1\%$, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições, em arranjo fatorial $2 \times 3 \times 2$, sendo os fatores: duas cultivares, uma sensível (C_1) e outra tolerante ao estresse hídrico (C_2); três níveis de estresse hídrico (sem estresse = DHS_1 , moderado = DHS_2 e severo = DHS_3) e duas épocas de crescimento, 30 (E_1) e 60 (E_2) dias, perfazendo 48 parcelas experimentais. Cada parcela experimental foi representada por um vaso constituído de uma planta cada, formadas a partir de muda proveniente de uma gema já em desenvolvimento, com 40 dias de idade.

3.2. Coleta e preparo das amostras

Foi coletada a folha +1, segundo o sistema de Kuijper, caracterizada como primeira folha com "dewlap" ou aurícula visível (DILLEWIJN, 1952), de cada parcela experimental em duas épocas do crescimento inicial, 30 dias e 60 dias. Para a escolha da folha a ser analisada adotou-se o critério de SILVA et al. (2001), o qual indica a folha +1, justificando que esta folha é ideal para a avaliação de compostos bioquímicos como açúcares não redutores e aminoácidos (caso da trealose e da prolina, respectivamente, objeto de estudo deste trabalho). As folhas foram coletadas no início da manhã, e subseqüentemente, armazenadas em nitrogênio líquido (criopreservação), sendo transferidas, ao final da coleta, para ultra freezer a -80°C negativos. O restante do

material vegetativo foi acondicionado em sacos de papel devidamente identificados e separados em cada parte vegetativa (lâminas e colmo+bainha) para posteriores análises de crescimento.

Para as análises bioquímico-fisiológicas, todo o limbo foliar da folha +1 foi macerado em nitrogênio líquido. Após a maceração, o material foi homogeneizado e pesado em balança analítica (precisão de 0,01 g). Foram separadas alíquotas de 1 g e 0,5 g para as quantificações de trealose e prolina, respectivamente. Durante todo o procedimento de maceração, as amostras ficaram acondicionadas em isopor contendo gelo seco. Foram adicionados 6 mL de Na_2CO_3 ($0,25 \text{ mol dm}^{-3}$) ao material utilizado para quantificar a trealose, enquanto que o material destina à determinação da prolina livre foi armazenado a 25°C negativos para posterior análise.

As quantificações de trealose foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (USP). A determinação de prolina livre e análise do crescimento foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), em Jaboticabal, SP.

3.3. Avaliações bioquímico-fisiológicas

3.3.1. Trealose

A quantificação de trealose foi realizada segundo método enzimático descrito por NEVES et al. (1994). A mistura (6 mL de Na_2CO_3 mais tecido foliar) foi fervida por 20 minutos a 100°C, centrifugado a 3000 x g durante 3 minutos. Foram adicionados a 200 μL do extrato (sobrenadante), 100 μL de ácido acético (1 mol dm^{-3} , pH: 5,5) e 100 μL da solução tampão (acetado de sódio 300 mmol dm^{-3} + CaCl_2 30 mmol dm^{-3}), os quais foram homogeneizados em agitador por 15 segundos. Desta mistura, foram retirados 100 μL e colocados em outro tubo eppendorff imerso em gelo, ao qual foram acrescentados 100 μL de trealase conidial (atividade ótima em pH 5,5 a 60°C), preparada conforme descrito por NEVES et al. (1994).

Os tubos foram mantidos no gelo, e destes, retirados 50 μL da solução para confecção do branco da reação (tempo zero), sendo adicionados a outro tubo ependorff, contendo 150 μL de água destilada, também imerso em gelo. Estes tubos foram fervidos a 100°C por 10 minutos para que a reação de hidrólise da trealose não ocorresse. Foi confeccionado um branco para cada parcela experimental. Os tubos que continham o material a ser analisado foram incubados em banho-maria durante 1 h a 60°C, subseqüentemente, fervidos a 100°C por 10 minutos para cessar a reação. Após as amostras atingirem temperatura ambiente, adicionou-se 1 mL de glicose-oxidase (GOD, EC 1.1.3.4), sendo a reação incubada em banho-maria por 15 minutos a 37°C. Após incubação, houve a formação de um cromógeno vermelho. A análise do equilíbrio da reação foi realizada através de espectrofotometria a 505 nm, onde a intensidade da cor do cromógeno foi proporcional à concentração de glicose presente na solução em análise. Foi construída uma curva padrão, através de solução estoque (1 mg mL⁻¹) de glicose P.A., através de diluições com água destilada, reduzindo a concentração da solução-padrão em até 200 vezes. Para soluções diluídas de glicose, adicionou-se 1 mL de GOD, seguindo as etapas supracitadas. Com base nas leituras obtidas com os padrões, definiu-se uma equação, por regressão linear ($y = 20,492x + 0,0201$, $R^2 = 0,97$), através da qual foram calculadas as concentrações de glicose na solução analítica. A quantificação da trealose no tecido vegetal foi calculada de forma indireta, através da quantidade de glicose. Foram também levados em consideração os fatores de diluição, que foram multiplicados ao final, no valor encontrado para trealose.

3.3.2. Prolina livre

As quantificações de prolina livre foram realizadas em 0,5 g de tecido fresco do limbo foliar, segundo metodologia de BATES et al. (1973). O material foi macerado em 2 mL de ácido sulfosalicílico a 3%, sendo adicionados mais 8 mL do mesmo ácido. A solução homogeneizada foi submetida a duas filtrações para eliminação parcial dos interferentes. Em tubo de ensaio foram colocados 2 mL deste filtrado. Concomitantemente, foi preparado o reagente ácido ninhidrina, utilizando 1,25 g de

ninhidrina ($\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 30 mL de ácido acético glacial PA (CH_3COOH ; 1 mol dm^{-3}) e 20 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4 ; 6 mol dm^{-3}), sendo, posteriormente, dissolvidos em agitador a 60°C . Adicionou-se ao tubo de ensaio com 2 mL do filtrado, 2 mL de ácido ninhidrina e 2 mL de ácido acético (1 mol dm^{-3}), a reação foi então incubada por 1 h a 100°C . Decorrido este tempo, o tubo de ensaio foi imerso em gelo com a finalidade de cessar a reação. Foram então adicionados 4 mL de tolueno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$). A solução foi agitada por 15 a 20 segundos. Com auxílio de uma pipeta Pasteur foi retirado o sobrenadante e realizou-se a análise do equilíbrio de reação. Para o branco da reação foi utilizado o tolueno. Através de espectrofotometria a 520 nm, foram analisadas as absorbâncias das amostras, onde a intensidade da cor do cromógeno foi proporcional à concentração de prolina livre presente na solução em análise.

Para construção da curva padrão foi utilizada prolina P.A., preparou-se solução estoque na concentração de 1 mmol dm^{-3} e diluições em água destilada em até 32 vezes, procedendo às etapas mencionadas acima. Com base nas leituras obtidas com os padrões, definiu-se uma equação, por regressão linear ($y = 0,0287x - 0,0255$; $R^2 = 0,99$), através da qual foram determinadas as concentrações de prolina livre na solução.

As quantidades de prolina livre no tecido foliar (μmoles de prolina livre/g massa fresca) foram calculados através da fórmula: $[(\mu\text{g prolina/mL} \times \text{mL tolueno})/115,5 \mu\text{g}/\mu\text{mole}] / [(g \text{ amostra})/5] = \mu\text{moles de prolina/g massa fresca}$.

3.4. Avaliações fisiológicas biométricas

Como um estudo fisiológico quantitativo, primeiramente, foi determinado o crescimento inicial de ambas cultivares visando verificar as respostas dos efeitos da deficiência hídrica nos estádios iniciais do crescimento, bem como avaliar o grau de tolerância e/ou sensibilidade que possam interferir na produtividade das cultivares de cana-de-açúcar em estudo.

Para tanto, as avaliações C_1 e C_2 foram realizadas após 30 (E_1) e 60 (E_2) dias sob efeito de DH_1 , DH_2 e DH_3 . Foram determinados em E_1 e E_2 , o número de lâminas

foliares, área foliar (dm^2), densidade de raízes (mm de raiz cm^{-3} de solo) e massa seca (g) de cada parte vegetativa (colmo e bainhas, lâmina foliar e raízes).

Para as avaliações da parte aérea de C_1 e C_2 , as plantas foram cortadas na altura do colo, em seguida, determinou-se o número de lâminas foliares. Posteriormente à coleta do material, realizou-se a análise da área foliar (dm^2) com o auxílio do aparelho Delta-T Image Analysis System. A parte aérea foi separada nas partes vegetativas: lâminas foliares e colmo+bainha, sendo acondicionadas em saco de papel e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C até atingir peso constante. O número total de folhas, área foliar e massa seca das lâminas foliares e colmo e bainhas foram determinados no perfilho primário.

O conteúdo de cada vaso foi colocado sobre uma peneira, onde o sistema radicular foi separado do solo, por meio de lavagem manual, com direcionamento de corrente fraca de água, proporcionando a separação das raízes com o cuidado de evitar perdas de filamentos mais finos de raízes. As raízes separadas foram conservadas sob refrigeração, em frascos contendo solução aquosa de álcool 20%, até a realização das análises do diâmetro médio de raízes e densidade do sistema radicular (mm de raiz cm^{-3} de solo).

Para a determinação da densidade e diâmetro médio das raízes, utilizou-se um sistema de análise de imagens Delta-T SCAN. Para cada parcela, retirou-se uma alíquota de 1 g, a cada 50 g de raiz, extrapolando-as para o total, para cálculo da densidade e diâmetro. Estas alíquotas foram coloridas com azul de metileno e em seguida, dispostas homogeneamente sobre uma bandeja com água, procedendo a leitura da imagem através do scanner no sistema Delta-T SCAN (HP ScanJet). Após a criação do arquivo de imagem, o software analisou o comprimento através do método preconizado por HARRIS & CAMPBELL (1989). A densidade das raízes foi calculada dividindo-se o comprimento pelo volume do solo (mm de raiz cm^{-3} de solo). Esse software também permitiu, através da mesma imagem, a determinação do diâmetro médio das raízes (mm). Após a realização das análises, as raízes foram colocadas em saco de papel e levadas à secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C até atingir peso constante.

3.5. Tratamento estatístico

Para a análise dos resultados obtidos, empregou-se o tratamento estatístico das características individuais e de conjunta dos dados.

No estudo das características individuais, realizou-se a análise de variância pelo teste F, utilizando-se do teste de Tukey (BANZATTO & KRONKA, 2006) para a comparação entre médias dos fatores qualitativos, Cultivar (C) e Época (E). A análise da regressão polinomial (BANZATTO & KRONKA, 2006) foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade do fator quantitativo Disponibilidade hídrica do solo (DHS). Na análise conjunta dos dados, utilizou-se como ferramenta a estatística multivariada, através do estudo dos componentes principais. A análise de componentes principais é uma transformação que se aplica aos dados na tentativa de reduzir o conjunto de variáveis correlacionadas em um conjunto menor de variáveis não correlacionadas, denominados componentes principais, com o objetivo de reter o máximo de informação original. Esses componentes ortogonais são combinações lineares das variáveis originais (MANLY, 1994).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise de variância (Tabela 2), observou-se que para os fatores isolados, qualitativo Cultivar (C) e quantitativo Disponibilidade Hídrica do Solo (DHS), houve diferença significativa apenas no acúmulo de prolina livre ($P < 0,01$). Para o fator qualitativo Época (E), houve diferenças significativas no acúmulo de trealose ($P < 0,05$) e prolina livre ($P < 0,01$).

A partir do teste de comparação de médias (Tabela 2), verificou-se que a cultivar IAC91-5155 (C_2) acumulou quantidades superiores de prolina livre ($0,3460 \mu\text{moles g}^{-1}$) quando comparada às quantidades acumuladas ($0,3345 \mu\text{moles g}^{-1}$) na cultivar IAC91-2195 (C_1). O acúmulo destes osmólitos foi diferente aos 30 e 60 dias em plantas de cana-de-açúcar ($P < 0,05$); a quantidade de trealose foi maior aos 60 dias ($1,1894 \text{ mg g}^{-1}$) do que aos 30 dias ($0,9310 \text{ mg g}^{-1}$), porém, para a quantidade de prolina livre, verificou-se que o acúmulo foi maior aos 30 dias ($0,3464 \mu\text{moles g}^{-1}$) do que aos 60 dias ($0,3341 \mu\text{moles g}^{-1}$) (Tabela 2).

No estudo das interações dos fatores (Tabela 2), observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) de C em DHS para os teores de trealose (Cx_{DHS}), fato esse não evidenciado para o acúmulo de prolina livre ($P > 0,05$). Entretanto, a interação dos três fatores CxDHSxE foi significativa para as quantidades de prolina livre ($P < 0,05$).

Pelos dados da Tabela 3, verificou-se no desdobramento dos graus de liberdade CxDHS em regressão polinomial para o acúmulo de trealose, que a cultivar IAC91-2195 (C_1) não apresentou nenhum componente polinomial significativo ($P > 0,05$). Porém para a cv. IAC91-5155 (C_2), observou-se que apenas a regressão linear foi significativa ($P < 0,05$), sendo o componente de segundo grau desprezível ($P > 0,05$). A função linear, expressa pela equação $y = 1,88053 - 0,01761x$ ($R^2 = 0,9689$), apresentou uma correlação altamente negativa ($r = -0,9843$), sendo o acúmulo de trealose aumentado devido a diminuição dos níveis de água no solo (Figura 1). A maior quantidade detectada ($1,4172 \text{ mg g}^{-1}$) foi em 25% de DHS ($P < 0,05$).

Tabela 2. Análise de variância e teste de Tukey das avaliações bioquímico-fisiológicas realizadas na folha +1 de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica do solo, durante 30 e 60 dias após o transplante. Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Osmoprotetores	
		Trealose mg g ⁻¹ massa fresca	Prolina livre μmoles g ⁻¹ massa fresca
Cultivares (C)	1	1,3432 ^{ns}	0,001586 **
Disponibilidade Hídrica do Solo (DHS)	2	0,0019 ^{ns}	0,000600 **
Épocas (E)	1	1,8095 *	0,0001814 **
Interação CxDHS	2	1,8095 *	0,000295 ^{ns}
Interação CxE	1	0,7537 ^{ns}	0,00033. 10 ⁻³ ^{ns}
Interação DHSxE	2	0,3769 ^{ns}	0,00022. 10 ⁻³ ^{ns}
Interação CxDHSxE	2	0,2796 ^{ns}	0,000417 *
Tratamentos	11	0,8244	0,00555
Blocos	3	0,6681 ^{ns}	0,00632 *
Resíduo	33	0,3456	0,000105
C.V. (%)		39,2280	3,0074
Médias e teste de Tukey¹			
cv. IAC91-2195		0,9414 A	0,3345 B
cv. IAC91-5155		1,1780 A	0,3460 A
55% de Disponibilidade Hídrica do Solo		1,9834 A	0,3347 B
40% de Disponibilidade Hídrica do Solo		2,0816 A	0,3393 AB
25% de Disponibilidade Hídrica do Solo		2,2933 A	0,3468 A
30 dias		0,9310 B	0,3464 A
60 dias		1,1894 A	0,3341 B

^{ns} não significativo (P > 0,05); * significativo (P < 0,05); ** significativo (P < 0,01);

¹ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Para o acúmulo de prolina livre, através do estudo do desdobramento dos graus de liberdade da interação CxDHSxE em regressão polinomial, observou-se que o efeito de DHS foi significativo apenas na combinação C₂E₁ (P<0,01), apresentando um componente linear altamente significativo (P<0,01), sendo, o componente de segundo grau desprezível (P>0,05) (Tabela 4). De acordo com a análise de variância, a

regressão mais indicada foi dada pela função linear $y = 0,39243 - 9,83333 \cdot 10^{-4}x$ ($R^2 = 0,8785$). Dessa forma, pôde-se observar que o acúmulo deste aminoácido na cultivar IAC91-5155 aos 30 dias e níveis de água no solo foram inversamente proporcionais ($r = -0,9373$, Figura 3), sendo a maior quantidade acumulada ($0,3710 \mu\text{moles g}^{-1} \text{MF}$) em 25% de DHS ($P < 0,05$).

Tabela 3. Regressão polinomial no desdobramento da interação CxDHS para acúmulo de trealose (mg g^{-1} massa fresca) em folha +1 de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 (C1) e IAC91-5155 (C2), sob efeito da disponibilidade hídrica do solo durante 30 (E1) e 60 dias (E2), após transplante. Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios	
		Cultivares	
		IAC91-2195	IAC91-5155
R.L. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	0,8298 ^{ns}	2,2791 *
R.Q. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	0,8792 ^{ns}	0,0733 ^{ns}
Resíduo	33	0,3456	0,3456

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

Os resultados obtidos indicam que a trealose foi acumulada mais aos 60 dias e que o efeito de DHS foi significativo apenas para C₂ (tolerante), isto é, o efeito dos diferentes níveis de água no solo e maior período de duração da deficiência hídrica no mesmo propiciaram um acúmulo da trealose no tecido foliar da cv. IAC91-5155, sendo o grau de tolerância à seca desta planta correlacionado à quantidade de trealose acumulada no tecidos. Para alguns autores, o acúmulo de trealose nos tecidos das plantas ocorre em função da redução do ciclo do carbono, resultando na produção de carboidratos não estruturais, como trealose e sacarose, açúcares não redutores, altamente solúveis, que atuam na preservação da integridade celular em condições adversas (WINGLER, 2002; BARTELS & SUNKAR, 2005). Assim, supõe-se que o incremento de trealose no limbo foliar da cultivar IAC91-5591 devido à baixa umidade do solo poderia estar relacionado com a redução do ciclo do carbono, a partir de

polímeros (BRAY et al., 2001; BARTELS & SUNKAR, 2005). Esses polímeros, grande parte compartimentalizados, sofreriam a redução devido à demanda destes carboidratos na preservação da membrana plasmática, que estaria desestabilizada pela seca (PATIST & ZOERB, 2005). No entanto, alguns autores apontam que o acúmulo de trealose em plantas superiores vasculares, em condições adversas, é um fenômeno raro, sugerindo que na maioria das espécies, a sacarose seria mais atuante na preservação dessas estruturas do que a trealose (WINGLER, 2002).

De fato, em vegetais superiores, as concentrações de sacarose são bem mais superiores que as de trealose, devido à ação celular deste último ser realizada em baixas concentrações para prevenção de efeitos danosos do seu acúmulo na regulação do metabolismo do carbono (WINGLER, 2002). Entretanto, muitos estudos demonstram que outros dissacarídeos como a sacarose induzem, somente em parte, a estabilização celular quando comparadas com a trealose; e que a ação deste carboidrato, na estabilização de membranas em condição de seca, chega a ser três vezes mais eficiente que a sacarose, devido à alta afinidade da molécula às ligações do tipo ponte de hidrogênio (PATIST & ZOERB, 2005). Dessa forma, pode-se presumir que o incremento de trealose na folha +1 da cv. IAC91-5155 está relacionado à demanda deste carboidrato na estabilização de membranas das células do tecido foliar, devido à redução da disponibilidade de água do solo.

As diferenças quanto ao acúmulo de trealose entre as cultivares são coerentes com estudos realizados em outras gramíneas, onde as maiores quantidades são também detectadas em plantas mais tolerantes à seca (GARG et al., 2002a; GARG et al., 2002b; El-BASHITI et al., 2005). As quantidades encontradas em cultivares tolerantes de arroz, cana-de-açúcar e de trigo foram de 0,17, 0,15 e 0,63 mg g⁻¹ de massa fresca, respectivamente. Estes resultados são inferiores ao encontrado no presente trabalho, porém, deve-se levar em consideração que o acúmulo de trealose é bem distinto entre cultivares e, principalmente, entre espécies.

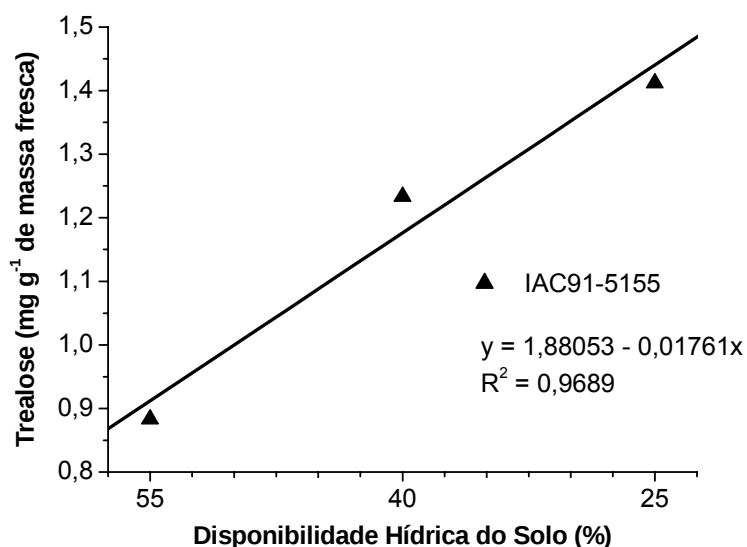


Figura 2. Acúmulo de trealose (mg g⁻¹ de massa fresca) em folha +1 da cv. IAC91-5155 sob efeito de três níveis de disponibilidade hídrica do solo: 55% (sem estresse), 40% (estresse moderado) e 25% (estresse severo) durante 30 e 60 dias de estresse hídrico.

Tabela 4. Regressão polinomial do desdobramento da interação CxDHSxE no estudo do efeito de DHS na combinação CxE para acúmulo de prolina livre (μmoles g⁻¹ massa fresca) em folha +1 de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 (C₁) e IAC91-5155 (C₂), sob efeito da disponibilidade hídrica do solo durante 30 (E₁) e 60 dias (E₂), após transplante. Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios			
		Prolina livre (μmoles g ⁻¹ massa fresca)			
		C ₁ E ₁	C ₁ E ₂	C ₂ E ₁	C ₂ E ₂
R.L. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	0,002 10 ⁻³ ns	0,139 10 ⁻³ ns	1,1764 10 ⁻³ **	0,260 10 ⁻³ ns
R.Q. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	0,132 10 ⁻³ ns	0,128 10 ⁻³ ns	0,217 10 ⁻³ ns	0,026 10 ⁻³ ns
Resíduo	33	0,105 10 ⁻³	0,105 10 ⁻³	0,105 10 ⁻³	0,105 10 ⁻³

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

Apesar de ter sido detectado o efeito da DHS no acúmulo de prolina livre apenas na cv. IAC91-5155 aos 30 dias, pode-se presumir que o acúmulo deste aminoácido seria um indicativo de tolerância para esta cultivar nas condições de estresse hídrico estudadas, uma vez que em outras gramíneas (FUMIS & PEDRAS, 2002; HONGBO et al., 2006) e na própria cana-de-açúcar (RÍNCONES, 1997; BIDOIA et al., 2006) também é verificada a correlação inversa entre quantidades de prolina livre e variações dos níveis de estresse hídrico, sendo a maior quantidade evidenciada em plantas submetidas às condições de menor DHS, porém, as quantidades acumuladas nos genótipos das espécies estudadas por esses pesquisadores são superiores às encontradas no presente trabalho, entretanto, são condizentes com a faixa ideal de acúmulo estipulada por BATES et al. (1973) para estudos do estresse hídrico em plantas.

Ressalta-se que a concentração de prolina livre acumulada nas plantas varia conforme o estágio vegetativo, tipo de órgão/tecido, e principalmente entre genótipos/espécies avaliados durante os estudos (RAYMOND & SMIRNOFF, 2002; KAVI KISHOR et al., 2005). Sendo assim, de acordo com resultados encontrados, o aumento dos teores de prolina livre na cv. IAC91-5155, possivelmente, poderia estar atrelado a um aumento da biossíntese deste aminoácido, estritamente relacionado com o potencial hídrico dos tecidos. Este seria um mecanismo de proteção contra a falta de água, uma vez que esse aminoácido ajudaria a baixar o potencial hídrico dos tecidos, retraindo a água *in situ*, mantendo assim, a integridade destes tecidos (KAVI KISHOR et al., 2005).

Outro resultado observado no estudo do desdobramento de DHS em CxE, é que apenas foi detectado efeito significativo em C₂E₁, onde o incremento nas quantidades de prolina foi evidenciado apenas na cultivar mais tolerante aos 30 dias. Fato também comprovado no estudo do fator isolado época (E), onde houve um decréscimo da quantidade acumulada deste osmólito em função do tempo. Geralmente, parte dos estudos realizados em plantas sob condições de deficiência hídrica evidencia que o acúmulo deste aminoácido aumenta gradativamente, conforme o tempo de imposição ao estresse (FUMIS & PEDRAS, 2002; YAMADA et al., 2005), embora, também seja

verificada em outros trabalhos, tendências de estabilização e/ou decréscimo deste osmólito nos tecidos foliares de artemísia (*Tanacetum parthenium* L.) e de algumas cultivares de trigo (FUMIS & PEDRAS, 2002; CARVALHO et al., 2003), a constância das quantidades encontradas no decorrer das coletas em algumas cultivares poderia estar atribuída a aclimação destas ao estresse, caracterizando certa tolerância (FUMIS & PEDRAS, 2002), fato este que explicaria o efeito de DHS em C₂E₂ não ter sido significativo.

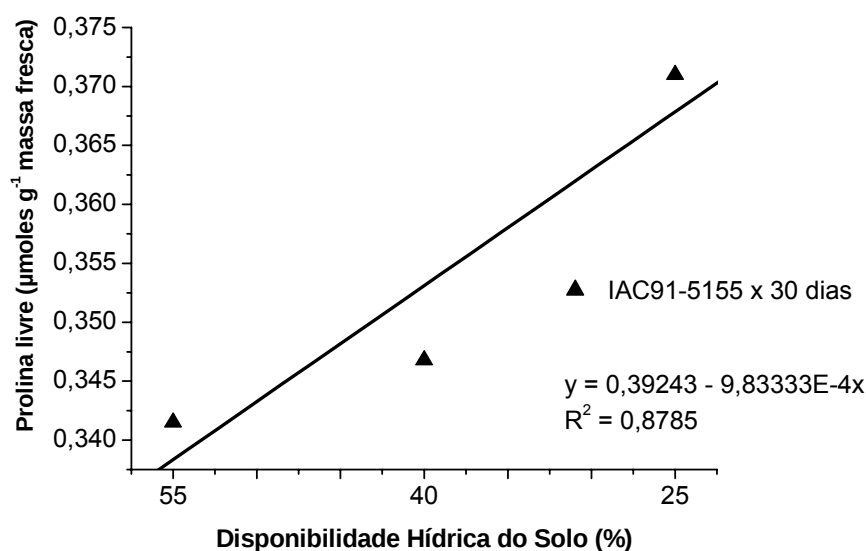


Figura 3. Acúmulo de prolina livre ($\mu\text{moles g}^{-1}$ de massa fresca) em folha +1 da cv. IAC91-5155 sob efeito de três níveis de disponibilidade hídrica do solo: 55% (sem estresse), 40% (estresse moderado) e 25% (estresse severo) durante 30 dias de estresse hídrico.

Outra hipótese seria de que, além das vantagens que a prolina livre tem na redução do potencial osmótico e manutenção da turgescência, seria fonte prontamente acessível de energia para ser utilizada no crescimento e desenvolvimento de tecidos (KAVI KISHOR, et al., 2005). Posto isso, o aminoácido seria translocado através do tecido floemático até o sistema radicular para a manutenção do turgor dessas células, bem como atuaria como fonte de energia nos processos de crescimento e desenvolvimento de tecidos radiculares. Tal proposição é pertinente ao estudo realizado

com milho, onde se verifica um incremento de prolina livre no tecido floemático em plântulas sob estresse hídrico, sendo também este valor expressivo no meristema apical radicular comparado com outras regiões do sistema radicular e parte aérea (RAYMOND & SMIRNOFF, 2002). Nesse contexto, é importante conhecer como o acúmulo de prolina livre influenciaria em outras vias relacionadas à produção de energia e metabolismo do carbono durante o estresse hídrico (KAVI KISHOR, et al., 2005).

O aumento das quantidades de trealose e prolina livre ratifica com muitos estudos que elucidam a importância do ajustamento osmótico de espécies, genótipos e/ou cultivares à seca (GARG et al., 2002a; EI-BASHITI et al., 2005; BIDOIA et al., 2006; HONGBO et al., 2006; MARIN et al., 2006). Estes autores são contundentes ao afirmar que este mecanismo está relacionado ao acúmulo de solutos nos tecidos em resposta à seca, o qual mantém o turgor celular e facilita processos fisiológicos e bioquímicos a esta condição. Dessa forma, plantas mais tolerantes à seca, geralmente, apresentariam maiores quantidades de trealose e prolina livre em tecidos vegetais (EI-BASHITI et al., 2005; BIDOIA et al., 2006; HONGBO et al., 2006). No entanto, a afirmação de que estes osmólitos aumentam ao longo do tempo em que as plantas estão sob estresse deve ser cautelosa, uma vez que existe uma série de reações bioquímicas e alterações fisiológicas interagindo entre si.

Este ajustamento osmótico também pode auxiliar na manutenção do alongamento celular e expansão de regiões de crescimento em condições de deficiência hídrica. Nas avaliações quantitativas da parte aérea, verifica-se que houve diferença significativa no fator isolado época (E) para número de lâminas foliares (NLF, $P < 0,01$), e área foliar (AF, $P < 0,05$).

Através dos resultados apresentados na Tabela 5, observa-se que o efeito da variável cultivar (C) foi significativo para massa seca da lâmina foliar (MSL), massa seca da raiz (MSR) e diâmetro médio da raiz (DMR), evidenciando que a cv. IAC91-5155 apresentou os maiores valores para todas as variáveis estudadas. No estudo

Tabela 5. Análise de variância e teste de Tukey para as avaliações fisiológicas do crescimento da parte aérea e do sistema radicular: número de lâminas foliares (NLF), área foliar (AF), massa seca da lâmina foliar (MSL), massa seca do colmo+bainha (MSC), massa seca da raiz (MSR), densidade do sistema radicular (DSR) e diâmetro médio das raízes (DMR), de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, durante 30 e 60 dias, após o transplante. Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação		Quadrados médios							
		G.L	NLF ¹	AF	MSL	MSC	MSR	DSR	DMR
				dm ²	g	g	g	mm raiz cm ⁻³ solo	mm
Disponibilidade no solo (DHS)	Cultivares (C)	1	0,0004 ^{ns}	194775,426 ^{ns}	8,6021*	4,0950 ^{ns}	102,8138**	1283,616 ^{ns}	0,0252**
	hídrica	2	0,0396 ^{ns}	77265,478 ^{ns}	9,3344*	74,5784**	16,2202 ^{ns}	294,770 ^{ns}	0,0110**
		1	0,2413*	1192487,816 [*]	189,5280**	115,3675**	611,5410**	39252,276**	0,0042 ^{ns}
	Interação CxDHS	2	0,0105 ^{ns}	28959,386 ^{ns}	2,6415 ^{ns}	4,6936 ^{ns}	3,5625 ^{ns}	122,656 ^{ns}	0,0022 ^{ns}
		Interação CxE	1	0,1682 [*]	22636,736 ^{ns}	1,0981 ^{ns}	0,0016 ^{ns}	51,9792 ^{**}	374,801 ^{ns}
	Interação DHSxE	2	0,0329 ^{ns}	14810,934 ^{ns}	5,1453 ^{ns}	47,5169*	11,6829 ^{ns}	116,867 ^{ns}	0,0035 ^{ns}
	Interação CxDHSxE	2	0,0234 ^{ns}	50121,057 ^{ns}	2,1010 ^{ns}	5,3652 ^{ns}	1,3677 ^{ns}	134,699 ^{ns}	0,0030 ^{ns}
Tratamentos		11	0,0566	143355,7903	21,6066	129,7066	75,6364	3840,789	0,0068
Blocos		3	0,0805 ^{ns}	20967,368 ^{ns}	2,3655 ^{ns}	22,8201 ^{ns}	8,4925 ^{ns}	642,968 ^{ns}	0,0011 ^{ns}
Resíduo		33	0,0392	30840,0502	2,0444	10,8132	6,1060	371,880	0,0020
Coeficiente de Variação (%)			5,8662	44,9426	44,9426	38,4017	41,3998	46,6176	13,1561
Médias e teste de Tukey ²									
IAC91-2195			3,3537 ^A	410,8936 ^A	3,3000 ^B	7,6508 ^A	3,8371 ^B	34,3341 ^A	0,3175 ^B
IAC91-5155			3,3597 ^A	370,6077 ^A	4,1467 ^A	8,2350 ^A	6,7642 ^A	44,6767 ^A	0,3634 ^A
55% de DHS			3,3392 ^A	412,4437 ^A	3,6513 ^{AB}	8,5000 ^A	5,7400 ^A	42,3273 ^A	0,3391 ^{AB}
40% de DHS			3,4128 ^A	446,8081 ^A	4,5206 ^A	9,7688 ^A	6,0131 ^A	41,6230 ^A	0,3673 ^A
25% de DHS			3,3181 ^A	313,0001 ^A	2,9981 ^B	5,5600 ^B	4,4188 ^A	34,5659 ^A	0,3149 ^B
30 dias			3,2858 ^B	233,1324 ^B	1,7363 ^B	3,0304 ^B	1,7313 ^B	10,9090 ^B	0,3498 ^A
60 dias			3,4276 ^A	548,3688 ^A	5,7104 ^A	12,8554 ^A	8,8710 ^A	66,1018 ^A	0,3312 ^A

^{ns}: não significativo (P > 0,05); ^{*}: significativo (P < 0,05); ^{**}: significativo (P < 0,01). ¹Dados de número de folhas transformados em $\sqrt{X} + 1$.

² Médias seguidas de mesma letra maiúscula na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

do fator isolado E não foi detectada diferença significativa para a variável DMR ($P > 0,05$). Entretanto, para as variáveis número de lâminas foliares (NLF), área foliar (AF), massa seca da lâmina foliar (MSL), massa seca do colmo+bainha (MSC), massa seca da raiz (MSR) e densidade do sistema radicular (DSR), verifica-se maiores valores para aos 60 dias.

Ainda na Tabela 5, observa-se que o efeito dos níveis de DHS foi significativo para MSL ($P < 0,05$), MSC ($P < 0,01$) e DMR ($P < 0,01$). Comparando-se as médias destas variáveis, observa-se que o nível 25% de DHS não diferiu estatisticamente de 55% DHS para MSL e DMR, sendo os menores valores evidenciados nestes níveis, nos quais as plantas comportaram-se similarmente, todavia, a MSC foi menor em 25% DHS, não diferindo entre si nos níveis de 55% e 40% de DHS.

Através do desdobramento dos graus de liberdade do efeito isolado de DHS na MSL e DMR, verifica-se que para ambas as variáveis, o componente de segundo grau foi significativo (Tabela 6), onde as funções quadráticas são expressas pelas seguintes equações: $y = -0,00528x^2 + 0,44456x - 4,81296$ ($R^2 = 1,00$) e $y = -1,79556.10^{-4}x^2 + 0,1516x + 0,04801$ ($R^2 = 1,00$), respectivamente (Figura 5).

Tabela 6. Regressão polinomial no desdobramento do fator DHS para massa seca da lâmina foliar (MSL) e diâmetro das raízes (DMR) de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica do solo durante 30 e 60 dias, após transplante. Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios	
		MSL (g)	DMR (mm)
R.L. para Disponibilidade Hídrica do solo	1	3,4126 ^{ns}	0,0046 ^{ns}
R.Q. para Disponibilidade Hídrica do solo	1	15,0813 **	0,0174 **
Resíduo	33	2,0444	0,0020

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

O acúmulo máximo de MSL (4,55 g) foi evidenciado quando 42,10% ($x_{\max} = -b/2a$) dos poros estavam preenchidos de água (Figura 4A), enquanto para DMR, esse valor (0,368 mm) foi observado no nível de 42,22 % ($x_{\max} = -b/2a$) de DHS (Figura 4B).

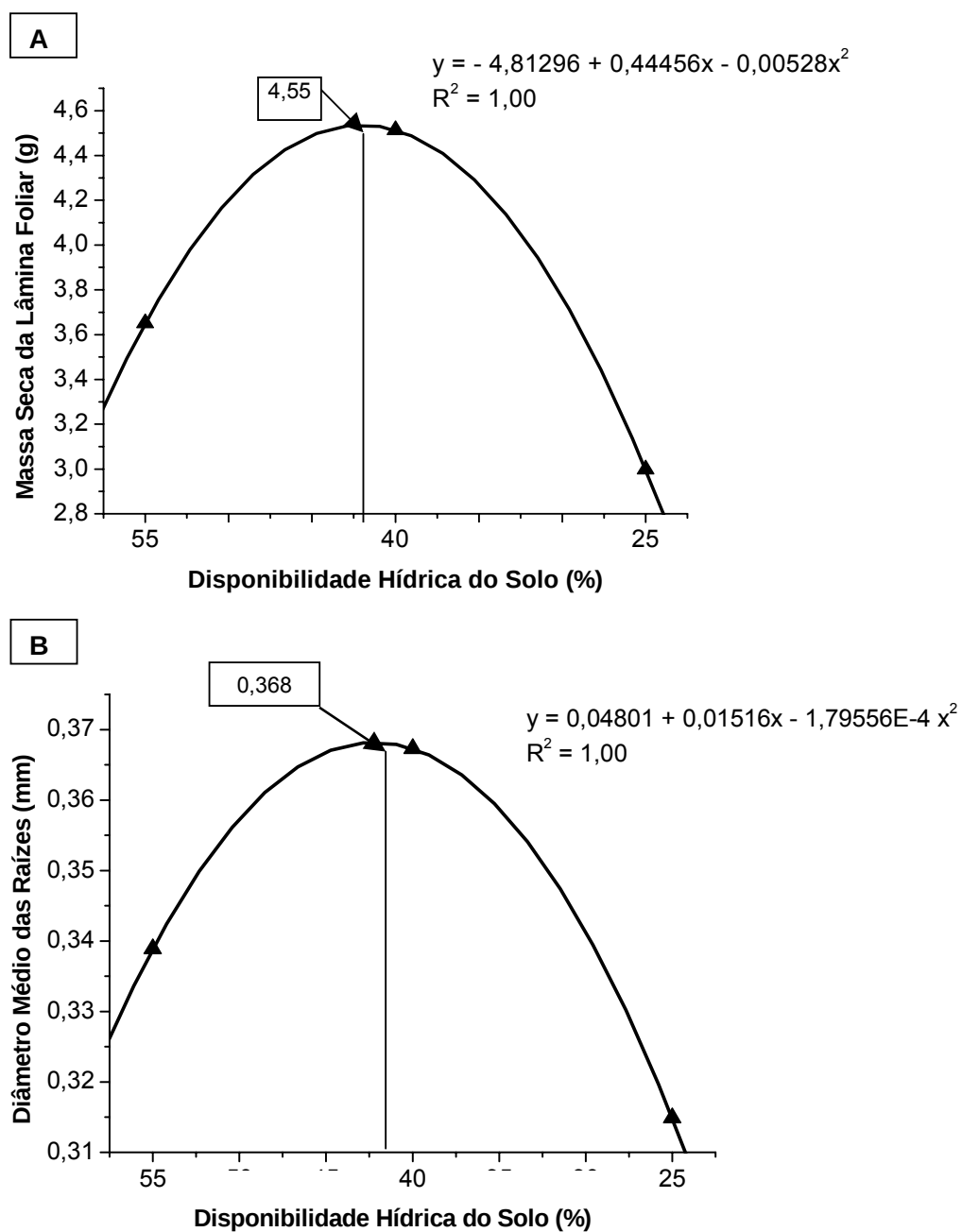


Figura 4. Massa seca de lâminas foliares **(A)** e diâmetro médio das raízes **(B)** de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito de três níveis de disponibilidade hídrica do solo: 55% (sem estresse), 40% (estresse moderado) e 25% (estresse severo) de cana-de-açúcar, durante 30 e 60 dias de estresse hídrico.

Dessa forma, verifica-se que, para as ambas variáveis, valores abaixo e acima de 43% de DHS ocasionaram um decréscimo para MSL e DMR, caracterizando que o efeito de 55% de DHS conferiu às respostas de MSL e DMR condições de excesso de água.

No estudo das interações dos fatores, houve diferença significativa do efeito da disponibilidade hídrica do solo nas épocas (DHSxE) para MSC ($P < 0,05$) e CxE ($P < 0,05$) para NLF e MSR (Tabela 5).

A partir dos dados da Tabela 7, observa-se que o efeito de DHS na massa seca do colmo+bainha (MSC) apresentou os componentes de grau 1 e 2 altamente significativos ($P < 0,01$). A função que melhor expressou esse efeito foi a de maior grau, $y = -0,02338x^2 + 2,0299x - 27,42461$ ($R^2 = 1,00$), no qual o maior acúmulo de MSC (16,63 g) foi evidenciado quando 43,41% ($x_{\max} = -b/2a$) dos poros estavam preenchidos de água (Figura 5).

Tabela 7. Regressão polinomial no desdobramento da interação DHSxE para massa seca do colmo+bainha (MSC) de cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica do solo durante 30 e 60 dias, após o transplante, Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios	
		MSC (g)	
		30 dias	60 dias
R.L. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	4,8071 ^{ns}	1,0450 ^{**}
R.Q. para Disponibilidade Hídrica do Solo	1	0,2509 ^{ns}	1,6243 ^{**}
Resíduo	33	0,1238	0,1238

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

No desdobramento da interação dos fatores qualitativos CxE, verifica-se que não existe diferença entre as cultivares quanto ao número de lâminas foliares (NLF) para ambas as épocas, entretanto, observa-se que a cv.IAC91-5155 tem maior NLF aos 60 dias (Tabela 8).

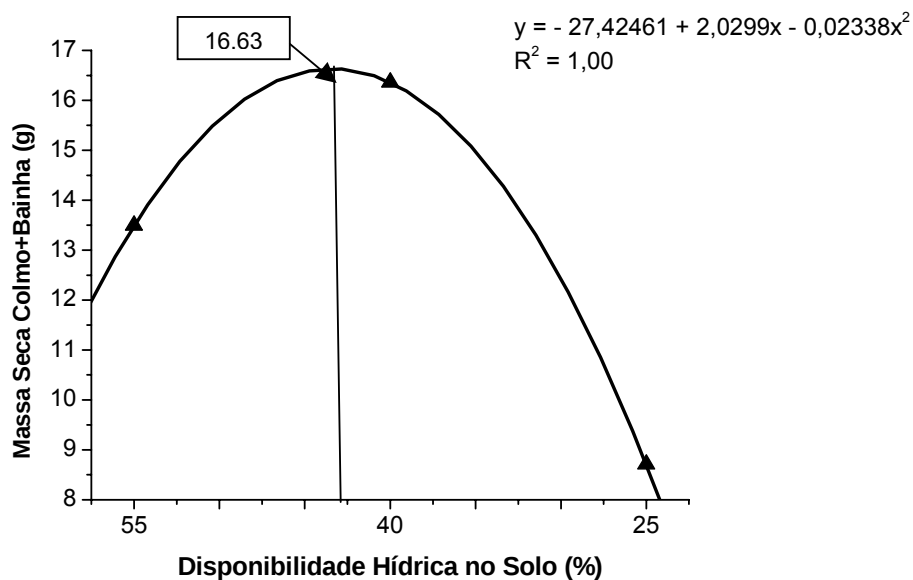


Figura 5. Massa seca do colmo+bainha de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2591 e IAC91-5155, após 60 dias de estresse hídrico de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2591 e IAC91-5155, sob efeito de três níveis de disponibilidade hídrica do solo: 55% (sem estresse), 40% (estresse moderado) e 25% (estresse severo) de cana-de-açúcar, durante 30 e 60 dias de estresse hídrico.

Tabela 8. Médias e teste de Tukey¹ dos efeitos da interação cultivar x época (CxÉ) para número de lâminas foliares (NLF) de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica no solo, durante 30 e 60 dias, após transplante, Jaboticabal (SP), 2005.

Cultivares	Quadrados Médios	
	NLF ²	
	30 dias	60 dias
IAC91-2195	3,2236 Aa	3,3714 Aa
IAC91-5155	3,3480 Aa	3,4838 Ab

¹ Médias seguidas de mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ² Dados transformados em $\sqrt{X} + 1$.

No estudo da interação CxE para a variável massa seca da raiz (MSR) (Tabela 9), verifica-se que na cv. IAC91-5155 (tolerante) houve um aumento da MSR aos 60 dias em comparação com a cv. IAC91-2595 (sensível), sendo que na cultivar sensível ao estresse hídrico, a MSR foi 43,87 % menor (6,3658 g) do que na cultivar tolerante (11,3742 g). Também é evidenciado que para ambas cultivares houve um incremento substancial na MSR, de 79,45 % e 81, 06 % para cv. IAC91-2595 e IAC91-5155, respectivamente (Tabela 9).

Tabela 9. Médias e teste de Tukey¹ dos efeitos da interação cultivar x época (C x E) para massa seca da raiz (MSR) de duas cultivares de cana-de-açúcar, IAC91-2195 e IAC91-5155, sob efeito da disponibilidade hídrica do solo durante 30 e 60 dias, após o transplante, Jaboticabal (SP), 2005.

Cultivares	MSR (g)	
	30 dias	60 dias
IAC91-2195	1,3083 Ab	6,3658 Ba
IAC91-5155	2,1542 Ab	11,3742 Aa

¹ Médias seguidas de mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Apesar de ter sido verificada diferença significativa apenas no efeito do fator E na área foliar (AF) das plantas de cana-de-açúcar (Tabela 5), pode-se observar uma tendência na redução da AF em 25 % de DHS (estresse severo), todavia, houve uma tendência da planta ter maior AF em 40% de DHS. Estas tendências, presumidamente, deve-se ao efeito primário do estresse hídrico no decréscimo do alongamento celular, devido à diminuição do turgor da célula influenciando negativamente a área foliar (TAIZ & ZEIGER, 2004). Estas tendências corroboram aos estudos realizados em cana-de-açúcar sob efeito da deficiência hídrica (50%, 35% e 20%) em diferentes épocas de crescimento inicial (até 120 dias), os quais inferiram que a AF modificou-se linearmente à DHS em duas cultivares de cana-de-açúcar, sendo esta variação diretamente proporcional aos níveis de DHS estudados (BIDOIA, 2005). O aumento da AF aos 60

dias após o transplante é conexo à literatura, a qual postula que a cana-de-açúcar durante o estágio vegetativo, estabelecimento e perfilhamento, tem rápido crescimento devido à alta conversão de energia em aparatos fotossintéticos, o que ocasiona um acréscimo da AF (RAMESH, 2000; OLIVEIRA et al., 2005)

Para número de lâminas foliares (NLV), foi verificado efeito significativo do fator isolado E e da interação CxE. A partir do estudo da interação CxE, a cv. IAC91-5155 apresentou maior número de lâminas foliares que a cv. IAC91-2195 aos 60 dias (Tabela 8), isto pode ter sido influenciado pelo aumento da área foliar durante esta fase de crescimento, uma vez que as características ideais para cultivares de cana-de-açúcar estariam relacionadas com rápido crescimento e desenvolvimento durante a fase vegetativa, que corresponde ao perfilhamento, necessitando de características morfológicas que favoreçam a interceptação de radiação solar como, por exemplo, aumento do número de lâminas foliares e área foliar (OLIVEIRA et al., 2005). Entretanto, não foi evidenciado o efeito de DHS no NLF, diferindo dos resultados encontrados por BIDOIA (2005) em estudo semelhante realizado em cana-de-açúcar. Entretanto, as cultivares utilizadas no presente estudo são consideradas, segundo a literatura, mais rústicas e produtivas, distinguindo-se quanto as respostas biométricas de crescimento (LANDELL et al., 2004).

O efeito de 25% de DHS foi deletério para as variáveis massa seca da lâmina foliar (MSL) e massa seca do colmo+bainha (MSC), apresentando esta tendência também a massa seca da raiz (MSR). De acordo com os valores de MSL, MSC e MSR apresentados na Tabela 5, observa-se no nível 25% de DHS as plantas tendem a distribuir maior parte dos fotoassimilados para MSC e MSR, sendo a massa seca acumulada para estes órgãos, aproximadamente, o dobro comparando-se a MSL. De um modo geral, quando gramíneas estão em condições de estresse hídrico tendem a diminuir a alocação de massa seca para folhas proporcionalmente à redução da disponibilidade hídrica do solo, priorizando o crescimento radicular (RAMESH, 2000), e tal tendência foi verificada no presente estudo, a partir do ponto máximo de acúmulo de MLF quando 42,10% dos poros estavam preenchidos de água (Figura 4A). Isso se deve à tendência da parte aérea da planta crescer até que a absorção de água pelas raízes

seja limitante, ou seja, este incremento na MSR pode ser atribuído à diminuição da MSL nas condições em que 25% dos poros estavam preenchidos de água, observada no presente estudo, a qual reduz o consumo de carbono e energia, em favor a uma maior distribuição de fotoassimilados ao sistema radicular, para sustentar o crescimento deste órgão (TAIZ & ZEIGER, 2004). Em estudo realizado em diferentes estádios de crescimento de cana-de-açúcar sob seca, são verificadas maiores reduções no acúmulo de massa seca no estágio vegetativo, sendo o crescimento reduzido em 60,8 % e 46,3% em condições de estresse hídrico severo e moderado, respectivamente (RAMESH, 2000). Em cinco genótipos de cana-de-açúcar em experimento irrigado e sequeiro verificou-se que, o número de folhas e a partição de massa seca são fatores distintos entre as cultivares nas condições de sequeiro comparada à irrigada durante a fase vegetativa da cultura (BARBOSA, 2005). Estes resultados estão semelhantes aos evidenciados nesta pesquisa, no entanto, ressalta-se que as respostas das modificações fisiológicas do parte aérea e sistema radicular em plantas de cana-de-açúcar sob estresse hídrico são influenciados pela diferença genotípica das cultivares, pelo estágio vegetativo em que a cultura se encontra, pela severidade e periodicidade da deficiência hídrica e pelas características de porosidade do solo (granulométrica e conteúdo de água disponível).

Em cana-de-açúcar em condições do estresse hídrico, o maior acúmulo de MSC no DHS mais severo (25%) é peculiar porque o colmo é um órgão dreno. De fato, um fator determinante do padrão de transporte dos fotoassimilados é a competição entre os drenos (TAIZ & ZEIGER, 2004), por isso a tendência da maior alocação de massa seca para MSC, pois, os drenos da parte aérea são mais competitivos que o dreno do sistema radicular. Entretanto, observa-se, na Tabela 5, a proximidade dos valores de MSC e MSR em 25% de DHS, 5,5600 g e 4,4188 g, respectivamente, verificando que em condições de deficiência hídrica existe uma competição destes órgãos por fotoassimilados, o que pode ter refletido no efeito de DHS na MSR e DSR, que não foi significativo, apresentando valores que não diferiram estatisticamente entre si para estas variáveis. Estes resultados contrariam com a literatura, pois em estudo realizado em cana-de-açúcar sob estresse hídrico foi observado que a massa seca das raízes e

densidade das raízes foi diminuída conforme a menor disponibilidade hídrica do solo até 120 dias (BIDOIA, 2005).

Através do estudo da interação CxE para MSR (Tabela 9), verificou-se diferença no acúmulo de MSR entre as cultivares e épocas. É notável o maior acúmulo de MSR na cv. IAC91-5155 aos 60 dias de estresse hídrico comparada a cv. IAC91-2195. Segundo a literatura, existe um sistema radicular típico a cada cultivar, sendo que em alguns casos, ele compete por fotoassimilados, o que tem conseqüências desfavoráveis para a produtividade (VASCONCELOS, 2002; FARONI, 2004), como estas cultivares têm diferenças quanto à rusticidade, e, conseqüentemente, à produtividade, verifica-se uma melhor desempenho da cultivar classificada por LANDELL et al. (2004) como mais rústica e produtiva, a cv. IAC91-5155.

Segundo VASCONCELOS (2002), a distribuição das raízes de uma cultivar determina, em grande parte, a sua adaptação ao ambiente, tanto em relação às condições climáticas, como ao tipo de solo. Como a cana-de-açúcar é uma planta C₄, e as cultivares utilizadas no presente estudo apresentam características intrínsecas de rusticidade a condições adversas, isto pode ter sido a vantagem da maior eficiência no uso da água destes materiais nas condições estresse moderado (40% de DHS). Estes resultados conferem à cv. IAC91-5155 maior rusticidade, sendo pertinente às informações da literatura quanto à sua maior adaptação à condições adversas (LANDELL et al., 2004).

No presente trabalho, o estresse hídrico severo (DHS de 25%) promoveu o crescimento de raízes mais finas, indicando menor DMR. Este resultado é pertinente à literatura que postula que plantas em condições de seca tendem a aumentar a produção de pêlos absorventes (raízes mais finas) para aumentar absorção de água (AIKEN & SMUCKER, 1996; FARONI, 2004). O crescimento de raízes mais delgadas nas plantas de cana-de-açúcar em DHS de 25% (estresse mais severo) evidencia que, quanto menor o diâmetro da raiz, maior sua área de contato com a solução do solo para a absorção de água estabelecendo, provavelmente, um mecanismo de tolerância à esta condição adversa.

O estudo do desdobramento dos graus liberdade do efeito de DHS permitiu verificar uma variação quadrática no DMR em condições de estresse hídrico (Figura 4B), sendo o valor máximo observado na faixa de DHS considerada como estresse moderado (42,22%), sugerindo que níveis superiores a este valor de DHS conferem resposta similar ao nível 25%, resultados similares foram também encontrados por BIDOIA (2005) estudando a cana-de-açúcar em distintas épocas de crescimento inicial (até 120 dias) sob deficiência hídrica (50%, 35% e 20%), o qual detectou variação quadrática no efeito de DHS no DMR em praticamente todas as épocas de crescimento, exceto aos 30 dias, evidenciando que o valor máximo de DMR se concentrou entre 36,1 a 34,3 %, faixa equivalente ao estresse moderado, sugerindo que níveis acima destes valores influenciariam no DMR similarmente ao menor nível de umidade do solo (20%), considerado estresse severo. A melhor performance das plantas de cana-de-açúcar na faixa compreendida do estresse hídrico moderado, tanto no presente trabalho quanto em pesquisa realizada por BIDOIA (2005), pode estar relacionada à alteração da densidade do solo, através de modificações na estrutura do solo em decorrência da reposição diária de água, o que pode ter influenciado negativamente nas propriedades físico-hídricas fundamentais, como a porosidade. De acordo com CAMILOTTI et al. (2005), a porosidade total do solo é extremamente sensível às pressões exercidas sobre o mesmo.

De acordo com maioria das repostas fisiológicas do crescimento da parte aérea e sistema radicular, verificou-se que 55% de disponibilidade hídrica do solo causou alterações no crescimento e desenvolvimento normal dessas cultivares, sendo observada uma variação quadrática na MSL, MSC e DMR, nas quais os valores máximos atingidos foram entre 42 e 44% dos poros preenchidos com água (Figuras 4 e 5), bem como o efeito nulo de DHS nas variáveis AF, NLV, MSR e DSR (Tabela 5). Supostamente, ocorreu uma alteração da estrutura do solo ao longo do desenvolvimento da planta. Como os vasos foram pesados diariamente, provavelmente, no processo de reposição de água ocorreu compactação do solo, ocasionado à redução da macroporosidade e aumento de microporosidade, e consequentemente, aumento da retenção da água devido à diminuição da aeração do solo. A literatura indica que o

Latossolo Vermelho de textura média apresenta esta tendência. Segundo FERREIRA et al. (1999) este comportamento deve-se ao tipo de mineral predominante, ou seja, quartzo e caulinita que conferem menos porosidade a este solo. CAMILOTTI et al. (2005) avaliando sistemas de preparo de solo para cultivo de cana-de-açúcar confirma a redução da macroporosidade devido pressões exercidas sobre o solo. CENTURION et al. (2004) verificaram em Latossolo Vermelho de textura média aumento da densidade e microporosidade com uso intensivo de cultivo de cana-de-açúcar.

Para muitas gramíneas a combinação dos mecanismos de atraso à desidratação (crescimento do sistema radicular, diminuição do diâmetro médio das raízes) e tolerância à seca (acúmulo e translocação de assimilados e ajustamento osmótico) são determinantes no potencial de sobrevivência da espécie durante a seca (MALINOWSKI & BELESKY, 2000; BARTEL & SUNKAR, 2005). Com intuito de estudar melhor a combinação das respostas, construiu-se um gráfico bidimensional, através de análise multivariada dos componentes principais do conjunto das avaliações fisiológicas (Figura 6), que o primeiro componente principal discrimina os tratamentos quanto à época. Quanto ao componente principal 1 (CP1), os tratamentos referentes à época 1 (E_1 = 30 dias) tendem a se localizar à direita enquanto que os tratamentos referentes à época 2 (E_2 = 60 dias) tendem a se localizar à esquerda (Figura 6A).

Este eixo é responsável por reter 59,33% da informação original. As variáveis MSL ($r = -0,981$), DSR ($r = -0,976$), MSB ($r = -0,971$), MSR ($r = -0,947$), AF ($r = -0,911$), NLF ($r = -0,632$) e trealose ($r = -0,427$) são as variáveis responsáveis, nessa ordem, pela discriminação de E_2 enquanto que a variável prolina livre ($r = 0,526$) é responsável pela discriminação de E_1 . O segundo componente principal conseguiu discriminar as cultivares IAC91-2195 (C_1) e IAC91-5155 (C_2). Os tratamentos referentes à cultivar C_2 (tolerante) tendem a se localizar abaixo quanto ao CP2 enquanto que os tratamentos referentes à cultivar C_1 (sensível) tendem a se localizar acima (Figura 6B). Este eixo é responsável por reter 18,64% da informação original. As variáveis DMR ($r = -0,746$), prolina ($r = -0,659$) e trealose ($r = -0,618$) são as variáveis responsáveis, nessa ordem, pela discriminação de C_2 da C_1 (Tabela 10).

A partir da avaliação conjunta dos dados, a C₂ apresentou, novamente, melhor resposta, conferindo um melhor desempenho dessa cultivar nas condições de estresse hídrico. Esse tipo de análise pôde distinguir, de forma qualitativa, o desempenho das cultivares, podendo, através dos resultados, classificá-las como sensível (C₁) e tolerante (C₂) ao estresse hídrico. Através dessa ferramenta estatística, DANTAS et al. (2001) e MARIN (2003), na avaliação conjunta das respostas fisiológicas de plantas sob condições de estresse, também detectaram tendência de diferenças no grau de tolerância a condições subótimas dos fatores ambientais.

Os dois componentes em conjunto conseguiram reter 78% (59,33 + 18,64) da variabilidade contida no conjunto original. As correlações de cada variável e o componente principal constam da Tabela 10.

Tabela 10. Correlação entre as variáveis fisiológicas e bioquímica-fisiológicas e os componentes principais.

Variáveis	CP 1	CP 2
Área Foliar (AF)	-0,910	0,347
Nº de Lâminas Foliares (NLF)	-0,632	0,199
Massa Seca da Lâmina Foliar (MSL)	-0,980	0,007
Massa Seca do Colmo+Bainha (MSC)	-0,971	0,085
Massa Seca da Raiz (MSR)	-0,947	-0,173
Densidade do Sistema Radicular (DSR)	-0,975	0,001
Diâmetro Médio das Raízes (DMR)	-0,013	-0,746
Prolina livre	0,526	-0,659
Trealose	-0,427	-0,618
Porcentagem acumulada	59,33	18,64

CP1: Componente Principal 1; CP2: Componente Principal 2

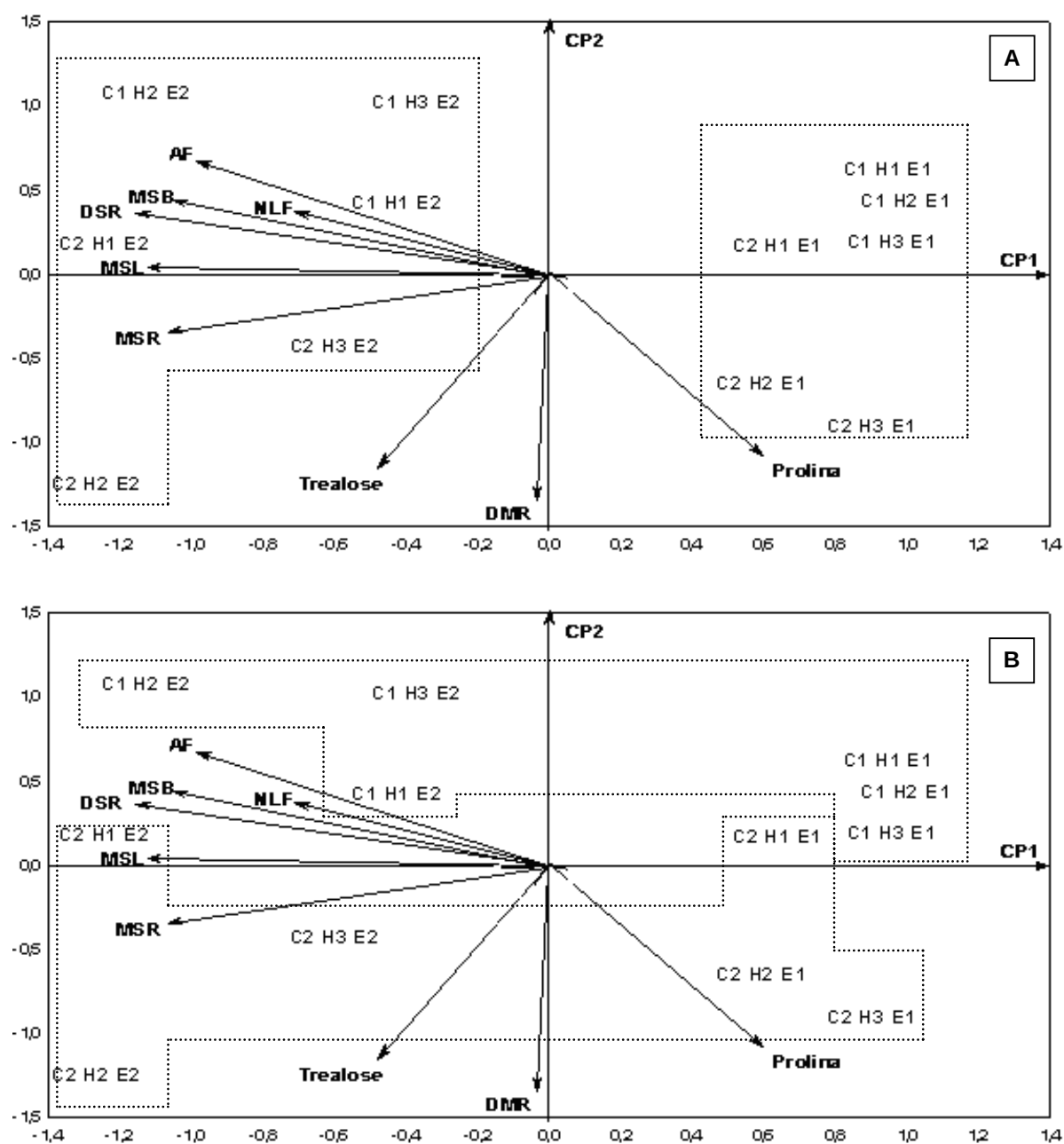


Figura 6. Distribuição dos tratamentos e avaliações fisiológicas nos dois componentes principais. CP1: Componente Principal 1. CP2: Componente Principal 2.

5. CONCLUSÕES

- A cultivar IAC91-5155 apresenta maior acúmulo de trealose e prolina livre nos menores níveis de disponibilidade hídrica do solo, indicando tolerância às condições de estresse hídrico;
- Os osmoprotetores, trealose e prolina livre, podem ser indicados como marcadores bioquímico-fisiológicos de tolerância ao estresse hídrico somente para a cv. IAC91-5155;
- Aos 30 dias sob estresse hídrico há maior acúmulo de prolina livre apenas na cv. IAC91-515;
- No estudo do conjunto das respostas fisiológicas, a cultivar IAC91-5155 apresenta maior tendência à tolerância devido ao acúmulo da trealose, da prolina livre e do decréscimo do diâmetro médio das raízes ao estresse hídrico comparada a cultivar IAC91-2195.

6. REFERÊNCIAS*

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2005. 520p.

AGRIVET NEWS. Newsletter semanal sobre o agronegócio. Agroindústria: Estados produtores se unem para exportar mais álcool. **News Agrivet**, n. 40, 2003. Disponível em: <<http://www.agrivetnews.br.htm>>. Acesso em: 14 jul. 2004.

AIKEN, R. M.; SMUCKER, A. J. M. Root system regulation of whole plant growth. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 325-346, 1996.

ALFONSI, R. R.; PEDRO JUNIOR, M. J.; BRUNINI, O.; BARBIERI, V. Condições climáticas para cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Coord.). **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 42-55.

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27., 1999, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 32.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BARBOSA, E. A. **Avaliação fitotécnica de cinco variedades de cana-de-açúcar para o município de Salinas-MG**. 2005. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitotecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2005.

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.

* De acordo com as Normas NBR 6023:2002

BASTOS, E. **Cana-de-açúcar**: o verde mar de energia. São Paulo: Ícone Editora, 1987, 130p.

BATES, L. S.; WALDREW, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, n.1, p. 205-207, 1973.

BIDOIA, M. A. P. **Desenvolvimento inicial e acúmulo de prolina livre em cultivares de cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica do solo**. 2005. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2005.

BIDOIA, M. A. P.; SANTOS, D. M. M.; MARIN, A.; LANDELL, M. G. A.; BANZATTO, D. A.; CAZETTA, J. O. Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de prolina livre em cana-de-açúcar, em diferentes períodos de desenvolvimento. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 6-9, 2006.

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? I. Leaf Growth and Senescence. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1026-1037, 2000a.

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry Matter Production and Yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1037-1048, 2000b.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. 3. ed. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2001. p. 1158-1203.

BRINHOLI, O. **Resistência à seca de algumas variedades de cana-de-açúcar (*Sacharum* spp).** 1975. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1975.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & molecular biology of plants.** 3. ed. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2001, 1341 p.

CABIB, E.; LELOIR, L. F. The biosynthesis of trehalose phosphate. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 23, n.1, p. 259-275, 1958.

CAMILOTTI, F.; ANDRIOLI, I.; DIAS, F. L. F.; CASAGRANDE, A. A.; SILVA, A. R. da.; MUTTON, M. A.; CENTURION, J. F. Efeito prolongado de sistemas de preparo do solo com e sem cultivo de soqueira de cana crua em algumas propriedades físicas do solo. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 189-198, 2005.

CANAOESTE. **Setor sucroalcooleiro.** Disponível em: <http://www.canaoeste.com.br/principal.php?ago=35&local=setor_canavieiro>. Acesso em: 19 jul. 2006.

CARVALHO, L. M. de, CASALI, V. W. D.; SOUZA, M. A. de.; CECON, P. R. Disponibilidade de água no solo e crescimento de artemísia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 726-730, 2003.

CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N.; SOUZA, Z. M. de. Physical attributes of kaolinitic and oxidic oxisols resulting from different usage systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 5, p. 725-732, 2004.

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

CROWE, L. M.; MOURADIAN, R.; CROWE, J. H.; JACKSON, S. A.; WOWOMERLEY, C. Effect of carbohydrates on membrane stability at low water activities. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 769, p. 141-150, 1984.

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

DANTAS, A. C. M.; FORTES, G. R. L.; SILVA, J. B. da.; A. N. NEZI; RODRIGUES, A. C. Tolerância ao alumínio em porta enxertos somacionais de macieira cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 615-623, 2001.

DIAS, F. L. F. Produtividade de cana-de-açúcar em relação ao clima e solo da Região Noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 627-634, 1999.

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

DURÃES, F. O. M.; GOMES e GAMA; E. E.; SANTOS, M. X. dos.; GUIMARÃES, C. T.; RIBEIRO JR.; W. Q.; TRINDADE, M. da G.; GOMIDE, R. L.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de. **Fenotipagem para tolerância a seca**: protocolos e características específicas visando o melhoramento genético de cereais. Sete Lagoas: MAPA/Embrapa Milho e Sorgo, 2004a. 16 p. (Circular Técnica, 54).

DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X. dos.; GOMES e GAMA; E. E.; MAGALHÃES, P. C.; GUIMARÃES, C. T. **Fenotipagem associada à tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores**. Sete Lagoas: MAPA/Embrapa Milho e Sorgo, 2004b. 18 p. (Circular Técnica, 39).

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

EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. 2 ed. Rio de Janeiro: MAPA, 1997. p. 15-16.

FARONI, C. E. **Sistema radicular de cana-de-açúcar e identificação de raízes metabolicamente ativas**. 2004. 86 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

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

FERREIRA, J. C.; PASSCHOALIN, V. M. F.; PENEK, A. D.; TRUGO, L. C. Comparison of three different methods for trehalose determination in yeast extracts. **Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 2, p. 251-254, 1997.

FERREIRA, M. M.; FERNANDES, B.; CURI, N. Mineralogia da fração argila e estrutura de latossolos da região sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 507-514, 1999.

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

GARG, A. K.; JU-KON, K.; OWENS, T. G.; RANWALA, A. P.; DO CHA, Y.; KOCHIAN, L. V.; WU, R. J. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 99, n. 25, p. 15898-15903, 2002a.

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

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

GODDIJN, O. J. M.; SMEEKENS, S. Sensing trehalose biosynthesis in plants. **The Plant Journal**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 143-146, 1998.

GRIFFITHS, H.; PARRY, M. A. J. Plant responses to water stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 1, p. 801-802, 2002.

HARRIS, G. A.; CAMPBELL, G. S. Automated quantification of roots using a simple image analyser. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n. 1, p. 935-938, 1989.

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

ITURRIAGA, G.; GAFF, D. F.; R.; ZENTELLA, R. New desiccation-tolerant plants, including a grass, in the central highlands of Mexico, accumulate trehalose. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, n. 2, p. 153-158, 2000.

KAVI KISHOR, P.B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S.; SREENATH RAO, REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Bangalore, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KLAR, A. E.; VILLA NOVA, N. A.; MARCOS, Z. Z.; CERVELLINI, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 23, n. 1, p. 15-30, 1966.

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

LANDELL; M. G. A. ProCana: o programa cana-de-açúcar. **O Agrônomo**, Campinas, v. 55, n. 1, p. 5-8, 2003.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531 p.

MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**. London: Chapman & Hall, 1994. 215 p.

MARIN, A. **Germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) sob condições simultâneas de disponibilidade hídrica e toxicidade de alumínio**. 2003. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção vegetal)–Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. ; BANZATTO, D. A. ; CODOGNOTO, L. M. Influência da disponibilidade hídrica e acidez do solo nos teores de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n.1, p.355-358, 2006.

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

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

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

MÜLLER, J.; WIEMKEM, A.; AESCHBACHER, R. Trehalose metabolism in sugar sensing and plant development. **Plant Science**, Limerik, v.147, p.37-47, 1999.

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

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

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

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

PAES, J. G. **Cana reduz faturamento sucroalcooleiro no NE**. Instituto de Economia Agrícola, 2006. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=4867>>. Acesso em: 13 abr. 2006.

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

PINAZZA, L. A.; ALIMANDRO, R. Cana-de-açúcar: alimento bom e doce. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 23. 2003. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/publicacoes_6.asp>. Acesso em: 25 abr. 2006.

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

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico/Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A. **Métodos de análise de solo para fins de fertilidade**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. 31p.

RAMESH, P. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlin, v. 85, p. 83-89, 2000.

RAYMOND, M. J.; SMIRNOFF, N. Proline metabolism and transport in maize seedlings at low water potential. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 813-823, 2002.

REVISTA ALCOOLBRAS. **Seca e recorde de exportação contrastam no início do ano agrícola**. ed. 91, 2005a. Disponível em: <http://www.revistaalcoholbras.com.br/edicoes/ed_91/especial.html>. Acesso em: 25 fev. 2006.

REVISTA ALCOOLBRAS. **Sobrou Sol**. ed. 98, 2005b. Disponível em: <http://www.revistaalcoholbras.com.br/edicoes/ed_98/ed_98.html>. Acesso em: 25 fev. 2006.

RÍNCONES, C. Variación del contenido de prolina en ocho variedades de caña de azúcar a cuatro niveles de humedad en el suelo. **Caña de Azúcar**, Maracay, v. 15, p. 3-16, 1997.

RODRIGUES, R. Século XXI, o novo tempo da agroenergia renovável. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 23, n. 1, p. 257-263, 2004.

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

SILVA, S. da; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; MAGALHÃES, P. C. Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidas à deficiência hídrica. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 124-133, 2001.

SILVEIRA, J. A. G.; ROCHA, I. M. A. da.; VIÉGAS, R. A. **Metabolic responses of cowpea and cashew plants exposed to salt and water stress: new aspects on proline accumulation.** 2002. Disponível em: <sbbq.iq.usp.br/arquivos/regional/2002/cdresumo/Palestras/016.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2006.

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

SOUZA, A. de.; MORAES, M. G. de.; RIBEIRO, R. de C. L. F. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botânica Brasilica**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.

STRECK, N. A. Do we know how plants sense a drying soil? **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 581-584, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 613-622.

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

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Origem da cana-de-açúcar**. 2004. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/cana_origem.asp>. Acesso em: 17 jul. 2004.

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Safra 2005/2006**. 2006. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/cana.asp>. Acesso em: 19 maio 2006.

VASCONCELOS, A. C. M. O sistema radicular da cana-de-açúcar e a expressão do potencial de produção. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 21, n.2, p. 20, 2002.

WINGLER, A. The function of trehalose biosynthesis in plants. **Phytochemistry**, New York, v. 60, p. 437-440, 2002.

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