**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Caracterização fisiológica de variedades de cana-de-açúcar
submetidas ao estresse oxidativo causado pelo herbicida paraquat**

Alan Arthuso Pavani

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2013**

Alan Arthuso Pavani
Engenheiro Agrônomo

**Caracterização fisiológica de variedades de cana-de-açúcar submetidas ao
estresse oxidativo causado pelo herbicida paraquat**

Orientador:
Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Pavani, Alan Arthuso

Caracterização fisiológica de variedades de cana-de-açúcar submetidas ao estresse oxidativo causado pelo herbicida paraquat / Alan Arthuso Pavani. - - Piracicaba, 2013.
67 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Saccharum spp. 2. Déficit hídrico 3. Fluorescência 4. Conteúdo de clorofila I. Título

CDD 633.61
P337c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

Aos meus amados pais Mario e Cida, exemplos de amor, honestidade e fé.

A minha amada irmã Cristiane e meu cunhado e amigo Juliano.

A minha amada avó Dona Lila, que em 2013 completará 92 anos e já cortou muita cana “bambu” nessa vida!

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao CTC - Centro de Tecnologia Canavieira por ter me possibilitado a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Pedro J. Christoffoleti, pela orientação, confiança e apoio durante toda a etapa de realização do curso de mestrado.

A Dra. Sabrina Moutinho Chabregas por todo apoio e estrutura fornecidos durante toda a etapa de realização deste trabalho.

Em especial a Ana Carolina Ribeiro Guimarães, que auxiliou todo o desenvolvimento deste trabalho e, sem a qual, seria impossível a conclusão deste.

Ao amigo Dr. Mauro Leite, pelo auxílio na análise dos dados.

Aos funcionários do CTC Antônio Próspero Jr e Aparecido Alves de Oliveira, pelo apoio na condução da experimentação.

Aos até então estagiários Mateus Varriano, Augusto Strini Paixão, Marcelo Pissolato e Beatrice Silva, pela colaboração na condução da experimentação.

Aos alunos de Agronomia Ana Beatriz Campos Almeida Prado e Flávio Obara, pelo apoio na aplicação do herbicida.

À minha família pela paciência, companheirismo e incentivo no desenvolvimento deste trabalho.

Aos grandes amigos, com os quais seria grande injustiça citar apenas alguns deles aqui.

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

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 A cultura da cana-de-açúcar	19
2.2 Uso de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar	21
2.3 Estresse hídrico nas plantas.....	23
2.3.1 Estresse hídrico versus melhoramento de plantas.....	23
2.3.2 Estresse hídrico em cana-de-açúcar.....	24
2.4 Mecanismo de resistência ao estresse hídrico	26
2.4.1 Sistema antioxidante.....	28
2.5 Pigmentos fotossintéticos: clorofila a e b.....	30
2.6 A fluorescência da clorofila a.....	31
2.7 O herbicida paraquat.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Material genético e local onde o experimento foi conduzido	35
3.2 Estratégia experimental e delineamento estatístico	36
3.3 Condução do experimento.....	37
3.4 Escala de notas para avaliação da fitotoxicidade	38
3.5 Análise da fluorescência da clorofila a	39
3.6 Análise do conteúdo relativo de clorofila.....	40
3.7 Determinação da fitomassa fresca.....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Conteúdo relativo de clorofila (CC)	43
4.2 Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm)	46
4.3 Avaliação da fitotoxicidade (NF).....	51
4.4 Fitomassa fresca (MF – kg/planta).....	53
5 CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	59

RESUMO

Caracterização fisiológica de variedades de cana-de-açúcar submetidas ao estresse oxidativo causado pelo herbicida paraquat

O déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes da produtividade agrícola e a aplicação de alguns herbicidas específicos, no controle de plantas daninhas induz, como consequência de seus mecanismos de ação, um acúmulo de elétrons no fotossistema II, formando assim, radicais livres, que promovem a peroxidação dos lipídeos, que por sua vez destroem as membranas celulares, através do fenômeno conhecido como estresse oxidativo, semelhante ao provocado pela reação da planta submetida ao déficit hídrico. O objetivo deste trabalho foi caracterizar fisiologicamente as variedades SP83-2847, SP83-5073, SP80-3280 e CTC2, submetidas a níveis de estresse oxidativo, ocasionados pela aplicação de doses do herbicida paraquat. O conteúdo relativo de clorofila (CC), a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), a nota visual de fitotoxicidade (NF) e a fitomassa fresca (MF) foram utilizados como parâmetros fisiológicos de avaliação. O estresse oxidativo foi imposto pela aplicação do herbicida paraquat nas doses 0 (D0), 25 (D1), 50 (D2), 100 (D3) e 200 (D4) g/ha de paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio dicloreto). As avaliações foram realizadas nos períodos de 24, 48 e 960 horas após a aplicação dos tratamentos. O conteúdo relativo de clorofila (CC) estimado através do índice SPAD, a eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m), a nota visual de fitotoxicidade (NF) e a massa fresca (MF) são influenciados negativamente pelos tratamentos doses do paraquat. Os padrões de resposta ao estresse oxidativo ocasionado pela aplicação do paraquat nas variedades conhecidas como tolerantes ao déficit hídrico não indicam claramente que são diferentes dos padrões de resposta ao estresse oxidativo ocasionado pelo déficit hídrico, fato que não corrobora claramente com a hipótese de que variedades tolerantes ao estresse oxidativo ocasionado por herbicidas também seriam tolerantes ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; Déficit hídrico; Fluorescência; Conteúdo de clorofila

ABSTRACT

Physiological characterization of sugarcane varieties subject to oxidative stress caused by the herbicide paraquat

Drought is the main factor that limits crop yields, and the use of specific herbicides, to control weeds, induces, as a consequence of their mechanisms of action, an accumulation of electrons in the photosystem II, forming free radicals that promote the lipid peroxidation, hence destroying the cell membranes, by the known phenomenon oxidative stress, similar to the reaction of plants to drought. The objective of this study was to characterize physiologically the varieties SP83-2847, SP83-5073, SP80-3280 and CTC2, under levels of stress caused by the application of doses of the herbicide paraquat. The relative chlorophyll content (CC), the potential quantum efficiency of photosystem II (F_v / F_m), the visual rating of phytotoxicity (NF) and the fresh biomass (MF) were used as physiological parameters. Oxidative stress was imposed by the application of the herbicide paraquat at doses of 0 (D0), 25 (D1), 50 (D2), 100 (D3) and 200 (D4) g/ha of paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylium dichloride). The evaluations were performed by periods of 24, 48 and 960 hours after treatment. The chlorophyll content (CC) estimated by the SPAD, the technique of potential quantum efficiency of photosystem II (F_v / F_m), phytotoxicity visual ratings (NF) and the fresh biomass (FM) are negatively influenced by treatments and doses of paraquat. The response patterns to oxidative stress caused by paraquat application of the known varieties tolerant to drought are not clearly indicate that are different form patterns of response to oxidative stress caused by drought, which did not clearly corroborates the hypothesis that tolerant varieties of oxidative stress caused by herbicides would also be tolerant to drought.

Keywords: *Saccharum* spp.; Drought; Fluorescence; Chlorophyll content

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Disposição do experimento na casa de vegetação.....	35
Figura 2 -	Foto do clorofilômetro SPAD (esquerda) e fluorômetro portátil (direita) utilizado nas medições dos experimentos, respectivamente.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Escala de notas utilizada para avaliação visual de fitotoxicidade de herbicidas.....	39
Tabela 2 -	Análise de variância do conteúdo relativo de clorofila (CC), em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat.....	44
Tabela 3 -	Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	44
Tabela 4 -	Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	45
Tabela 5 -	Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat.....	46
Tabela 6 -	Análise de variância da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat.....	47
Tabela 7 -	Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	48
Tabela 8 -	Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	48
Tabela 9 -	Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat.....	49
Tabela 10 -	Análise de variância da nota de fitotoxicidade em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat.....	51
Tabela 11 -	Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	52

Tabela 12 -	Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat.....	52
Tabela 13 -	Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat.....	53
Tabela 14 -	Análise de variância da fitomassa fresca em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat.....	54
Tabela 15 -	Massa fresca (kg/planta) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat.....	54

1 INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar é de interesse mundial, cultivada em mais de 90 países, sendo o Brasil o maior produtor mundial, com produção estimada de 532,8 milhões de toneladas, considerando o Centro-Sul na safra 2012/2013 (UNIÃO DAS INDÚSTRIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2013) destinadas para atender demanda interna e externa por etanol como combustível e açúcar. A produção advém de uma área cultivada de aproximadamente 9,4 milhões de hectares (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2013). O agronegócio sucroalcooleiro movimenta cerca de R\$ 40 bilhões por ano, com faturamentos diretos e indiretos, o que corresponde a aproximadamente 2,35% do PIB nacional, além de ser um dos setores que mais empregam no país, com a geração de 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos, e de congregar mais de 72.000 agricultores (UNICA, 2009).

Nos últimos anos vem ocorrendo uma grande expansão da área de cultivo da cultura, principalmente nas regiões Centro-Sul e Centro-Oeste do país, englobando o Oeste do Estado de São Paulo, Sudoeste de Minas Gerais, além dos Estados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás, conhecidos por apresentarem déficit hídrico por longos períodos durante o ano. Além destas, a região Nordeste do Brasil apresenta grande tradição no plantio da cana-de-açúcar, no entanto a produtividade (t/ha) é menor que na maioria das unidades produtoras encontradas na região centro-sul. Esta diferença deve-se à baixa disponibilidade de variedades comerciais adaptadas ao estresse hídrico que ocorre nesta região. A compreensão dos mecanismos de tolerância à seca nas variedades de cana-de-açúcar permitirá direcionar os cruzamentos em programas de melhoramento, visando à obtenção de progênies com maior tolerância ao déficit hídrico, o que aumentará a viabilidade da cultura canavieira nestas áreas.

A tolerância à seca é um mecanismo que permite à planta manter o seu metabolismo em níveis considerados normais, mesmo sob baixos potenciais de água no solo, devido a uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas. Entre as alterações bioquímicas, o ajuste osmótico e a capacidade antioxidante têm sido relatados como os principais mecanismos que permitem as plantas tolerar a redução do potencial hídrico do solo. A capacidade antioxidante resulta da habilidade das plantas em inativar as espécies ativas de oxigênio (EAOs), as quais representam

uma consequência do estresse hídrico e provocam um desbalanço redox nas células, influenciando em todo o transporte de elétrons, e por fim desencadeando o estresse oxidativo, devido à sua ação tóxica e mutagênica (ANGELOVA et al., 2000).

Atualmente, grande parte das pesquisas com plantas tem dedicado esforços à procura e ao desenvolvimento de novas variedades resistentes a estresses ambientais, quer seja de natureza biótica ou abiótica. No entanto, a habilidade de sobreviver em tais condições de estresse requer múltiplas adaptações das plantas. Tais adaptações evolucionárias envolvem um grupo complexo de parâmetros, que ainda não foram totalmente descobertos.

O uso de alguns tipos específicos de herbicidas, empregados com a finalidade de controle das plantas daninhas, traz como consequência de seus mecanismos de ação um acúmulo de elétrons e de radicais tóxicos no cloroplasto das plantas, estresse oxidativo semelhante ao provocado pelo déficit hídrico. Assim, se existir um padrão de resposta de variedades de cana-de-açúcar a estes herbicidas cujos mecanismos de ação induzem as plantas a produzir EAOs para comparar com os padrões de resposta para o déficit hídrico existentes na literatura, há a hipótese de que variedades tolerantes ao estresse oxidativo ocasionado por estes herbicidas também seriam tolerantes ao déficit hídrico. Partindo dessa hipótese, seria possível identificar parâmetros de tolerância a seca sem submeter as variedades ao estresse oxidativo diretamente ocasionado pelo déficit hídrico, somente por meio da aplicação de herbicidas.

Assim, este trabalho teve como objetivo a caracterização fisiológica de quatro variedades comerciais de cana-de-açúcar do banco de germoplasma do CTC, submetidas a diferentes níveis de estresse ocasionados em função da aplicação de diferentes doses do herbicida paraquat, indutor de estresse oxidativo. Especificamente os objetivos do trabalho foram de (i) Identificar padrões de resposta da cultura de cana-de-açúcar ao estresse oxidativo; (ii) Identificar parâmetros fisiológicos relacionados à tolerância/sensibilidade nas quatro variedades de cana-de-açúcar em estudo, e (iii) Estabelecer parâmetros para avaliação de tolerância ao estresse oxidativo em genótipos de cana-de-açúcar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é originária do sudeste asiático, especificamente da região da Indonésia e Nova Guiné. Colombo em sua segunda viagem foi quem trouxe para a América esta gramínea, começando o seu plantio na ilha de São Domingos em 1494. No Brasil, o plantio iniciou-se na região de São Vicente (estado de São Paulo), em 1522, com cana-de-açúcar sendo trazida da Ilha da Madeira por Martin Afonso de Sousa. Dessa mesma ilha, em 1533, Duarte Coelho Pereira trouxe a cana-de-açúcar para Pernambuco (BASTOS, 1987).

É classificada como pertencente à família botânica Poaceae, classe Liliopsida e da ordem Ciperale, a qual se caracteriza por apresentar flores pequenas, praticamente destituídas de perianto e protegidas por brácteas e bractéolas secas, reunidas em típicas inflorescências. O fruto é seco, do tipo cariopse, e com semente de endosperma abundante. As folhas são simples, alternas, estreito-lanceoladas de ápice longamente acuminado, com os bordos serrados por pelos simples. A planta é ereta, perene, rizomatosa, formando touceiras, que podem ser classificados em “densa”, “média” ou “frouxa” em função da arquitetura e perfilhamento (ARANHA; YAHN, 1987).

A cana-de-açúcar possui basicamente quatro grandes fases no seu desenvolvimento: brotação; perfilhamento; crescimento vegetativo e fase de maturação (BENDA, 1969). A brotação é ótima na temperatura de 32° C, e paralisa quando a temperatura é inferior a 21°C (BARBIERI, 1981). Com relação ao crescimento da cana-de-açúcar, segundo Falconnier e Bassereau (1975), nas temperaturas abaixo de 25° C é lento, entre 30° C e 34° C é máximo, e acima de 35° C torna-se também lento, sendo praticamente nulo nas temperaturas superiores a 38° C. Bacchi e Souza (1978) destacam que, em condições de cultura tanto irrigada quanto não irrigada o crescimento torna-se praticamente nulo nas temperaturas inferiores a 18° C e 19° C, respectivamente.

A cana-de-açúcar é uma planta com metabolismo do tipo C4, tendo alta eficiência fotossintética e ponto de saturação luminosa elevado. Portanto, quanto maior for a intensidade luminosa, maior o seu desenvolvimento e acúmulo de açúcares (BARBIERI, 1981).

Alfonsi et al. (1987) afirmaram que as precipitações pluviais anuais ideais para o cultivo da cana-de-açúcar devem ser de aproximadamente 1100 a 1500 mm, porém, mais concentrado nas fases de crescimento da cana. Segundo Lucchesi (1985), os solos ideais para o desenvolvimento e crescimento da cana-de-açúcar são aqueles de boa fertilidade, profundos, argilosos, com boa capacidade de retenção de água e com pH entre 6,0 e 6,5.

No Estado de São Paulo o cultivo da cana-de-açúcar pode ser separado em três grupos, segundo a época de plantio e número de cortes. A cana-de-açúcar plantada no final de cada ano se desenvolverá inicialmente sob condições de boa umidade e temperatura, e será colhida após um ano, sendo denominada de “cana planta de ano”. Já a cana-de-açúcar plantada no início de cada ano se desenvolverá inicialmente sob condições de baixa umidade e baixas temperaturas, será colhida após dezoito meses, sendo denominada “cana planta de ano e meio”. Após, o primeiro corte (primeira colheita), todas serão colhidas, aproximadamente, um ano após e são denominadas “cana soca” (KUVA, 1999).

As variedades mais atuais são produtos do cruzamento principalmente entre duas espécies do gênero *Saccharum*, que foi realizado pelos melhoristas do século XIX. As espécies que mais contribuíram para o desenvolvimento de tais cultivares, chamadas de modernas, foram *S. officinarum*, espécie mais amplamente difundida, com capacidade de acumular altos teores de sacarose no colmo, e *S. spontaneum*, espécie muito vigorosa, adaptada a ambientes hostis e que contribuiu para a transferência de genes de resistência a estresses bióticos e abióticos. Outras espécies como *S. sinense*, *S. barberi* e *S. robustum* também contribuíram para o desenvolvimento de algumas variedades modernas. (MATSUOKA et al., 1999). O melhoramento da cana é baseado na seleção e clonagem de “genótipos superiores” provenientes de uma população segregante a qual foi obtida pelo cruzamento de indivíduos de características contrastantes. Para que se maximize a eficiência deste longo processo, o programa é dividido em várias fases, que incluem desde a escolha dos parentais até testes realizados em diversos ambientes.

A cultura da cana-de-açúcar tornou-se mais importante no Brasil a partir da década de 1970. Esta expansão se deu à medida que o setor da agroindústria canavieira foi solicitado a contribuir para a solução da emergente crise energética, face a sua potencialidade de produção de energia a partir de fonte renovável. A importância da cana-de-açúcar pode ser atribuída a sua múltipla utilização, podendo

ser empregada *in natura*, sob a forma de forragem, para alimentação animal, ou como matéria-prima para fabricação de rapadura, melado, aguardente, açúcar e álcool. A grande importância que lhe é atribuída não deriva somente do seu significado quanto ao volume de produção e ao emprego de mão de obra, mas também porque constitui componente relevante na dieta da população brasileira (NOVARETTI, 1981).

O etanol, como combustível, é um produto renovável e limpo que contribui para a redução do efeito estufa, e diminui substancialmente a poluição do ar, minimizando os seus impactos na saúde pública. No Brasil, o uso intenso do etanol restringe a emissão de poluentes da crescente frota de veículos, principalmente de monóxido de carbono, óxidos de enxofre, compostos orgânicos tóxicos como o benzeno e compostos de chumbo (NOVARETTI, 1997).

2.2 Uso de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, mesmo sendo eficiente na utilização dos recursos disponíveis para seu desenvolvimento e apesar de possuir mecanismo fotossintético do tipo C4, é muito afetada pela competição com as plantas daninhas, pois, nos estádios iniciais de desenvolvimento, a brotação e o crescimento são lentos (PROCÓPIO et al., 2004a).

A presença dessas plantas pode interferir no processo produtivo da cana-de-açúcar, competindo pelos recursos do meio, principalmente água, luz e nutrientes, liberando substâncias alelopáticas, atuando como hospedeiro de pragas e doenças comuns à cultura e interferindo nas práticas de colheita (PITELLI, 1985). Kuva et al. (2003) observaram que em época de maior deficiência hídrica, a presença das plantas daninhas *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum* reduziu em até 40% a produtividade de colmos da cana-de-açúcar variedade RB835089.

De acordo com Lorenzi (1994), dependendo da infestação, o controle de plantas daninhas pode chegar a 30% do custo de produção em cana soca e a 15%-25% em cana planta; portanto, um manejo adequado das plantas daninhas é de fundamental importância para se ter lucro neste segmento agrícola.

Herbicidas são compostos químicos utilizados para eliminar plantas, aplicados em doses convenientes diretamente sobre a vegetação para absorção foliar (tratamento em pós-emergência), ou no solo para absorção por tecidos formados

após a germinação da semente antes da emergência da planta na superfície (tratamento em pré-emergência). O uso de herbicidas deve ser feito de maneira técnica e criteriosa, sempre buscando maximizar as suas vantagens de uso, minimizando os seus riscos toxicológicos e ambientais (BLANCO, 2002).

O controle químico é o método mais utilizado no manejo de plantas daninhas nas áreas cultivadas com cana-de-açúcar. Existem diversos produtos eficientes registrados para esta cultura no Brasil. Dentre os herbicidas utilizados em cana-de-açúcar, destacam-se os de aplicação em pré-emergência e pós-emergência inicial, sendo que os herbicidas inibidores da acetolactato sintase (ALS) e do fotossistema II são muito utilizados, em razão da baixa toxicidade para animais, seletividade para as culturas e alta eficácia em baixas doses (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005). Devido às similaridades entre as plantas daninhas e as cultivadas, a aplicação de herbicidas pode oferecer riscos de intoxicação à cultura (NEGRISOLI et al., 2004).

As variedades de cana-de-açúcar têm respostas diferenciadas aos herbicidas, e por consequência, frequentes problemas de fitointoxicação, por vezes reduzindo a produtividade do canavial (PROCÓPIO et al., 2004). O desenvolvimento diferencial de genótipos de cana-de-açúcar em função da aplicação de herbicidas, associado ao estágio fenológico de desenvolvimento desta cultura no momento da aplicação dos herbicidas, são fatores importantes na tolerância de cultivares a tais defensivos (FERREIRA et al., 2005).

Os sintomas de fitotoxicidade provocados por herbicidas podem ser os danos estruturais (CARVALHO et al., 2009), a redução do comprimento de radículas, clorose acentuada ao longo do limbo foliar, necroses, albinismos, enrolamento e ressecamento de folhas a partir do ápice e da margem, menor espessura de colmos, morte de perfilhos (falhas de plantio), paralisação de crescimento e redução de altura (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2003; BARELA; CHRISTOFFOLETI, 2006). Para aferir os prejuízos causados pelos herbicidas é comum avaliar visualmente as cloroses, necroses e amarelecimento nas folhas (SOUZA et al., 2009). A cana-de-açúcar pode ter até 27% de comprometimento da sua área foliar sem que a produtividade sofra alguma alteração, sendo que essas injúrias podem ser devidas a pouca tolerância da cultivar ou mesmo consequência do uso inadequado do herbicida (VELINI et al., 1993). Rolim e Christoffoleti (1982) relataram que as cultivares de cana-de-açúcar podem ter características morfológicas e fisiológicas distintas, sendo provável que ocorram alterações quanto a tolerância a herbicidas

específicos. Avaliações são necessárias porque a maioria dos herbicidas utilizados em cana-de-açúcar possui como mecanismo de ação a inibição da fotossíntese, seja pela redução do conteúdo de clorofila (SALLA et al., 2007; AZANIA et al., 2005) seja por redução da atividade fotoquímica (BRASIL, 2013; AZANIA et al., 2005, 2006; CECHIN, 1996).

2.3 Estresse hídrico nas plantas

A diminuição do teor de água no solo afeta acentuadamente alguns processos morfofisiológicos, enquanto outros são relativamente insensíveis (KELLING, 1995). A extensão dos efeitos da deficiência hídrica nas espécies vegetais depende da sua intensidade e da duração da capacidade genética das plantas em responder às mudanças do ambiente (CHAVES, 1991; SANTOS; CARLESSO, 1998). O déficit hídrico afeta a bioquímica, a fisiologia, a morfologia e os processos de desenvolvimento das plantas, reduzindo a fotossíntese de três maneiras: pela redução na área foliar disponível para interceptar a radiação solar, pela redução da difusão do CO₂ para dentro da folha e pela redução da habilidade dos cloroplastos para fixar o CO₂ que neles penetra (JONES, 1985).

O estresse hídrico causa, em curto prazo, reduções na condutância estomática e no crescimento das folhas e, em longo prazo, reduções no crescimento do caule das plantas (GOLLAN et al., 1986). Reduções na taxa de fotossíntese líquida das plantas sujeitas ao estresse hídrico resultam de um abaixamento da capacidade fotossintética do fotossistema II (BUNCE, 1988) ou do fechamento dos estômatos (KRAMER; BOYER, 1995; SHARKEY, 1990; CRUZ DE CARVALHO, 2008).

2.3.1 Estresse hídrico *versus* melhoramento de plantas

Do ponto de vista prático é muito difícil a imposição de estresse de seca, de forma controlada e reproduzível, às grandes populações de plantas normalmente usadas em programas de melhoramento. Monitoramentos abrangentes do crescimento e de parâmetros fisiológicos raramente têm sido usados para selecionar plantas mais produtivas em ambientes com déficit hídrico (BASNAYAKE et al., 1995). Melhoristas de plantas têm tentado selecionar plantas com tolerância à seca

a partir de grandes populações, entretanto, altos rendimentos e resistência a doenças têm sido os alvos finais das análises.

Esse enfoque experimental na seleção de plantas para tolerância ao estresse hídrico tem sido o método escolhido na quase totalidade dos casos (SIMPSON, 1981).

A maioria dos enfoques, meramente identifica plantas com altos ou baixos rendimentos, porque o critério final de seleção é um simples índice, tal como rendimento de grãos ou produção de biomassa na época da colheita.

Tais enfoques geralmente têm falhado em revelar as características genéticas individuais que afetam a tolerância à seca e que poderiam ser seletivamente orientadas para recombinação adicional.

Características genômicas de uma planta que apresenta, por exemplo, tolerância ao estresse de seca na antese, ou escape ao estresse de seca no enchimento dos grãos, combinado com tolerância a períodos curtos de estresse de pequena magnitude, podem ser perdidas (SIMPSON, 1981).

Um enfoque reducionista terá sucesso limitado porque o balanço ótimo da conservação de água e a absorção de carbono são alcançados, não pela variação de uma única resposta, mas pela combinação de diversas respostas diferentes a um nível que equivale à severidade e à duração do déficit hídrico (MCCREE; FERNANDEZ, 1989).

A maior limitação para o melhoramento genético da tolerância ao déficit hídrico em plantas é o conhecimento insuficiente sobre as bases fisiológicas, moleculares e genéticas das respostas das plantas ao déficit. Essas considerações reforçam a necessidade de um enfoque sistemático nos estudos de estresse hídrico, com maior ênfase nas diferenças genéticas entre os genótipos (VAN RENSBURG et al., 1994).

2.3.2 Estresse hídrico em cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar possui variabilidade genética em relação à suscetibilidade ao estresse hídrico, sendo alguns genótipos capazes de tolerar estresses severos e mesmo assim, completar o seu ciclo, enquanto outros não sobrevivem ou sofrem danos severos na sua produção. Esta variabilidade é uma ferramenta muito importante para o desenvolvimento de genótipos tolerantes. Sob condição de estresse, o desempenho de genótipos-elite em relação aos genótipos tradicionais é

melhor, e esta diferença é devida principalmente a uma maior tolerância aos estresses e não ao aumento da produtividade *per se* (DUVICK et al., 2004).

A literatura evidencia expressiva variação genotípica na resposta da cultura ao estresse hídrico (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005). Fechamento estomático, abscisão foliar e ajuste osmótico precoce são possíveis mecanismos de tolerância à seca. Esta informação é inexistente para a maioria das variedades e existe a necessidade de se obter uma melhor compreensão da resposta da cultura ao estresse hídrico (SMIT; SINGELS, 2006).

Silva et al. (2007) avaliaram a adequação de parâmetros fisiológicos (fluorescência da clorofila a, F_v/F_m , estimativa do conteúdo de clorofila na folha via índice SPAD) para distinguir entre genótipos de cana de açúcar tolerantes e sensíveis submetidos a um ciclo de 90 dias de déficit hídrico. Foram avaliados oito genótipos, cultivados sob condições de campo. Aos 45 dias após o estabelecimento dos tratamentos, F_v/F_m e índice SPAD das plantas sob estresse declinaram significativamente em todos os genótipos, comparados aos respectivos controles sob condições ideais de irrigação. Entretanto, as reduções foram mais severas nas folhas dos genótipos sensíveis à seca. Sob estresse hídrico, o grupo dos genótipos tolerantes manteve maiores valores de F_v/F_m (8%) e índice SPAD (15%) do que os sensíveis. Os resultados obtidos foram consistentes com a classificação desses genótipos como tolerantes/sensíveis e indicam que essas ferramentas podem ser confiáveis na seleção para tolerância à seca.

Pincelli (2010) verificou a habilidade de algumas variáveis morfológicas para distinguir entre tolerantes e sensíveis quatro cultivares comerciais de cana-de-açúcar sendo essas RB72454, RB855453, SP81-3250 e SP83-2847, sob dois regimes hídricos.

Não foi verificado padrão de resposta que possa ser relacionado com o nível de tolerância para o resultado das variáveis comprimento e largura da folha +3, massa foliar específica, condutância estomática, conteúdo relativo de água na folha e conteúdo de clorofilas a e b. Entretanto, constatou-se que as variáveis altura do colmo, número de folhas verdes, área foliar, densidade estomática adaxial e abaxial, máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m), estimativa do conteúdo de clorofila (índice SPAD) e potencial hídrico foliar foram eficientes em avaliar essa tolerância, principalmente no regime de maior déficit hídrico.

Gonçalves (2008) avaliou, em casa de vegetação, as respostas de quatro variedades de cana-de-açúcar (SP79-1011, RB72454, RB98710 e RB92579) submetidas à deficiência hídrica durante a fase inicial de crescimento vegetativo. O estresse hídrico provocou pouca redução na fluorescência da clorofila a (F_v/F_m) e reduziu os teores de clorofilas e crescimento em todas as variedades. Foi observada a redução da condutância estomática em algumas variedades sem alteração da taxa de fotossíntese líquida.

Para investigar o processo envolvido na susceptibilidade de plantas de cana-de-açúcar ao déficit hídrico, Graça et al. (2010) avaliaram diferentes parâmetros fisiológicos em cultivares tolerantes (SP83-2847 e CTC15) e sensíveis (SP86-155). O déficit hídrico afetou o aparato fotossintético de todas as plantas de forma diferenciada dentro e entre as cultivares. A taxa fotossintética e condutância estomática diminuíram significativamente para todas as cultivares submetidas ao déficit hídrico. Nas plantas controle das cultivares tolerantes (SP83-2847 e CTC 15) a taxa fotossintética foi maior do que a cultivar sensível (SP86-155). O teor relativo de água mostrou que a cultivar CTC 15 apresentou o maior teor relativo de água durante o período de déficit hídrico. A eficiência fotossintética da cultivar SP83-2847 foi mais estável nos últimos dias do tratamento experimental, sugerindo que o decréscimo do teor relativo de água estimulou o ajustamento da capacidade fotossintética para tolerar as mudanças da disponibilidade hídrica. De modo geral, as cultivares tolerantes SP83-2847 e CTC15, apresentam melhor desempenho fotossintético do que a cultivar sensível SP86-155.

2.4 Mecanismo de resistência ao estresse hídrico

As plantas desenvolveram, ao longo do processo evolutivo, mecanismos de resistência para suportar os mais diversos estresses ambientais a que são submetidas. Dentre os fatores de estresse abióticos mais estudados estão: seca, alta salinidade, temperaturas extremas, metais pesados, radiação ultra-violeta, privação de nutrientes, alta luminosidade, defensivos químicos e hipóxia.

Ainda que algumas mudanças sejam claramente adaptativas, outras são simplesmente consequências da injúria causada pelo estresse (XIONG et al., 2002; ZHU, 2002). As respostas ao estresse podem ser consideradas como desvios da

norma metabólica, onde a norma é um estado metabólico expresso sob a condição não estressante.

Os mecanismos de resistência à seca atuam no sentido de prevenir ou tolerar a queda no potencial hídrico dos tecidos. Assim, são classicamente divididos em fuga, retardo e tolerância à seca (LEVITT, 1972; VERSLUES et al., 2006).

As plantas que adotam a estratégia de fuga à seca apresentam uma alta plasticidade e rápido desenvolvimento fenológico, adotando mecanismos de dormência que impedem a germinação, antes que seja atingido um nível adequado de umidade no solo. Nas comunidades vegetais encontradas nos desertos e em algumas regiões semiáridas, existem várias espécies de plantas, que com a chegada das chuvas, germinam, florescem e produzem sementes em um curto período de tempo, antes que o teor de umidade caia a níveis que possam causar-lhes dano (KRAMER; BOYER, 1995).

O retardo ou prevenção à seca corresponde à capacidade das plantas em manterem o potencial hídrico de seus tecidos em níveis próximos aos das plantas não estressadas, através de um balanço entre a captação e a perda de água. Visando manter este equilíbrio, as plantas fecham seus estômatos, em curto prazo, ou aumentam a razão raiz/parte aérea, a capacidade de estocar água e a espessura da cutícula, em longo prazo (TAIZ; ZEIGER, 2004). No caso de estresse moderado ou de curta duração, este mecanismo pode ser eficiente (KRAMER; BOYER, 1995), todavia, apresenta como desvantagem a redução na concentração interna de CO₂, receptor de elétrons no ciclo de Calvin, pelo fechamento estomático. Além destas desvantagens, também podem ocorrer limitações em componentes não estomáticos, resultando em danos nos centros de reação do PSII, que podem apresentar reversão parcial após a reidratação (ANGELOPOULOS et al., 1996). Isto pode ocasionar o colapso da cadeia transportadora de elétrons, redução na atividade do fotossistema II (PSII) e o aumento na síntese de EAOs.

À medida que o déficit hídrico torna-se mais severo, as plantas não conseguem manter o equilíbrio entre a captação e a perda de água. Neste caso, a redução no potencial hídrico dos tecidos vegetais não pode ser evitada e novas estratégias fazem-se necessárias para que as plantas possam tolerar a seca. Assim, a tolerância à seca pode ser entendida como a habilidade das plantas em resistir à redução no potencial hídrico de seus tecidos (MITRA, 2001). Entre os mecanismos

adotados nesta fase estão o ajuste osmótico e o aumento na atividade do sistema de defesa antioxidante (ASADA, 1999).

O ajuste osmótico corresponde ao acúmulo de solutos compatíveis ou osmólitos como prolina, compostos quaternários de amônio (glicina betaína, prolina betaína, β alanina betaína e colina-*O*-sulfato), trealose, glicose e o composto terciário de sulfato 3-dimetilsulfoniopropionato (DMSP). Estes compostos apresentam a propriedade de, mesmo em altas concentrações, não interferirem na função e estrutura de macromoléculas. Por serem preferencialmente excluídos da superfície de hidratação de proteínas, contribuem para a estabilização destas (HOEKSTRA et al., 2001). À medida que as plantas perdem água, podem substituir moléculas destas através de ligações ponte de hidrogênio mantendo o espaçamento entre os fosfolipídios e a estrutura da membrana (HARE et al, 1998). Além disso, podem contribuir para a redução do potencial osmótico, manutenção da absorção de água e da pressão de turgor da célula. Diante disso, acúmulo de osmólitos em plantas tem sido utilizado como critério de seleção em programas de melhoramento convencional de plantas, visando aumento da produtividade em ambiente com deficiência hídrica (CLAUSSEN, 2005).

2.4.1 Sistema antioxidante

A capacidade antioxidante resulta da habilidade das plantas em inativar as espécies ativas de oxigênio (EAOs), as quais provocam um desbalanço redox nas células, influenciando em todo o transporte de elétrons, e por fim desencadeando o estresse oxidativo, devido à sua ação tóxica e mutagênica (ANGELOVA et al., 2000).

O oxigênio molecular (O_2) possui baixa reatividade devido à configuração paralela de seus elétrons nos dois últimos orbitais incompletos. Esta organização impõe que a redução do O_2 deve ser efetuada por transferências consecutivas de um único elétron. Os produtos resultantes da redução do O_2 são altamente reativos e recebem a denominação de espécies ativas de oxigênio (EAOs). Estas incluem os radicais superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH) e oxigênio "singlet" ($^1O_2$). Sob condições normais, estes são gerados pelo metabolismo dos organismos aeróbicos, principalmente através da fotossíntese e respiração, porém mantidos em níveis basais através de sistemas antioxidantes de defesa (GRATÃO et al., 2005). Em condições adversas como seca, salinidade, alta

temperatura, radiação ultravioleta, presença de metais pesados e patógenos a produção de EAOs pode saltar de $240 \mu\text{M s}^{-1} \text{O}_2^-$ para $720 \mu\text{M s}^{-1} \text{O}_2^-$ (POLLE, 2001). Quando esse aumento é maior que a capacidade antioxidante da célula, caracteriza-se o processo de estresse oxidativo (PANDHAIR; SEKHON, 2006).

O estresse oxidativo pode ativar a morte celular programada devido à peroxidação lipídica de membranas, oxidação de proteínas, inibição enzimática e danos ao DNA e RNA. Por outro lado, as EAOs também podem agir como sinalizadoras em vários processos intrínsecos de crescimento e desenvolvimento adaptativos (PITZSCHKE et al., 2006), além de atuarem como mensageiros secundários envolvidos na ativação de genes de resposta ao estresse e rotas de defesa (KNIGHT; KNIGHT, 2001).

A peroxidação lipídica e oxidação de proteínas são constantemente utilizadas como indicadores de estresse oxidativo. A primeira caracteriza-se pelo ataque aos ácidos graxos, ou a um lado específico da cadeia, por qualquer substância química que tenha reatividade suficiente para abstrair um H^+ da cadeia do ácido graxo, sendo os ácidos graxos poliinsaturados mais sensíveis a peroxidação (HALLIWELL; CHIRICO, 1993). Esta afeta severamente a funcionalidade e integridade celular e pode produzir danos irreversíveis à célula, resultado do aumento na permeabilidade da membrana plasmática, que provoca o extravasamento de íons K^+ e outros solutos (CHAOUI et al., 1997), enquanto que os danos às membranas intracelulares podem afetar a atividade respiratória nas mitocôndrias e a fotossíntese nos cloroplastos (SCANDALIOS, 2005). As proteínas são afetadas diretamente pela oxidação da cadeia de aminoácidos produzindo grupos carbonil na molécula proteica, as quais podem expor regiões hidrofóbicas, produzindo agregados (ROMERO-PUERTAS et al., 2002).

Vários mecanismos são utilizados pelas plantas para desintoxicar a célula das EAOs produzidas, interrompendo as cascatas de oxidação descontrolada (GRATÃO et al., 2005). Entre os principais mecanismos temos a síntese de compostos antioxidantes não-enzimáticos e enzimáticos, cujo aumento da atividade sob condição de déficit hídrico já foi demonstrado para diversas culturas como feijão (TURKAN et al., 2005), arroz (GUO et al., 2006), milho (KELLOS et al., 2008), entre outras.

O mecanismo antioxidante enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR), guaiacol peroxidase (GPOX), catalase (CAT), entre outras.

2.5 Pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* e *b*

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

As clorofilas (*a* e *b*) e os carotenoides são os pigmentos fotossintéticos mais abundantes existentes no planeta. Por sua estrutura química ser instável, as clorofilas são facilmente degradadas, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos vegetais (GONÇALVES, 2008).

As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o local no qual se realiza a fotossíntese, a qual possui duas reações importantes: a *fotoquímica*, nas membranas dos tilacóides e a *bioquímica*, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos denominados acessórios, tais como os carotenóides (carotenos e xantofilas) (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Ao absorver os fótons (energia luminosa), as moléculas de clorofila modificam temporariamente suas configurações eletrônicas, passando do estado basal para o estado excitado, o qual possui nível de energia superior, sendo ainda muito instável e de vida curta.

Assim, após absorver os fótons, esses pigmentos podem dissipar o excesso de energia proveniente da luz por meio de quatro formas competitivas: *dissipação fotoquímica* (utilizada na fotossíntese), *fluorescência* (re-emissão na forma de luz), *conversão direta de energia* (retorno da clorofila ao seu estado base sem ocorrer emissão de fótons) e *dissipação não-fotoquímica* (re-emissão na forma de calor) (TAIZ; ZEIGER, 2004; MAXWELL; JONHSON, 2000; CAMPOSTRINI, 2010).

A deficiência hídrica é um dos estresses ambientais responsáveis pela diminuição de pigmentos nas folhas, fazendo com que o ciclo de vida da planta seja

alterado. Em adição, a relação entre clorofila *a* e *b* em plantas terrestres pode ser usada como indicativo de resposta ao sombreamento e a senescência prematura, e a relação entre clorofila e carotenóides é usada em menor proporção para diagnosticar a taxa de senescência sob estresse hídrico (HENDRY; PRICE, 1993).

Assim, métodos de quantificação e de estimativa de tais pigmentos também podem ser utilizados como ferramentas para seleção de genótipos tolerantes à seca. Métodos destrutivos são citados na literatura como sendo relativamente eficientes. No entanto, o medidor portátil de clorofila SPAD-502 permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha sem destruí-la, fazendo com que tal método seja caracterizado pela simplicidade e rapidez (ARGENTA et al., 2001).

2.6 A fluorescência da clorofila *a*

Como já se sabe, a captura e armazenamento de energia luminosa pelas folhas de plantas superiores é medida por uma associação entre complexos de pigmentos captadores de luz e um transporte sequencial de elétrons do fotossistema II (PSII) para o fotossistema I (PSI). A eficiência da utilização da luz por cada fotossistema regula as reações de fixação de CO₂ e geração de ATP pelas reações luminosas.

Conforme já mencionado, a energia luminosa absorvida no PSII excita as moléculas de clorofilas ali presentes, que passam para um estado instável e rapidamente liberam parte de sua energia ao meio como calor, sem a emissão de fóton. Entretanto, a clorofila excitada pode também perder energia por fluorescência, reemitindo fótons e, assim, retornando ao estado basal. Outra parte da energia pode ser utilizada pelas reações fotoquímicas ou ainda ser transferida fracamente para o PSI, pelo contato entre moléculas de clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A emissão de fluorescência fornece informações sobre os processos fotoquímicos do PSII. Sob condição de baixa luz, ao redor de 95% dos fótons absorvidos são usados na fotoquímica, 4,5% são transformados em calor e 0,5% são re-emitidos como luz fluorescente. Se todos os centros de reação do PSII estiverem fechados por um bloqueio de fotossíntese, 95-97% da energia pode ser dissipada como calor e 2,5-5,0% via fluorescência (BOLHAR-NORDENKAMPF; OQUIST, 1993).

A relação inversa entre fluorescência e atividade fotossintética foi primeiramente observada e descrita por Kautsky e pode ser usada para estudar a atividade fotossintética potencial das folhas e para detectar os efeitos dos estresses em plantas. Um sinal típico de indução da fluorescência em luz contínua é conhecido como “Efeito Kautsky”, onde após um pico ou um máximo de fluorescência, acontece uma atenuação. Normalmente a extensão dessa atenuação é expressa por coeficientes que variam de 0 a 1, indicando a proporção atenuada da fluorescência máxima (KRAUSE; WEIS, 1991). A fluorescência basal ou mínima (**F_o**) é a fluorescência medida quando todos os centros de reação estão abertos. A fluorescência máxima (**F_m**) é a fluorescência quando todos os centros de reação estão fechados. A fluorescência variável (**F_v**) é determinada pelo estado do centro de reação (aberto ou fechado), e é definida como a diferença entre **F_m** e **F_o**, ou seja, **F_v=F_m-F_o**. O estado dos centros de reação é influenciado por fatores ambientais de origem biótica e abiótica.

A medida da fluorescência das clorofilas do PSII, entretanto, é muito variável pois é extremamente influenciada pelo estado fisiológico do vegetal, podendo, assim, ser utilizada como técnica para monitoramento de coberturas vegetais ou para prever a fixação fotossintética de CO₂. A capacidade fotossintética, entretanto, diminui em proporção ao tamanho e severidade do dano sofrido pela planta. Dependendo do tipo de dano, pode haver recuperação da capacidade fotossintética em poucas horas ou dias ou mesmo a morte do tecido (KRAUSE; WEIS, 1991).

Em plantas sob condições de estresse, a menor eficiência fotossintética pode ser causada pela: 1) menor dissipação de energia através do transporte de elétrons, ocasionando um declínio na eficiência quântica potencial do PSII, indicada pelo menor **F_v/F_m**, e taxa de transporte de elétrons (**ETR**), sendo usualmente associados ao aumento na extinção não fotoquímica da fluorescência (**q_N**) e no “pool” de zeaxantina (HAVAUX; NIYOGI, 1999); 2) início dos processos de fotoinibição quando a capacidade de fotoproteção é excedida, sendo indicado pelo declínio na relação **F_v/F_m**, acompanhado pelo aumento de **F_o**, devido à redução excessiva da cadeia de transporte de elétrons (OSMOND, 1994).

Em situações como descrito acima, a taxa de geração de oxigênio tóxico excede a capacidade dos mecanismos de desintoxicação do PSI (ASADA, 1999). Parte dos elétrons envolvidos nos processos fotoquímicos são utilizados em outros

processos que não a fixação de carbono. Em condições onde a fixação de carbono é limitada, drenos alternativos de elétrons, como a fotorrespiração, excetuando-se plantas com metabolismo C4, e a redução de oxigênio molecular (durante a reação de Mehler) podem aumentar suas atividades (FRACHEBOUD, 2001).

Segundo Krause e Weis (1991), a presença de condições ambientais estressantes levam ao decréscimo característico na eficiência quântica potencial do PSII, podendo ser detectada pela queda na relação **Fv/Fm**, conforme já mencionado.

Contudo, as plantas possuem um sistema de defesa antioxidativo composto de várias enzimas e biomoléculas (ex: ácido ascórbico, alfa-tocoferol e carotenoides) responsável pela remoção de radicais tóxicos acumulados devido a alterações metabólicas, inclusive danos no aparato fotossintético (FOYER et al., 1994).

2.7 O herbicida paraquat

Nas plantas, o herbicida paraquat atua rapidamente, por contato, causando forte toxicidade após algumas horas de aplicação. Esse herbicida é pertencente ao grupo dos bipyridílios, que agem como inibidores do fotossistema I (PSI). O mecanismo de ação dá-se por meio do bloqueio do fluxo de elétrons da fotossíntese, impedindo a redução do NADP^+ à NADPH_2 . Dessa forma, ocorre um acúmulo de elétrons e de radicais tóxicos no cloroplasto, causando sérios danos no metabolismo celular. Esses radicais são instáveis e rapidamente sofrem auto oxidação, onde são produzidos radicais superóxidos, hidroxila, peróxido e oxigênio “singlet” (BENAVIDES et al., 2000).

O paraquat é altamente reativo com os lipídeos das membranas celulares, promovendo sua peroxidação. Com a degradação das membranas, há um vazamento do suco celular e a morte do tecido (VARGAS et al., 1999; CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético e local onde o experimento foi conduzido

O experimento foi integralmente conduzido em casa de vegetação do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), em Piracicaba (SP), que apresenta as seguintes coordenadas geográficas: altitude de 573 metros, latitude de 22°41' Sul e a longitude de 47°33' Oeste.

Figura 1 - Disposição do experimento na casa de vegetação

Foram utilizadas quatro variedades de cana-de-açúcar pertencentes ao banco de germoplasma do CTC. As variedades utilizadas foram: SP80-3280, SP83-2847, SP83-5073 e CTC2.

As variedades CTC2, SP83-5073 e SP83-2847 foram incluídas por terem apresentado resultados positivos para tolerância ao estresse hídrico em outros trabalhos que avaliaram parâmetros fisiológicos (GONÇALVES, 2008; GUIMARÃES, 2011; PINCELLI, 2010). A variedade SP80-3280 foi incluída por ter apresentado resultados positivos para tolerância a estresses ocasionados pela aplicação de herbicidas (FERREIRA et al., 2010). Todos esses trabalhos utilizaram parâmetros fisiológicos para avaliação de tolerância ao estresse oxidativo que coincidem em grande parte com os utilizados no presente trabalho.

CTC2

Desenvolvimento ereto, bom fechamento de entrelinhas, hábito final ereto, colmos de diâmetro médio, com despalha fácil, de cor amarelo-esverdeada, entrenós médios, com pouca cera e rachaduras rasas frequentes. Destaques: alta produtividade, ótima brotação de soqueira, rusticidade.

SP80-3280

Hábito de crescimento vigoroso e ereto com pouco acamamento, despalha e perfilhamento médio. Destaca-se pelo alto teor de sacarose e longevidade de soqueiras em solos de elevada fertilidade, onde se recomenda sua exploração. Apresenta maturação média.

SP83-2847

Hábito de crescimento rápido e levemente decumbente, despalha e perfilhamento médio. Destaca-se pela sua alta produtividade, mesmo em solos de baixa fertilidade, onde se recomenda sua exploração. Apresenta tombamento, baixo teor de sacarose e maturação tardia, devendo ser colhida no final da safra.

SP83-5073

Hábito de crescimento ereto com pouco acamamento, despalha e perfilhamento médios, crescimento regular e uniformidade média. Destaca-se pelo alto teor de sacarose e precocidade. Exigência média em fertilidade do solo, baixo florescimento e ausência de isoporização, teor de fibra alto e não apresenta sensibilidade a herbicidas.

3.2 Estratégia experimental e delineamento estatístico

Os tratamentos experimentais foram constituídos da combinação de dois fatores (fator variedade (4) x fator dose do paraquat (5)) com quatro repetições, totalizando 20 tratamentos e 80 (20x4) parcelas.

O fator variedade (4) foi constituído pelas variedades já liberadas comercialmente de cana-de-açúcar: SP80-3280, SP83-2847, SP83-5073 e CTC2. O fator dose de herbicida (5) foi constituído pelas doses do herbicida paraquat, aplicados em

condições de pós-emergência da cana-de-açúcar, de 0 (D0), 25 (D1), 50 (D2), 100 (D3) e 200 (D4) g/ha do paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridílio dicloreto).

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados completos em fatorial 4x5 (20 tratamentos x 4 repetições). Cada parcela foi constituída por três vasos de polietileno contendo uma planta de cana-de-açúcar em cada vaso.

Para análise dos resultados foi empregado o tratamento estatístico das características individuais. A análise de variância foi realizada pelo teste de F e as médias comparadas entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (SCOTT; KNOTT, 1974).

3.3 Condução do experimento

As plantas utilizadas foram provenientes de pedaços de colmos com gemas meristemáticas que já passaram pelo processo de tratamento térmico, o que garante a sanidade e a qualidade do material a utilizado.

Mudas pré selecionadas, 3 meses pós plantio de gemas individualizadas em bandeja, foram utilizadas para o plantio das 4 variedades em vasos de 8 litros contendo substrato Nutriplant (Nutriplant®, Brasil). A adubação consistiu na aplicação de 2 g.L⁻¹ de Basacote Plus 12M, 15-9-12 (N-P₂O₅-K₂O), incorporados ao substrato em pré-plantio. O Basacote é um fertilizante de liberação lenta e controlada, recomendado para o uso com substratos.

Os tratamentos foram aplicados em condições de pós-emergência da cana-de-açúcar 120 dias após o plantio. Essa aplicação foi realizada via equipamento pulverizador costal de precisão, pressurizado por CO₂, operado a 40 psi, acoplado a uma única ponta de pulverização com jato do tipo plano, marca TeeJet 110.02VS, promovendo largura efetiva de 0,5 m e volume de aplicação proporcional a 200 L ha⁻¹.

Após a aplicação, as plantas foram conduzidas em condições adequadas de crescimento com relação ao fornecimento de água e adubação. Foram feitas operações de controle de pragas e doenças de acordo com a necessidade, baseado no acompanhamento diário do experimento.

Os parâmetros avaliados foram:

1 - Avaliação visual dos sintomas de fitotoxicidade (NF), segundo escala proposta pela SBPCPD (1995) (Tabela 1).

2 - Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm).

3 - Determinação do conteúdo de clorofila (CC), utilizando o medidor manual Minolta SPAD-502.

4 - Produção de fitomassa fresca em kg/planta (MF).

Os parâmetros relacionados nos itens 2 e 3 foram avaliados 1 (24 horas), 2 (48 horas) e 40 dias (960 horas) após a aplicação dos tratamentos com os herbicidas. O parâmetro 4 foi avaliado 40 dias após a aplicação dos tratamentos. O parâmetro 1 foi avaliado em intervalos de 1, 2 e 40 dias após a aplicação dos tratamentos.

Figura 2 — Foto do clorofilômetro SPAD (esquerda) e fluorômetro portátil (direita) utilizado nas medições dos experimentos, respectivamente

3.4 Escala de notas para avaliação da fitotoxicidade

As avaliações visuais para a fitotoxicidade dos herbicidas às plantas de cana foram realizadas 1, 2 e 40 dias após a aplicação dos tratamentos, utilizando-se a escala conceitual proposta pela SBCPD (1995) que vai de 0 (sem alterações na cultura) a 10 (morte da cultura) conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Escala de notas utilizada para avaliação visual de fitotoxicidade de herbicidas

CONCEITO	NOTAS	OBSERVAÇÕES
Leve	0-1	Sintomas fracos ou pouco evidentes. Nota zero: não se observam quaisquer alterações nas plantas
Aceitável	2-3	Sintomas pronunciados, no entanto totalmente tolerados pela planta
Preocupante	4-5	Sintomas maiores que na categoria anterior, mas ainda passíveis de recuperação, e sem expectativas de redução no rendimento econômico.
Alta	5-7	Danos irreversíveis, com previsão de redução no rendimento econômico.
Muito alta	7-10	Danos irreversíveis muito severos, com previsão de redução drástica no rendimento econômico. Nota 10 para morte de planta.

Adaptado de Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas - SBCPD (1995).

3.5 Análise da fluorescência da clorofila *a*

As avaliações da fluorescência da clorofila *a* das plantas de cana-de-açúcar após 1, 2 e 40 dias do tratamento com paraquat foram realizadas em fluorômetro “Portable Chlorophyll Fluorometer” (PAM 2000, Hinz Walz, Alemanha) equipado com uma unidade de controle de disparo de pulsos saturantes. As análises foram feitas seguindo a metodologia descrita por Schreiber et al. (1986) e Genty et al. (1989), avaliando a emissão da fluorescência da clorofila *a* pela superfície superior das folhas. Os parâmetros foram obtidos em duas intensidades de PAR, média e alta, com intensidades médias de 100 e 325 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ fótons, respectivamente. Os dados de todas as medidas e o monitoramento contínuo durante as análises foram analisados em planilhas e gráficos por meio do programa Excel® 2007, considerando-se os resultados da média de três leituras para cada parâmetro mensurado.

Antes do início das análises, todas as plantas do experimento foram mantidas no escuro por um período de 30 minutos para completa oxidação dos componentes do sistema de transporte de elétrons; a seguir, os seguintes parâmetros foram determinados: **F_o**, **F_m** e **F_v/F_m**. Os parâmetros foram obtidos da leitura direta e calculados de acordo com a seguinte fórmula (BILGER et al., 1995; WALZ, 1993):

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

Sendo, **F_o**: fluorescência mínima obtida com todos os centros de reação do PSII abertos enquanto a membrana do tilacóide está no estado não energizado, isto é, adaptado ao escuro;

F_m: fluorescência máxima obtida quando todos os centros de reação do PSII estão fechados (oxidados), isto é, no estado adaptado ao escuro;

F_v = (F_m-F_o): fluorescência variável máxima obtida em folhas adaptadas ao escuro.

3.6 Análise do conteúdo relativo de clorofila

O teor de clorofila foi medido na folha +1 (a primeira mais jovem completamente desenvolvida) após 1, 2 e 40 dias do tratamento com Paraquat, com o auxílio do medidor de clorofila SPAD- 502 ("*Soil plant analysis development*"). Foram realizadas 3 medidas no terço médio das folhas em cada parcela. As leituras efetuadas pelo medidor portátil de clorofila correspondem ao teor relativo de clorofila presente na folha da planta. Os valores são calculados pelo equipamento com base na quantidade de luz transmitida pela folha, em dois comprimentos de ondas, com diferentes absorbâncias da clorofila (MINOLTA, 1989). As regiões de picos de absorbância da clorofila estão entre os comprimentos de onda correspondentes às cores azul e vermelho. As de baixa absorbância situam-se na região do verde e as de absorbância extremamente baixa na região do infravermelho (HENDRY; PRICE, 1993). Em função disso, os comprimentos de ondas escolhidos para medição do teor de clorofila, ou do índice de esverdeamento da folha, situam-se na faixa do vermelho, em que a absorbância pela clorofila é alta e não é afetada pelos carotenóides, e na do infravermelho, em que a absorbância é extremamente baixa. O medidor de clorofila possui diodos que emitem luz a 650 nm (vermelho) e a 940 nm (infravermelho). A luz em 650 nm situa-se próxima dos dois comprimentos primários de ondas associados à atividade da clorofila (645 e 663 nm). O comprimento de onda de 940 nm serve como referência interna para compensar diferenças na espessura ou no conteúdo de água da folha ou que sejam devidos a outros fatores (WASKOM et al., 1996).

A luz que passa através da amostra da folha atinge um receptor (fotodiodo de silicone) que converte a luz transmitida em sinais elétricos analógicos. Por meio do

conversor A/D, esses sinais são amplificados e convertidos em sinais digitais (MINOLTA, 1989), sendo usados por um microprocessador para calcular os valores SPAD, que são mostrados num visor. Os valores obtidos são proporcionais ao teor de clorofila presente na folha.

3.7 Determinação da fitomassa fresca

A Produção de fitomassa verde ou fresca foi determinada aos 40 dias após a aplicação dos tratamentos, o que equivale a 160 dias após o plantio. Todas as plantas do experimento foram cortadas manualmente na porção basal rente ao substrato e tiveram sua massa aferida em balança com precisão de 0,00 kg, imediatamente após o seu corte.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estresse oxidativo pode ativar a morte celular programada devido à peroxidação lipídica de membranas, oxidação de proteínas, inibição enzimática e danos ao DNA e RNA (PITZSCHKE et al., 2006). Os danos às membranas intracelulares podem afetar a atividade respiratória nas mitocôndrias e a fotossíntese nos cloroplastos (SCANDALIOS, 2005).

É importante destacar que o material vegetal produzido nesse experimento permitiu a caracterização da resposta antioxidativa para cada variedade e estresse oxidativo imposto, que foram apresentados em partes em outros trabalhos de pesquisa (FERREIRA et al., 2010; GUIMARÃES, 2011). Em seu estudo, Ferreira et al. (2010) observou a tolerância diferencial de variedades de cana a estresse por herbicidas. Guimarães (2011) observou a ocorrência de estresse oxidativo através da eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) e conteúdo relativo de clorofila (CC). Guimarães (2011) realizou seu trabalho utilizando déficit hídrico como tratamento.

Para facilitar a interpretação dos resultados, a discussão encontra-se separada por parâmetro avaliado. De maneira geral, a aplicação do paraquat provocou reduções significativas no conteúdo relativo de clorofila (CC) nas avaliações realizadas após 48 horas, medido pelo SPAD, na eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) nas avaliações realizadas após 24 e 48 horas, na nota visual de fitotoxicidade (NF) nas avaliações realizadas após 24, 48 horas e 40 dias e na massa fresca (MF) das plantas, na avaliação realizada aos 40 dias após a aplicação dos tratamentos.

4.1 Conteúdo Relativo de Clorofila (CC)

De acordo com os resultados da análise de variância, observaram-se efeitos significativos na variável conteúdo relativo de clorofila promovido pelo fator variedades nas avaliações após 48 horas ($p < 0,01$) e 40 dias ($p < 0,001$) da aplicação dos tratamentos e pelo fator doses nas avaliações após 24 e 48 horas ($p < 0,001$). O efeito da interação entre as variedades x doses não foi significativo em nenhuma das avaliações (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise de variância do conteúdo relativo de clorofila (CC), em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat

Causas de Variação	G.L	Valores de F		
		24 horas CC (SPAD)	48 horas CC (SPAD)	40 dias (960 horas) CC (SPAD)
Variedades	3	1,51	2 ***	12,33 **
Doses	4	6,74 **	51,96 **	0,64
Variedades x Doses	12	0,91	1,19	0,62
Resíduo	60			
Total	79			
CV(%)		42,22	39,53	9,33

G.L.: Graus de liberdade; **: significativo ($p < 0,001$); ***: significativo ($p < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação.

A degradação da clorofila é uma das consequências do estresse oxidativo, que resulta na perda da cor verde das folhas (LONG et al., 1994). O uso desta técnica também é de fácil obtenção e vem se mostrando confiável para diferenciar entre plantas tolerantes e sensíveis a deficiência hídrica (O'NEILL et al., 2006).

Após 24 horas da aplicação do paraquat, nenhuma variedade teve seu conteúdo de clorofila afetado, independentemente da dose utilizada. Comparando entre variedades, também não houve diferença significativa dentro de cada dose (Tabela 3).

Tabela 3 - Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	24 horas	45,5 Aa	44,5 Aa	39,1 Aa	32,0 Aa	29,4 Aa
SP80-3280	24 horas	44,7 Aa	41,0 Aa	34,8 Aa	36,4 Aa	26,1 Aa
SP83-2847	24 horas	50,1 Aa	44,1 Aa	35,0 Aa	27,2 Aa	26,0 Aa
SP83-5073	24 horas	44,7 Aa	41,7 Aa	37,0 Aa	26,7 Aa	22,3 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Analisando dentro de cada variedade, após 48 horas, todas as variedades mostraram redução no conteúdo relativo de clorofila comparando as doses D2, D3 e D4 com a D0. As variedades CTC2 e SP80-3280 não apresentaram diferença entre

as doses D0 e D1. A CTC2 não apresentou diferença significativa entre as doses D2, D3 e D4. SP83-2847 e SP83-5073 não apresentaram valores de conteúdo relativo de clorofila diferentes entre as doses D3 e D4 (Tabela 4).

Comparando dentro de doses, CTC2 e SP80-3280 mostraram valores do índice SPAD superiores aos das variedades SP83-2847 e SP83-5073 na dose D1. Mesmo não apresentando diferenças significativas, dentro da dose D3, CTC2 e SP80-3280 parecem mostrar respostas diferenciais em relação a SP83-2847 e SP83-5073, mantendo valores superiores. Considerando todas as doses, as variedades que apresentaram menor redução média de conteúdo relativo de clorofila nas avaliações após 24 e 48 horas foram CTC2 (32,5%) e SP80-3280 (39,6%), enquanto as que apresentaram maior redução média foram SP83-2847 (53%) e SP83-5073 (52%) (Tabela 4).

Tabela 4 - Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	48 horas	38,2 Aa	38,2 Aa	20,3 Ba	14,8 Ba	11,2 Ba
SP80-3280	48 horas	43,8 Aa	36,5 Aa	21,1 Ba	14,2 Ba	4,5 Ca
SP83-2847	48 horas	47,6 Aa	22,2 Bb	16,8 Ba	9,6 Ca	4,7 Ca
SP83-5073	48 horas	46,8 Aa	26,4 Bb	16,6 Ca	3,1 Da	2,3 Da

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Na avaliação 40 dias após a aplicação do paraquat, nenhuma variedade teve seu conteúdo de clorofila afetado, independentemente da dose utilizada (Tabela 5).

Tabela 5 - Conteúdo relativo de clorofila (CC), expresso em unidades SPAD, entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	960 horas	33,1 Aa	38, 0 Aa	34,9 Aa	35,6 Aa	32,3 Ab
SP80-3280	960 horas	33,1 Aa	32,6 Ab	33,3 Aa	32,7 Aa	33,7 Ab
SP83-2847	960 horas	38,6 Aa	39,9 Aa	38,2 Aa	39,0 Aa	40,7 Aa
SP83-5073	960 horas	35,1 Aa	36,4 Aa	36,1 Aa	36,9 Aa	34,5 Ab

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Submetida à deficiência hídrica de 28 e 56 dias, Pincelli (2010) observou que o conteúdo relativo de clorofila teve menor redução na variedade SP83-2847 considerada resistente (aproximadamente 24%) comparada as sensíveis (aproximadamente 50%). Os resultados do presente trabalho foram contrários aos obtidos por Pincelli (2010) para a variedade mencionada.

Sob estresse hídrico, Silva et al. (2007) observaram que o grupo dos genótipos tolerantes manteve maiores valores de índice SPAD (15%) do que os sensíveis.

Ferreira (2010) avaliando a tolerância diferencial de variedades de cana a estresse por herbicidas verificou que CTC2 e SP80-3280 foram as mais tolerantes aos herbicidas, mantendo valores de SPAD mais próximos da testemunha. Os resultados do presente trabalho corroboram com os obtidos por Ferreira (2010).

Segundo Guimarães (2011), aos 20 dias de déficit hídrico as variedades CTC2 e SP83-2847 tiveram pouca redução no conteúdo relativo de clorofila (20%) enquanto a SP83-5073 reduziu 35%. Com exceção do dado da SP83-2847, os resultados desse trabalho mostram a mesma tendência observada por Guimarães (2011) para as variedades CTC2 e SP83-5073.

4.2 Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm)

Segundo Krause e Weis (1991), a presença de condições ambientais estressantes levam ao decréscimo característico na eficiência quântica potencial do PSII, podendo ser detectada pela queda na relação **Fv/Fm**, conforme já mencionado.

Em plantas sob condições de estresse, uma das causas da menor eficiência fotossintética é o início do processo de fotoinibição, quando a capacidade de fotoproteção é excedida, sendo indicado pelo declínio na relação **Fv/Fm**, acompanhado pelo aumento de **Fo**, devido à redução excessiva da cadeia de transporte de elétrons (OSMOND, 1994).

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

Pela análise de variância, observaram-se efeitos significativos na variável Fv/Fm promovido pelo fator variedades na avaliação após 48 horas ($p < 0,01$) e doses nas avaliações após 24 e 48 horas ($p < 0,001$). O efeito da interação entre as variedades x doses não foi significativo em nenhuma das avaliações (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise de variância da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat

Causas de Variação	G.L	Valores de F		
		24 horas Fv/Fm	48 horas Fv/Fm	40 dias (960 horas) Fv/Fm
Variedades	3	1,41	2,41 ***	0,67
Doses	4	87,96 **	104,92 **	1,27
Variedades x Doses	12	0,34	0,55	0,39
Resíduo	60			
Total	79			
CV(%)		35,49	33,39	2,87

G.L.: Graus de liberdade; **: significativo ($p < 0,001$); ***: significativo ($p < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação.

Após 24 horas da aplicação do paraquat Fv/Fm, não houve diferença significativa entre variedades dentro de cada dose. (Tabela 7).

Analisando dentro de cada variedade, após 24 e 48 horas, as variedades CTC2, SP83-2847 e SP83-5073 apresentaram redução nos valores de Fv/Fm comparando as doses D1, D2, D3 e D4 com a dose D0. Apenas a SP80-3280 mostrou valores de Fv/Fm na dose D1 iguais ao da dose D0 nas avaliações após 24 e 48 horas da aplicação dos tratamentos (Tabelas 7 e 8). Ainda na avaliação após 24 horas, não houve diferença significativa entre as doses D3 e D4 para nenhuma das variedades (Tabela 7).

Tabela 7 - Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	24 horas	0,754 Aa	0,487 Ba	0,296 Ca	0,167 Ca	0,079 Ca
SP80-3280	24 horas	0,752 Aa	0,585 Aa	0,343 Ba	0,162 Ca	0,091 Ca
SP83-2847	24 horas	0,773 Aa	0,474 Ba	0,217 Ca	0,049 Ca	0,092 Ca
SP83-5073	24 horas	0,758 Aa	0,478 Ba	0,257 Ca	0,058 Da	0,038 Da

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Analizando dentro de cada dose, após 48 horas, na dose D3, CTC2 e SP80-3280 mostraram valores de Fv/Fm superiores aos da SP83-2847 e SP83-5073. Além disso, a SP80-3280 apresentou valores estatisticamente iguais nas doses D2 e D3 (Tabela 8).

Nas avaliações após 24 e 48 horas, tanto para o teor de clorofila (CC) quanto para Fv/Fm, as variedades CTC2 e SP80-3280 apresentaram na dose D3, valores superiores aos das variedades SP83-2847 e SP83-5073, porém só observada diferença significativa na avaliação após 48 horas para Fv/Fm (Tabela 8).

Tabela 8 - Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	48 horas	0,779 Aa	0,604 Ba	0,288 Ca	0,175 Ca	0,092 Ca
SP80-3280	48 horas	0,757 Aa	0,652 Aa	0,285 Ba	0,238 Ba	0,069 Ca
SP83-2847	48 horas	0,785 Aa	0,518 Ba	0,195 Ca	0,033 Cb	0,044 Ca
SP83-5073	48 horas	0,781 Aa	0,528 Ba	0,266 Ca	0,051 Db	0,030 Da

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Na avaliação 40 dias após a aplicação do paraquat, nenhuma variedade teve seu Fv/Fm afetado, independentemente da dose utilizada (Tabela 9).

Tabela 9 - Eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	960 horas	0,744 Aa	0,763 Aa	0,742 Aa	0,754 Aa	0,763 Aa
SP80-3280	960 horas	0,757 Aa	0,753 Aa	0,749 Aa	0,754 Aa	0,775 Aa
SP83-2847	960 horas	0,752 Aa	0,762 Aa	0,766 Aa	0,771 Aa	0,762 Aa
SP83-5073	960 horas	0,76 Aa	0,758 Aa	0,752 Aa	0,764 Aa	0,769 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Provavelmente, o estresse oxidativo imposto às plantas não ocasionou fotoinibição por um longo período, pois na avaliação 40 dias após a aplicação do paraquat, nenhuma variedade mostrou valores de Fv/Fm diferentes, independentemente da dose utilizada (Tabela 9). Esse fato sugere a ausência de danos severos no complexo coletor de luz do PSII, conforme o exposto por Queiroz et al. (2002) para plantas de aroeira sob déficit hídrico.

Uma das prováveis razões também é que o paraquat é um produto que não apresenta translocação pelo floema, portanto a folha +1, medida aos 40 dias após a aplicação, tinha ausência de sintomas do produto e, portanto, com eficiência quântica e conteúdo de clorofila normais.

Considerando todas as doses nas avaliações após 24 e 48 horas, as variedades que apresentaram menor redução média de Fv/Fm nas avaliações após 24 e 48 horas foram CTC2 (64%) e SP80-3280 (60%), enquanto as que apresentaram maior redução média foram SP83-2847 (74%) e SP83-5073 (72%).

Para as avaliações realizadas 24 horas após a aplicação dos tratamentos, as variedades não reduziram o conteúdo de clorofila, porém foi observada diferença significativa para Fv/Fm.

O paraquat é um herbicida de ação rápida, porém não age diretamente sobre a síntese de clorofila, assim é explicável que o teor de clorofila não seja mudado as 24 h depois de sua aplicação, mas a eficiência quântica é afetada pois o paraquat atua desestruturando (destruindo) as membranas imediatamente após sua aplicação. A eficiência quântica é afetada com a membrana destruída, mesmo sendo o teor de

clorofila normal, pois a captura de luz pela clorofila depende de sua estruturação na membrana, como pigmentos antena.

Em *A. thaliana* a fotossíntese pode ser reduzida antes que qualquer variação no conteúdo de clorofila seja perceptível, nos estágios finais de desenvolvimento. A combinação de alto conteúdo de clorofila e baixa assimilação de CO₂ pode causar um desbalanço entre a captura e dissipação de energia resultando em fotoinibição e senescência (STESSMAN et al., 2002).

Em seu estudo para caracterização de variedades de cana-de-açúcar submetidas a déficit hídrico, Guimarães (2011) identificou que as variedades CTC2, SP83-2847 e SP83-5073 sofreram a menor redução de Fv/Fm, cerca de 10%, em relação ao controle, enquanto para CTC5, CTC13, CTC14, SP90-1638 e SP90-3414 os decréscimos foram superiores a 20%. As diferenças foram observadas aos 20 dias de déficit hídrico. Os resultados obtidos para a CTC2 no presente trabalho estão de acordo com os obtidos por Guimarães (2011) para a mesma variedade.

Gonçalves (2008), estudando cana de açúcar sob restrição hídrica em casa de vegetação, observou reduções de 11,6%, na mesma variável, para a condição de restrição hídrica severa quando comparado ao controle. Do mesmo modo, O'Neill et al. (2006) obtiveram reduções de 7,8% em híbridos de milho submetidos à deficiência hídrica.

Submetidas à deficiência hídrica de 28 e 56 dias, Pincelli (2010) observou que o Fv/Fm teve menor redução na variedade SP83-2847 (aproximadamente 5%) comparada às sensíveis (aproximadamente 16%), o que não corresponde ao observado no presente trabalho.

Sob estresse hídrico, Silva et al. (2007) observaram que o grupo dos genótipos tolerantes manteve maiores valores de Fv/Fm (8%) em relação aos sensíveis.

A manutenção de Fv/Fm elevada, assim como o conteúdo de clorofila, sob maior déficit hídrico tem sido correlacionada com a tolerância à seca em gramíneas, milho e girassol (COLOM; VAZZANA, 2003; O'NEILL et al., 2006; GIMENEZ et al., 1992).

Silva et al. (2007) mostraram que a técnica de fluorescência da clorofila a mostrou ser confiável em diferenciar entre cultivares de cana-de-açúcar tolerantes e sensíveis a deficiência hídrica, além de não ser destrutiva e de fácil obtenção por meio da fluorometria.

4.3 Avaliação da fitotoxicidade (NF)

Pela análise de variância, observaram-se efeitos significativos na variável nota de fitotoxicidade promovido pelos fatores variedades e doses na avaliação após 24 horas ($p < 0,001$) e doses nas avaliações após 48 horas e 40 dias (960 horas) ($p < 0,001$). O efeito da interação entre as variedades x doses não foi significativo em nenhuma das avaliações (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise de variância da nota de fitotoxicidade em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat

Causas de Variação	G.L	Valores de F		
		24 horas	48 horas	40 dias (960 horas)
		Fitotoxicidade	Fitotoxicidade	Fitotoxicidade
Variedades	3	2,99 **	1,79	1
Doses	4	880,46 **	131,88 **	178,33 **
Variedades x Doses	12	1,48	1,72	0,66
Resíduo	60			
Total	79			
CV(%)		9,72	23,45	18,32

G.L.: Graus de liberdade; **: significativo ($p < 0,001$); ***: significativo ($p < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação.

Analisando dentro de cada variedade, após 24 , 48 horas e 40 dias (960 horas), todas as variedades apresentaram aumento nos valores de nota de fitotoxicidade comparando as doses D1, D2, D3 e D4 com a dose D0 (Tabelas 11, 12 e 13).

Quando avaliamos dentro de cada dose, após 24 horas, nas doses D1 e D2, CTC2 e SP80-3280 mostraram valores de nota de fitotoxicidade inferiores aos da SP83-2847 e SP83-5073. Na dose D3, CTC2 e SP83-2847 mostraram valores de nota de fitotoxicidade inferiores aos da SP80-3280 e SP83-5073 (Tabela 11).

Tabela 11 – Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 24 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	24 horas	0 Ea	2,2 Db	4,1 Cb	5,6 Bb	7,7 Aa
SP80-3280	24 horas	0 Ea	2,4 Db	4,1 Cb	6,0 Ba	7,6 Aa
SP83-2847	24 horas	0 Ea	2,7 Da	4,6 Ca	5,7 Bb	7,4 Aa
SP83-5073	24 horas	0 Ea	2,8 Da	4,8 Ca	6,3 Ba	7,5 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Analizando dentro de cada dose, após 48 horas, na dose D1, CTC2 e SP80-3280 mostraram valores de nota de fitotoxicidade inferiores aos da SP83-2847 e SP83-5073. Nas doses D1, D2 e D3, a CTC2 mostrou os menores valores para nota de fitotoxicidade (Tabela 12).

Tabela 12 – Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 48 horas da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	48 horas	0 Ea	2,9 Db	4,1 Cb	6,2 Bb	7,8 Aa
SP80-3280	48 horas	0 Da	2,9 Cb	5,3 Ba	7,9 Aa	8,1 Aa
SP83-2847	48 horas	0 Da	3,9 Ca	5,8 Ba	7,4 Aa	7,4 Aa
SP83-5073	48 horas	0 Da	3,4 Ca	5,5 Ba	7,3 Aa	7,6 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Quando a análise se faz dentro de cada dose, após 40 dias (960 horas), na dose D1, CTC2 e SP80-3280 mostraram valores de nota de fitotoxicidade inferiores aos da SP83-2847 e SP83-5073 (Tabela 13).

Tabela 13 – Nota de fitotoxicidade entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	960 horas	0 Da	3,1 Cb	4,9 Ba	5,8 Aa	5,8 Aa
SP80-3280	960 horas	0 Da	3,3 Cb	5,3 Ba	5,8 Ba	6,5 Aa
SP83-2847	960 horas	0 Ca	4,1 Ba	5,2 Aa	6,0 Aa	5,8 Aa
SP83-5073	960 horas	0 Ca	3,2 Bb	5,1 Aa	5,5 Aa	5,7 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Considerando a dose D1 em todas as avaliações, as variedades CTC2 e SP80-3280 foram as que apresentaram menores efeitos visuais decorrentes da aplicação do paraquat. Se considerarmos as doses D2 e D3 nas duas primeiras avaliações, a variedade CTC2 foi a que apresentou os menores efeitos visuais decorrentes da aplicação do paraquat.

Considerando todas as doses nas avaliações após 24, 48 horas e 40 dias (960 horas), a variedade que apresentou a menor nota média de fitotoxicidade (NF) foi CTC2 (5,0). As demais notas médias foram SP80-3280 (5,4), SP83-5073 (5,4) e SP83-2847 (5,5).

4.4 Fitomassa fresca (MF - kg/planta)

O Paraquat é altamente reativo com os lipídeos das membranas celulares, promovendo sua peroxidação. Com a degradação das membranas, há um vazamento do suco celular e a morte do tecido. Por se tratar de um inibidor de fotossistema II, irá ocasionar um atraso no crescimento, pois reduz a eficiência do fotossistema (VARGAS et al., 1999; CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

Pela análise de variância, observaram-se efeitos significativos na variável massa fresca promovido pelos fatores variedades e doses na avaliação após 40 dias (960 horas) ($p < 0,001$). O efeito da interação entre as variedades x doses não foi significativo (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise de variância da fitomassa fresca em cana-de-açúcar sob efeito de variedades e doses de paraquat

Causas de Variação	G.L	Valores de F
		40 dias (960 horas)
		Massa fresca (kg/planta)
Variedades	3	7,41 **
Doses	4	16,03 **
Variedades x Doses	12	0,73
Resíduo	60	
Total	79	
CV(%)		19,41

G.L.: Graus de liberdade; **: significativo ($p < 0,001$); ***: significativo ($p < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação.

Analizando dentro de cada variedade, aos 40 dias (960 horas), a variedade CTC2 só apresentou redução de peso a partir da dose D3, enquanto SP83-5073 e SP83-2847 mostraram redução de peso a partir da dose D2 e SP80-3280 já na dose D1 (Tabela 15).

Considerando dentro de cada dose, na dose D3, a SP80-3280 mostrou um valor de massa fresca superior às demais variedades (Tabela 15).

Tabela 15 – Massa fresca (kg/planta) entre as 4 variedades de cana-de-açúcar após 40 dias (960 horas) da aplicação das cinco doses de paraquat (D)

Variedades	Avaliação	D0 (0,0 g/ha)	D1 (25 g/ha)	D2 (50 g/ha)	D3 (100 g/ha)	D4 (200 g/ha)
CTC2	960 horas	0,52 Ab	0,49 Aa	0,49 Aa	0,36 Bb	0,37 Ba
SP80-3280	960 horas	0,73 Aa	0,58 Ba	0,52 Ba	0,50 Ba	0,46 Ba
SP83-2847	960 horas	0,58 Ab	0,61 Aa	0,45 Ba	0,37 Bb	0,39 Ba
SP83-5073	960 horas	0,54 Ab	0,52 Aa	0,42 Ba	0,34 Bb	0,33 Ba

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro da coluna, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro da linha, não apresentam diferença pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Considerando todas as doses, a variedade que apresentou menor redução média de massa fresca foi a CTC2 (18%), seguida pela SP83-2847 (25,4%) e SP83-5073 (25,5%). A SP80-3280 apresentou queda de 30,3%.

Sob estresse hídrico, Silva et al. (2007) observou que o grupo dos genótipos tolerantes mostraram menores reduções nos valores de massa fresca (7%) em relação aos sensíveis (25%).

Ferreira et al. (2010) avaliando a tolerância diferencial de variedades de cana a estresse por herbicidas verificaram que CTC2, SP83-2847 e SP80-3280 foram as mais tolerantes aos herbicidas mantendo valores de massa fresca mais próximos da testemunha.

5 CONCLUSÕES

A resposta ao estresse oxidativo causado pela aplicação de paraquat nas plantas de cana-de-açúcar varia em função do parâmetro medido, da variedade, doses do herbicida e momento da avaliação.

Os momentos da avaliação dos parâmetros fisiológicos que medem o estresse oxidativo nas plantas de cana-de-açúcar, de 24 e 48 horas após a aplicação do paraquat, resultam nas melhores respostas para identificar as diferenças fisiológicas de comportamento ao estresse oxidativo dentre as variedades.

Após 24 horas da aplicação do paraquat, mesmo não afetando o conteúdo de clorofila (CC), a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) é afetada nas variedades estudadas, porém não há diferenças entre as variedades dentro de cada dose.

Aos 40 dias após a aplicação dos tratamentos, nenhuma variedade mostra redução nos parâmetros conteúdo de clorofila (CC) e eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm), independente da dose utilizada.

A nota visual de fitotoxicidade (NF) é o único parâmetro avaliado que apresenta diferenças significativas em todas as variedades, em todos os períodos de avaliação nas doses diferentes da dose D0.

O conteúdo relativo de clorofila estimado através do índice SPAD, a técnica de eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm), a nota visual de fitotoxicidade (NF) e a massa fresca (MF) são influenciados negativamente pelos tratamentos de doses do paraquat.

Os padrões de resposta dos aspectos fisiológicos ao estresse oxidativo estudado nesta pesquisa, ocasionado pela aplicação do paraquat nas variedades consideradas tolerantes ao déficit hídrico, não indicam claramente que são diferentes dos padrões de resposta ao estresse oxidativo ocasionado pelo déficit hídrico, fato que não corrobora claramente com a hipótese de que variedades tolerantes ao estresse oxidativo ocasionado por herbicidas também seriam tolerantes ao déficit hídrico. No entanto, os parâmetros eficiência quântica e teor de clorofila necessitam de maior atenção em futuras pesquisas, pois há indicações nesta pesquisa de que podem ser bons parâmetros de análise, desde que associado a doses e épocas de aplicação adequadas.

REFERÊNCIAS

- ALFONSI, R.R.; PEDRO JÚNIOR, M.T.; BRUNINI, O.; BARBIERI, V. Condições climáticas para a cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 42-55.
- ANGELOPOULOS, K.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 301, p. 1093-1100, 1996.
- ANGELOVA, M.B.; PASHOVA, S.B.; SLOKOSKA, L.S. Comparison of antioxidant enzyme biosynthesis by free and immobilized *Aspergillus nidulans* cells. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 26, n. 9, p. 544-549, 2000.
- ARANHA, C.; YAHN, C.A. Botânica da cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 3-14.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; BORTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M.L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, p. 158-167, 2001.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of reactive oxygens and dissipation of excess photons, **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 601-639, 1999.
- AZANIA, C.A.M.; ROLIM, J.C.; CASAGRANDE, A.A.; LAVORENTI, N.A.; AZANIA, A.A.P.M. Seletividade de herbicidas. II - Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época das chuvas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, p. 669-675, 2005.
- _____. Seletividade de herbicidas. III - Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época da estiagem. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 489-495, 2006.
- BACCHI, O.O.S.; SOUSA, J.A.G.C. Minimum threshold temperature for sugar cane growth. In: CONGRESS OF THE SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 1., 1978, London. **Proceedings...** London: ISSCT, 1978. v. 2, p. 1733-1741.
- BARELA, J.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcar (RB867515) tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 371-378, 2006.
- BARBIERI, V. **Medidas e estimativas de consumo hídrico em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.)**. 1981. 142 p. Dissertação (Doutorado em Solos e nutrição de plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1981.

BASNAYAKE, J.; COOPER, M.; LUDLOW, M.M.; HENZELL, R.G.; SNELL, P.J. Inheritance of osmotic adjustment to water stress in three grain-sorghum crosses. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 90, n. 5, p. 675-682, 1995.

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

BENAVIDES M.P.; GALLEGOS S.M.; COMBA M.E.; TOMARO M.L. Relationship between polyamines and paraquat toxicity in sunflower leaf discs. **Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 31, p. 215-224, 2000.

BENDA, G.T.A. Numbering sugarcane leaves and shoots. **Sugarcane Pathology Newsletter**, Baton Rouge, n. 3, p. 16-18, 1969.

BILGER, W.; SCHREIBER, U.; BOCK, M. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia**, Berlin, v. 102, p. 425-432, 1995.

BLANCO, F.M.G. **Persistência do herbicida sulfentrazone em solos cultivados com cana-de-açúcar e soja e seu efeito em culturas sucedâneas**. 2002. 114 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

BÔLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; ÖQUIST, G.O. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BÔLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P. **Photosynthesis and production in a changing environment**, London: Chapman & Hall, 1993. chap. 12, p. 193-206.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 22 mar. 2013.

BUNCE, J. Nonstomatal inhibition of photosynthesis by water stress – reduction in photosynthesis at high transpiration rate without stomatal closure in field-grown tomato. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 18, n. 3, p. 357-362, 1988.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila A**: considerações teóricas e aplicações práticas. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO_CCTA_1629_1112121492.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2013.

CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; FERREIRA, R.R.; FIGUEIRA, A.V.O.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, p. 136-142, 2009.

CECHIN, I. Uso de sistemas portáteis de fluorescência na avaliação do estresse. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 20., 1996, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 1996. p. 1-28.

CHAOUI, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M.H.; FERJANI, E.L. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidants enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, Clare, v. 127, n. 2, p. 139-147, 1997.

CHAVES, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, p. 1-16, 1991.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas - HRAC-BR, 2008. p. 9-34.

CLAUSSEN, W. Proline as a measure of stress in tomato plants. **Plant Science**, Clare, v. 168, n. 1, p. 241-248, 2005.

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

CRUZ DE CARVALHO, M.H. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, Georgetown, v. 3, n. 3, p. 156-165, 2008.

DUVICK, D.N.; SMITH, J.S.C.; COOPER, M. Long-term selection in a commercial hybrid maize breeding program. **Plant Breeding Reviews**, Hoboken, v. 24, n. 2, p. 109-151, 2004.

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

FERREIRA, E.A.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; VENTRELLA, M.C.; BARBOSA, M.H.P.; PROCÓPIO, S.O.; REBELLO, V.P.A. Sensibilidade de cultivares de cana-de-açúcar à mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, p. 93-99, 2005.

FERREIRA, R.R.; OLIVEIRA, F.T.R.; DELITE, F.S.; AZEVEDO, R.A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P. de; CHRISTOFFOLETI, P.J.; FIGUEIRA, A.V.O. Tolerância diferencial de variedades de cana-de-açúcar a estresse por herbicidas. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 2, p. 249-252, 2010.

FOYER, C.H.; DESCOURVIERES, P.; KUNERT, K.J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environmental**, Oxford, v. 17, p. 507-523, 1994.

FRACHEBOUD, Y. **Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis.**

Disponível em:

<<http://jaguar.fcav.unesp.br/download/deptos/biologia/durvalina/TEXT0-71.pdf>>.

Acesso em: 05 fev. 2013.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence.

Biochimica et Biophysica Acta, Oxford, v. 990, n. 1, p. 87-92, 1989.

GIMEMEZ, C.; MITCHELL, V.J.; LAWLOR, D.W. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, n. 2, p. 516-524, 1992.

GOLLAN, T.; PASSIOURA, J.B.; MUNNS, R. Soil-water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 13, n. 4, p. 459-464, 1986.

GONÇALVES, E. R. **Fotossíntese, osmorregulação e crescimento inicial de quatro variedades de cana-de-açúcar submetida à deficiência hídrica.** 2008.

66 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo, 2008.

GRAÇA, J.P.; RODRIGUES, F.A.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N; HOFFMANCAMPO, C.B.; ZINGARETTI, S.M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 22, n. 3, p. 189-197, 2010.

GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 32, p. 481-494, 2005.

GUIMARÃES, A.C.R. **Caracterização de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) submetidas a déficit hídrico.** 2011. 66 p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

GUO, Z.; OU, W.; LU, S.; ZHONG, Q. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 44, n. 11, p. 828-836, 2006.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance, **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 57, n. 5, p. 715-725, 1993.

HARE, P.D.; CRESS, W.A.; VAN STADEN, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 21, n. 6, p. 535-553, 1998.

HAVAUX, M.; NIYOGI, K.K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 96, p. 8762-8767, 1999.

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

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Killington, v. 6, n. 1, p. 431-438, 2001.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201302.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2013.

JONES, C.A. **C4 grasses and cereals: growth, development and stress response**. New York: John Wiley, 1985. 419 p.

KELLING, C.R.S. **Efeito da disponibilidade de água no solo sobre os componentes do balanço hídrico e o rendimento do feijoeiro**. 1995. 91 p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1995.

KELLOS, T.; TIMAR, I.; SZILAGYI, V.; SZALAI, G.; GALIBA, G.; KOCSY, G. Stress hormones and abiotic stresses have different effects on antioxidants in maize lines with different sensitivity, **Plant Biology**, Collingwood, v. 10, n. 5, p. 563-572, 2008.

KNIGHT, H.; KNIGHT, M.R. Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. **Trends in Plant Science**, Killington, v. 6, n. 6, p. 262-267, 2001.

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

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 313-349, 1991.

KUVA, M.A. **Efeito de períodos de convivência e de controle das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) no estado de São Paulo**. 1999. 74 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

KUVA, M.A.; GRAVENA, R.; PITELLI, R.A.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; ALVES, P.L.C.A. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana de açúcar. III - Capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colonião (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, p. 37-44, 2003.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 531 p.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses: physiological ecology**. New York: Academic Press, 1972. 697 p. (A Series of Monographs, Texts, and Treatises, 1).

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

LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Manejo de plantas daninhas na cultura do milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ, 2003. p. 47-79.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas em plantio direto e convencional**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1994. 299 p.

LUCCHESI, A.A. Processos fisiológicos da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp). **Boletim Técnico da ESALQ/CENA**, Piracicaba, n. 7, p. 1-50, 1985.

MATSUOKA, S.; GARCIA, A.A.F.; ARIZONO, H. Melhoria da cana-de-açúcar. In: BORÉM, A (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 205-252.

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

MCCREE, K.J.; FERNANDEZ, C.J. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. **Crop Science**, Madison, v. 29, n. 2, p. 353-360, 1989.

MINOLTA.C. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka: Minolta, Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22 p.

MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants, **Current Science**, Bangalore, v. 80, n. 6, p. 758-763, 2001.

NEGRISOLI, E.; VELINI, E.D.; TOFOLI, G.R.; CAVENAGHI, A.L.; MARTINS, D.; MORELLI, J.L.; COSTA, A.G.F. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura de cana-de-açúcar tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, p. 567-575, 2004.

NOVARETTI, W.R.T. **Efeitos de diferentes níveis de populações iniciais de *Meloidogyne javanica* em duas variedades de cana de açúcar (*Saccharum spp.*) cultivadas no Estado de São Paulo**. 1981. 100 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1981.

_____. **Controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* (Nemata: Tylenchoidea) em cana de açúcar com nematicidas, associados ou não à matéria orgânica.** 1997. 51 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

O’NEILL, P.M.; SHANAHAN, J.F.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 2, p. 681-687, 2006.

OSMOND, C.B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of sun and shade plants. In: BAKER, N.R.; BOWYER, J.R. **Photoinhibition and photosynthesis: from molecular mechanisms to the field.** Oxford: Bios Scientific Publ., 1994. chap. 1, p. 1-24.

PANDHAIR, V.; SEKHON, B.S. Reactive oxygen species and antioxidants in plants: an overview. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, New Delhi, v. 15, n. 2, p. 71-78, 2006.

PINCELLI, R.P. **Tolerância a deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas.** 2010. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

PITELLI, R.A. Interferências de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, p. 16-27, 1985.

PITZSCHKE, A.; FORNAZI, C.; HIRT H. Reactive oxygen species signaling in plants. **Antioxidants and Redox Signaling**, New York, v. 8, n. 9, p. 1757-1764, 2006.

POLLE, A. Dissecting the superoxide dismutase–ascorbate–glutathione pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a first step towards flux analysis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, n. 1, p. 445–462, 2001.

PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; VARGAS, L. Manejo e controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 397-452.

QUEIROZ, C.G.S.; GARCIA, Q.S.; LEMOS-FILHO, J.P. Photosynthetic activity and membrane lipid peroxidation of aroeira-do-sertão plants under water stress and after rehydration. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2002.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas.** 5. ed. Londrina: Grafmarke Editora, 2005. 592 p.

ROLIM, J.C.; CHISTOFFOLETI, P.J. **Tolerância de variedades de cana-de-açúcar ao herbicida tebuthiuron.** Piracicaba: IAA - PLANALSUCAR, 1982. 10 p.

ROMERO-PUERTAS, M.C.; PALMA, J.M.; GÓMES, M.; DEL RIO, L.A.; SANDALIO, L.M. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. **Plant Cell & Environment**, Oxford, v. 25, n. 5, p. 677-686, 2002.

SALLA, L.; RODRIGUES, J.C.; MARENCO, R.A. Teores de clorofila em árvores tropicais determinados com o SPAD-502. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 159-161, 2007.

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

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, Washington, v. 10, n. 1, p. 51-62, 1986.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SHARKEY, T. Water stress effects on photosynthesis. **Photosynthetica**, Madison, v. 24, n. 4, p. 651-651, 1990.

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

SIMPSON, G.M. **Water stress on plants**. New York: Praeger Publ., 1981. 324 p.

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

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina, 1995. 42 p.

SOUZA, J.R.; PERECIN, D.; AZANIA, C.A.M.; SCHIAVETTO, A.R.; PIZZO, I.V. CANDIDO, L.S. Tolerância de cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós-emergência. **Bragantia**, Campinas, v. 68, p. 941-951, 2009.

STESSMAN, D.; MILLER, A.; SPALDING, M.; RODERMEL, S. Regulation of photosynthesis during Arabidopsis leaf development in continuous light. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 72, n. 1, p. 21-37, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução de L.R. Santarém. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TÜRKAN, I.; BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; KOCA, H. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. **Plant Science**, Clare, v. 168, n. 1, p. 223-231, 2005.

UNIÃO DAS INDÚSTRIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Avaliação da safra 2009/2010**. São Paulo, 2009. 39 p.

_____. **Estimativa da safra 2013/2014**. São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/documentos/apresentacoes/cana-de-acucar/>>. Acesso em 15 jul. 2013.

VAN RENSBURG, L.A.S.; KRUGER, G.H.J. Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.143, n. 6, p. 730-737, 1994.

VARGAS, L.; SILVA, A.A. da; BORÉM, A.; REZENDE, S.T.; FERREIRA, F.A.; SEDIYAMA, T. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa: Jard Editora, 1999. 131 p.

VELINI, E.D.; FREDERICO, L.A.; MORELLI, J.L.; KOJIMA, K. Avaliação dos efeitos do herbicida clomazone, aplicado em pós-emergência, sobre o crescimento e produtividade de soqueiras de nove cultivares de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 5., 1993, Águas de São Pedro. **Anais...** Piracicaba: STAB, 1993. p.125-128.

VERSLUES, P.E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J.K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, Michigan, v. 45, p. 523-539, 2006.

XIONG, L.; SCHUMAKER, K.S.; ZHU, J.K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. **The Plant Cell**, Oxford, v. 14, p. 165-183, 2002.

WALZ MESS-UND REGELTECHNIK. **Portable chlrophyll fluorometer PAM-2000 and data aquisition software DA-2000**. Effeltrich, 1993. 199 p.

WASKOM, R.M.; WESTFALL, D.G.; SPELLMAN, D.E.; SOLTANPOUR, P.N. Monitoring nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 27, p. 545-560, 1996.

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