

PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E ÍNDICE SPAD COMO DESCRITORES DE INTENSIDADE DO ESTRESSE POR DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM CANA-DE-AÇÚCAR

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND SPAD INDEX AS DESCRIPTORS OF WATER DEFICIT STRESS INTENSITY IN SUGAR CANE

Marcelo de Almeida SILVA¹; Claudiana Moura dos SANTOS²;
Hermeson dos Santos VITORINO²; Andressa Freitas de Lima RHEIN²

1. Professor, Doutor, Faculdade de Ciências Agrônômicas - FCA, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP, Brasil. marcelosilva@fca.unesp.br; 2. Pós-Graduandos - FCA, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal - UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas da cana-de-açúcar submetida à deficiência hídrica por meio de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b*, total *a + b*, relação clorofilas *a/b* e carotenoides) e verificar o uso do índice SPAD como ferramenta de diferenciação de cultivares. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, onde quatro cultivares (IACSP95-5000, RB835054, RB928064 e SP80-3280) foram cultivadas em vasos. Após 65 dias do plantio, foram implementados dois tratamentos, sem deficiência (-D) e com deficiência hídrica (+D). Cultivares de cana-de-açúcar respondem diferentemente em relação aos pigmentos fotossintéticos quando submetidas à deficiência hídrica. As cultivares IACSP95-5000 e RB928064 têm menor efeito do estresse por falta de água, atribuído à capacidade da manutenção dos conteúdos de clorofilas e de carotenoides, além de maiores valores de índice SPAD, sob essa condição. A deficiência hídrica afeta com maior intensidade as cultivares RB835054 e SP80-3280 devido às maiores reduções nos pigmentos fotossintéticos e no índice SPAD. Índice SPAD é correlacionado com conteúdo de clorofilas e carotenoides em cana-de-açúcar e pode ser utilizado como técnica na seleção de cultivares tolerantes à deficiência hídrica em programas de melhoramento genético.

PALAVRAS-CHAVE: *Saccharum* spp.. Cultivares. Clorofila. Carotenoides. Estresse hídrico.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é conhecida como uma cultura muito efetiva para a produção de biomassa, sendo seu uso, principalmente, para a produção de açúcar e biocombustível. Para se ter um bom rendimento produtivo, a cultura deve ter alta produção de colmos e de sacarose.

As clorofilas são pigmentos que refletem a cor verde e estão diretamente associadas com o potencial da atividade fotossintética. A alta eficiência fotossintética pode levar ao incremento de produtividade agrícola, e essa relação está diretamente relacionada com o aproveitamento da radiação disponível por esses pigmentos. As elevadas produtividades obtidas com as gramíneas tropicais (C4) são resultados de elevada eficiência fotossintética conjugada a ambientes favoráveis (BERNARDES, 1987).

Os pigmentos envolvidos na fotossíntese são as clorofilas *a* e *b*, os carotenoides e as ficobilinas. A clorofila *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos

acessórios (STREIT et al., 2005). Os carotenoides são pigmentos amarelos ou alaranjados, mas normalmente sua coloração é mascarada pelas clorofilas. Esses pigmentos situam-se nas lamelas dos cloroplastos, em íntima associação com as clorofilas, o que permite a transferência de energia para as clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A deficiência hídrica dos solos afeta boa parte das áreas cultivadas no mundo, principalmente as situadas em regiões semi-áridas, reduzindo o crescimento e a produção vegetal, provocando prejuízos socioeconômicos (MUNNS, 2002). O estresse por seca é normalmente caracterizado por perda de clorofila e um declínio progressivo na capacidade fotossintética das plantas. O que leva a análise dos pigmentos fotossintéticos a ser uma importante ferramenta para avaliação da sanidade e integridade dos aparatos internos da célula durante o processo de fotossíntese (RONG-HUA et al., 2006) e fornece uma precisa técnica de detecção e quantificação de plantas tolerantes ao estresse hídrico (JABEEN et al., 2008).

O conteúdo de clorofila e carotenoides foliar é obtido por meio de extração pelo uso de extratos orgânicos, tais como a acetona (EFEUGLU et al., 2009), o N, N-dimetilformamida (DMF) (HOLÁ et al., 2010), entre outros, e posterior determinação por

espectrofotometria. Entretanto, esses métodos são destrutivos e demorados (AMARANTE et al., 2010).

Há um método alternativo, que é mais rápido e simples e pode ser muito confiável para a estimativa da concentração de clorofila (JIFON et al., 2005). O medidor portátil de clorofila permite leituras instantâneas da intensidade da cor verde da folha (valor correspondente ao teor relativo de clorofila) sem destruí-la. Os valores são calculados pelo equipamento com base na quantidade de luz transmitida pela folha, em dois comprimentos de ondas, com diferentes absorvâncias da clorofila (TORRES NETTO et al., 2005; AMARANTE et al., 2010).

O medidor de clorofila SPAD-502 pode ser utilizado em plantas intactas em qualquer momento do processo de crescimento das folhas e os valores obtidos podem ser descritos como índice, valor ou leitura SPAD (MINOLTA, 1989). Alguns pesquisadores têm demonstrado a existência de relação entre índice de esverdeamento e o teor de clorofila da folha em várias espécies de plantas, como citrus (JIFON et al., 2005), café (TORRES NETTO et al., 2005), e em folhas de diversos cereais como milho (ROSTAMI et al., 2008; AMARANTE et al., 2010), trigo, arroz e aveia (ARGENTA et al., 2001). Uma boa associação entre o índice SPAD e o conteúdo de clorofila em plantas submetidas a vários regimes hídricos tem sido relatada, por exemplo, em plantas de cana-de-açúcar (JANGPROMMA et al., 2010a), amendoim (ARUNYANARK et al., 2009) e sorgo (XU et al., 2000). De acordo com Silva et al. (2013), plantas de cana-de-açúcar com longo tempo de seca, cerca de 90 dias, tiveram redução no índice SPAD, sendo mais severa em genótipos susceptíveis.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a intensidade das respostas de quatro cultivares de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica por meio de pigmentos fotossintéticos e verificar o uso do índice SPAD como ferramenta de diferenciação varietal sob esse estresse abiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Jaú (SP), Brasil, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizada em 22° 15' Latitude Sul e 48° 33' Longitude Oeste, numa altitude de 580 m acima do nível do mar.

As mudas foram obtidas por meio de brotação das gemas provenientes de toletes de mesma idade. Durante os meses de março e julho de 2010 as plantas foram cultivadas em vasos de 22 litros, preenchidos com substrato Plantmax® (produto estéril elaborado a base de vermiculita expandida e material orgânico, contendo macro e micronutrientes necessários ao desenvolvimento inicial das mudas) misturados a 55 g do fertilizante formulado 8-28-16. Durante o experimento, a temperatura média do ar foi 24,3±4,8 °C, a umidade relativa média diária 58,6%, enquanto a média diária da radiação fotossinteticamente ativa foi de 680 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro cultivares, IACSP95-5000, RB835054, RB928064 e SP80-3280, e de duas condições de regimes hídricos, isto é, sem deficiência hídrica e com deficiência hídrica por 67 dias.

Do plantio até 63 dias após o plantio (DAP) todos os vasos receberam água na mesma quantidade. Aos 63 DAP foram iniciados os tratamentos sem deficiência hídrica (-D) e com deficiência hídrica (+D). No tratamento -D as plantas foram hidratadas com quantidade necessária para manter o teor de umidade ideal no substrato, em torno de 22% (que corresponde a 100% da capacidade de retenção do vaso) para o desenvolvimento das plantas, enquanto no tratamento +D as plantas foram mantidas com 50% do teor dessa umidade. O monitoramento de umidade nos vasos foi realizado por meio do medidor ECH₂O (Decagon, Washington, EUA), acoplado a sensores dielétricos Echo Check (Decagon, Washington, EUA) de 10 cm de comprimento inseridos nos vasos. As avaliações foram realizadas em três épocas, aos 0, 35 e 67 dias após o início dos tratamentos (DAT).

O monitoramento do índice SPAD (Soil Plant Analyzer Develop) foi obtido utilizando-se um clorofilômetro portátil (SPAD-502 Minolta Corp., Ramsey, Nova Jersey, EUA). As leituras foram realizadas entre as 8 e 10 horas da manhã nos terços superior, médio e inferior da folha +1, sendo posteriormente obtida a média geral das diferentes partes da folha.

Os teores dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b*, total *a+b*, relação clorofila *a/b* e carotenoides *c*) foram avaliados retirando-se da folha +1 discos foliares de 7,0 mm de diâmetro e colocados em 2 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) por 24 h, sendo posteriormente retirado 1 mL do extrato em seguida adicionado em 1 mL de água deionizada para leitura em espectrofotômetro

nos comprimentos de onda 480, 647 e 664 nm, segundo metodologia de Wellburn (1994).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2 (cultivares x regimes hídricos), com quatro repetições. Os dados obtidos de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância com comparações entre médias dos tratamentos experimentais pelo teste F seguido da aplicação do teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SPSS 15.0. Fez-se análise de regressão entre teor de clorofila total e leitura do clorofilômetro e entre teor de carotenoides e leitura do clorofilômetro. A associação entre as variáveis foi feita pela análise de correlação linear simples de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de clorofila *a* não apresentou diferenças entre as cultivares e entre os regimes hídricos avaliados no período inicial de avaliação

(Tabela 1). Aos 35 DAT, apenas a cultivar RB928064 não foi afetada pela deficiência hídrica, e em contrapartida, a maior redução nos valores de clorofila *a* foi verificada na cultivar RB835054, com declínio de 37%. Após 67 dias de deficiência hídrica, as cultivares IACSP95-5000 e RB928064 ainda mantinham conteúdos de clorofila *a* elevados e superiores aos da RB835054 e da SP80-3280 (Tabela 1), que mostraram reduções de 40% e 48,2%, respectivamente. Esses resultados indicam possíveis maiores danos no sistema fotossintético das cultivares RB835054 e SP80-3280 devido à maior degradação da clorofila *a*.

As observações realizadas para conteúdo de clorofila *b*, aos 35 DAT, demonstraram decréscimo no conteúdo de clorofila *b* após a imposição da deficiência hídrica para as cultivares IACSP95-5000 e SP80-3280. Entretanto, foi observado na RB835054 o menor conteúdo de clorofila *b* tanto no tratamento sem quanto no com deficiência hídrica (Tabela 1).

Tabela 1. Conteúdo de clorofila *a*, de clorofila *b* e de clorofila total *a+b* em cultivares de cana-de-açúcar cultivadas em dois regimes hídricos (sem deficiência -D e com deficiência +D), em três épocas de avaliação.

Cultivares	Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)					
	0 DAT		35 DAT		67 DAT	
	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D
IACSP95-5000	41,7aA	41,8 aA	39,8 aA	31,4abB	34,5aA	30,1aA
RB835054	39,8aA	39,3 aA	27,6bA	17,2cB	26,3bA	15,8bB
RB928064	43,7aA	44,8 aA	35,6 aA	35,0aA	36,7aA	32,4aA
SP80-3280	42,9aA	42,3 aA	38,9 aA	27,6bB	34,0aA	17,6bB
C.V. (%)	9,16					
Cultivares	Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)					
	0 DAT		35 DAT		67 DAT	
	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D
IACSP95-5000	13,1aA	13,2abA	13,5aA	11,6aB	9,6bA	10,0aA
RB835054	11,5bA	11,0bA	7,8 bA	6,2 bA	8,4bA	5,5bB
RB928064	13,6aA	14,3aA	12,6aA	12,3aA	12,0aA	11,2aA
SP80-3280	13,6aA	13,3abA	12,0aA	9,9aB	10,6abA	5,9aB
C.V. (%)	9,92					
Cultivares	Clorofila total <i>a+b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)					
	0 DAT		35 DAT		67 DAT	
	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D
IACSP95-5000	48,0 aA	50,2aA	48,1aA	38,4aB	41,1aA	38,1aA
RB835054	48,3 aA	47,8aA	33,1bA	20,7bB	31,6bA	18,9bB
RB928064	51,4 aA	53,8aA	41,1abA	42,0aA	44,3aA	38,9aA
SP80-3280	51,5 aA	50,8aA	48,0aA	34,5aB	41,2aA	21,1bB
C.V. (%)	9,90					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Aos 67 DAT, foram observados os menores conteúdos de clorofila *b* nas cultivares RB835054 e SP80-3280 sob deficiência hídrica, com reduções de aproximadamente 34 e 44%, respectivamente, em relação ao tratamento sem deficiência. A cultivar RB928064 apresentou o maior conteúdo de clorofila

b tanto com deficiência hídrica quanto sem (Tabela 1).

Assim como observado para clorofilas *a* e *b*, aos 35 DAT, o tratamento de deficiência hídrica promoveu pequenas reduções no conteúdo de clorofila total da maioria das cultivares, o que sugere menor dano fotossintético, mas aos 67 DAT

de restrição hídrica, menores reduções foram observadas nas cultivares IACSP95-5000 e RB928064, 7% e 12%, respectivamente, enquanto as cultivares SP80-3280 e RB835054 mostraram as maiores reduções, 48% e 40%, respectivamente (Tabela 1), confirmando que existem diferenças consideráveis entre cultivares na resposta à deficiência hídrica para clorofilas.

Para relação clorofila *a/b*, os resultados observados aos 35 e 67 DAT mostraram menores reduções para as cultivares IACSP95-5000 e RB928064 submetidas à deficiência hídrica quando comparadas ao controle (Tabela 2), enquanto houve maior decréscimo nessa relação na cultivar RB835054, na ordem de 22,2%.

Tabela 2. Relação clorofila *a*/clorofila *b*, carotenoides e índice SPAD em cultivares de cana-de-açúcar cultivadas em dois regimes hídricos, em três épocas de avaliação.

Cultivares	Relação clorofila <i>a/b</i>					
	0 DAT		35 DAT		67 DAT	
	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D	(-) D	(+) D
IACSP95-5000	3,2aA	3,3abA	2,9bA	2,7aA	3,2aA	3,0aA
RB835054	3,5aA	3,6aA	3,6aA	2,8aB	3,1aA	2,9aB
RB928064	3,2aA	3,1bA	3,0bA	2,9aA	3,1aA	2,9aA
SP80-3280	3,2aA	3,2bA	3,1bA	2,8aA	3,2aA	3,0aA
C.V. (%)	5,32					
	Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$)					
IACSP95-5000	22,9aA	22,7aA	20,7aA	18,5aA	16,3bA	16,8 aA
RB835054	20,3aA	20,5aA	14,3bA	10,8cB	14,5bA	9,8bB
RB928064	22,2aA	22,8aA	20,0 aA	18,8aA	19,7aA	18,5aA
SP80-3280	22,9aA	22,7aA	19,2aA	14,9bB	16,1bA	9,3bB
C.V. (%)	7,74					
	Índice SPAD					
IACSP95-5000	50,7aA	49,7aA	48,6aA	45,4aA	42,7abA	42,6aA
RB835054	40,0bA	43,1bA	38,4bA	31,7bB	40,1bA	26,0bB
RB928064	51,4 aA	53,6aA	48,5aA	48,4aA	48,5aA	46,6aA
SP80-3280	50,3aA	47,9abA	44,4aA	33,0bB	41,1bA	24,9bB
C.V. (%)	6,93					

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As clorofilas desempenham papel importante na fotossíntese, sendo responsáveis pela captação de energia luminosa, destacando-se a clorofila *a* como o principal pigmento dos complexos coletores de luz (LHC) para as reações fotoquímicas (TAIZ; ZEIGER, 2009). Assim como ocorreu para clorofila *a*, a degradação da clorofila *b* é uma das consequências da deficiência hídrica, que pode levar à foto-inibição e diminuição da eficiência fotossintética, além de afetar outros processos celulares como a divisão e expansão celular (LONG et al., 1994). Portanto, é esperado que cultivares que mantenham maiores conteúdos desses pigmentos sob deficiência hídrica, têm melhor capacidade de tolerar essa condição, devido à estreita relação entre clorofilas, potencial fotossintético e produtividade (O'NEILL et al., 2006).

De fato, maiores reduções nos teores de clorofila *a* e clorofila *b* como consequência da deficiência hídrica foram encontrados em outros estudos em genótipos suscetíveis de cana-de-açúcar (JANGPROMMA et al., 2010b) e milho (JABEEN

et al., 2008; HOLÁ et al., 2010), e em cana-de-açúcar sob estresse salino (GOMATHI; RAKKIYAPAN, 2011). Nestes estudos os genótipos resistentes aos estresses apresentaram maiores níveis de clorofilas em relação aos genótipos suscetíveis, sugerindo que esses pigmentos são bons indicadores fisiológicos na seleção de genótipos tolerantes.

Em relação aos carotenoides, houve decréscimo dos valores nas cultivares submetidas à deficiência hídrica aos 35 DAT, entretanto maior decréscimo foi observado nas cultivares RB835054 e SP80-3280, com redução de 24,5 e 22,3%, respectivamente, em comparação ao controle (Tabela 2). Aos 67 DAT de restrição hídrica, os resultados observados foram semelhantes aos 35 DAT, porém a maior redução foi verificada na cultivar SP80-3280 (42,2%), enquanto que as cultivares RB928064 e IACSP95-5000 apresentaram conteúdo de carotenoides mais elevados, respectivamente.

Segundo Taiz; Zeiger (2009), além de pigmentos acessórios, os carotenoides desempenham papel essencial na fotoproteção, protegendo o aparelho fotossintético contra o oxigênio singlete ($^1O_2^*$), extremamente reativo, que danifica muitos componentes celulares, como lipídeos. Portanto, esses pigmentos são importantes na prevenção da indução de danos oxidativos causados pelo estresse (WAHID, 2007). Evidenciando neste estudo que cultivares que mantiveram maiores quantidades desses pigmentos durante a deficiência hídrica tiveram maior proteção contra foto-oxidação, enquanto a degradação de carotenoides significou maiores danos nas membranas fotossintéticas nos genótipos sensíveis de cana-de-açúcar.

Variações da perda de teor de carotenoides em cana-de-açúcar também foram registradas em outros estudos quando submetidas à condição de seca (CHA-UM; KIRDMANEE, 2009), estresse salino (GOMATHI; RAKKIYAPAN, 2011) e estresse térmico (WAHID, 2007), sendo que ainda nesses dois últimos casos os autores constataram aumento nas concentrações de carotenoides nos genótipos tolerantes ao estresse.

Para a variável índice SPAD, ao 0 DAT não foi verificada diferença entre os tratamentos com e sem estresse hídrico, apresentando valores médios acima de 40 em todas as cultivares, porém a cultivar RB835054 mostrou menor valor entre as cultivares, representando existência de diferenças varietais (Tabela 2). Já aos 35 e 67 DAT, foram observadas reduções significativas nas cultivares RB835054 e SP80-3280 em resposta ao estresse hídrico, enquanto a IACSP95-5000 e a RB928064 mantiveram valores semelhantes entre os regimes hídricos.

Esses resultados corroboram com os de Silva et al. (2011) que relataram valores de índice SPAD abaixo de 40 em genótipos de cana-de-açúcar sensíveis à deficiência hídrica. Silva et al. (2012) estudando cana-de-açúcar submetida a 70 dias de estresse hídrico verificaram valores médios próximo a 30 índice SPAD em genótipos sensíveis. Em estudo em milho também foi verificada redução do índice SPAD de 42,36 para 35,32 sob deficiência hídrica (MAGALHÃES et al., 2009).

Segundo Torres Netto et al. (2005), leituras SPAD inferiores a 40 indicam o início da deficiência de clorofila, o que afeta o processo fotossintético. De acordo com Silva et al., (2013) e Silva et al. (2012), o clorofilômetro (SPAD-502)

tem se mostrado um bom equipamento para diagnosticar a integridade do sistema fotossintético em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica, e pode assim ajudar nas interpretações avançadas do processo fotoquímico da cultura, sendo considerado assim um bom parâmetro na seleção de genótipos resistentes à seca.

As quantidades de clorofilas totais foram relacionadas às leituras SPAD, nos três períodos de avaliação (Figura 1A, C e E). Os coeficientes de determinação variaram de 0,29 a 0,54 e 0,69 a 0,97, para os tratamentos sem estresse hídrico e com estresse hídrico, respectivamente. Os valores de R^2 foram discrepantes entre as cultivares submetidas ao estresse hídrico e aquelas mantidas em boas condições de umidade. A relação verificada entre o medidor portátil de clorofila e o conteúdo de clorofila extraída evidencia que as leituras efetuadas com o SPAD-502 estimam adequadamente o grau de esverdeamento das folhas de cana-de-açúcar, independente do período estudado.

Observou-se que diferentes cultivares de cana-de-açúcar mostram grande amplitude de resposta do conteúdo de clorofila e índice SPAD à deficiência hídrica (Figura 1A, B e C). Ao 0 DAT, o conteúdo total de clorofilas em relação as leituras SPAD foram similares (Figura 1A). Enquanto, aos 35 DAT, ocorreu diferenciação entre as cultivares tolerantes e susceptíveis sob deficiência hídrica, no qual estas últimas apresentaram valores menores nos teores de clorofila e leitura SPAD (Figura 1C). Aos 67 DAT a diferenciação entre cultivares foi bem mais destacada (Figura 1E).

Quando o conteúdo de carotenoides foi relacionado com o índice SPAD, observou elevados valores de coeficiente de determinação nos três períodos estudados (Figura 1B, D e F). Ao 0 DAT, todas as cultivares tiveram performance semelhante para as duas variáveis (Figura 1B). A relação verificada, aos 35 DAT, mostrou que sob deficiência hídrica, os valores de carotenoides e índice SPAD foram reduzidos em relação ao tratamento sem deficiência, principalmente nas cultivares sensíveis, o que pode ser confirmado pelo coeficiente de determinação de 0,84, aproximadamente (Figura 1D). E da mesma forma como ocorreu para a relação clorofila total e SPAD, aos 67 DAT, as diferenças entre as cultivares foram ampliadas quando submetidas ao estresse hídrico, sendo os valores mais baixos verificados para as cultivares susceptíveis (Figura 1F).

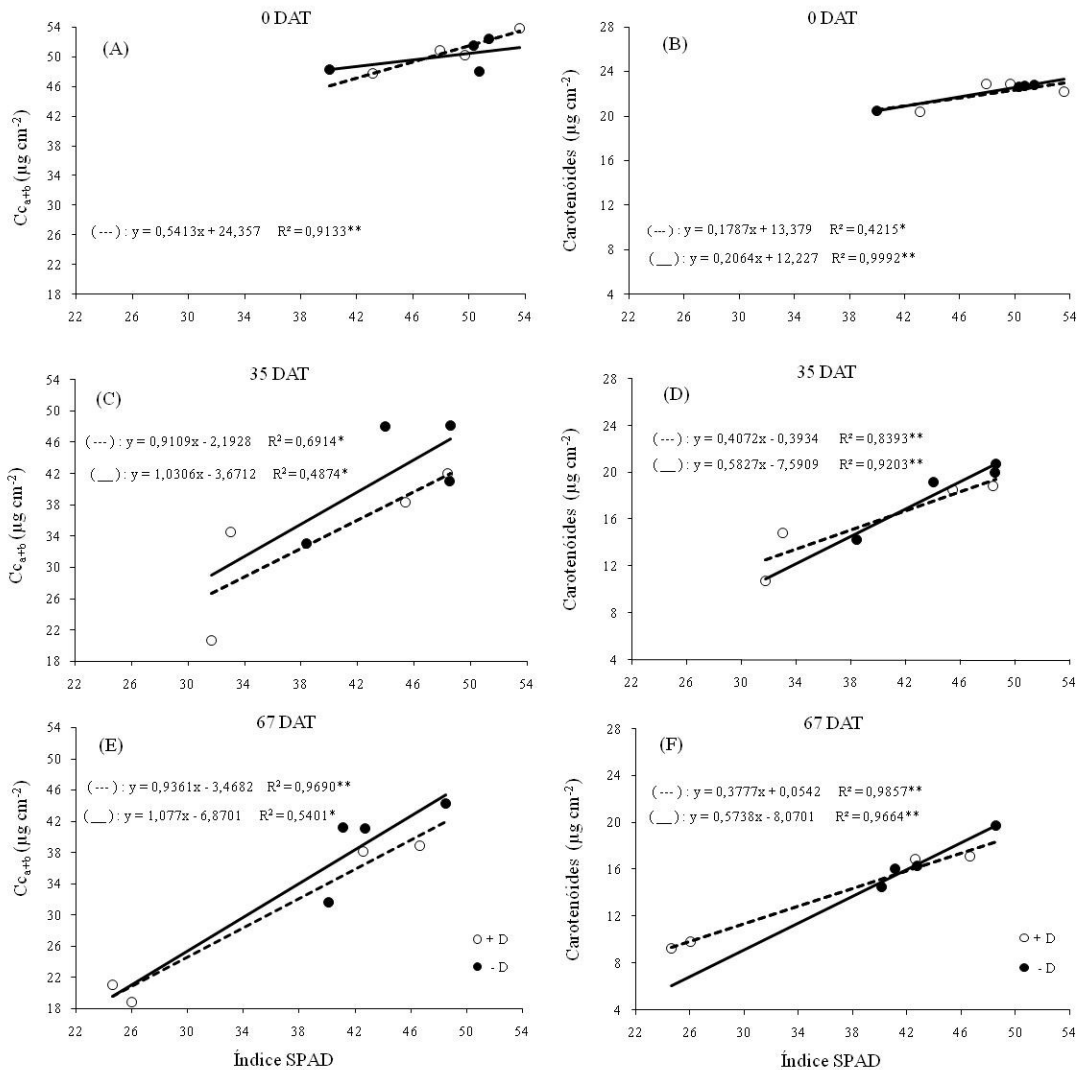


Figura 1. Relação entre conteúdo total de clorofila e índice SPAD (A, C e E) e entre o conteúdo de carotenóides e índice SPAD (B, D e F) ao 0, 35 e 67 dias após o tratamento (DAT), respectivamente.

Por meio da análise de correlação observou-se a relação entre as variáveis nos dois regimes hídricos. Sob condições ideais de umidade, a maioria das variáveis foi correlacionada entre si, positiva e significativamente, com exceção da relação de clorofilas *a/b* com as variáveis índice SPAD, clorofila *a*, clorofila total (*a+b*) e carotenóides que não apresentaram significância, e com clorofila *b* que foi significativa, porém negativa (Tabela 3). Índice SPAD foi positivamente e significativamente correlacionado com clorofilas *a*, *b* e totais, além de carotenóides.

Sob deficiência hídrica também foram observadas variáveis positivamente e significativamente correlacionadas entre si, com exceção nas relações entre a variável relação clorofila *a/b* com índice SPAD e com clorofila *b* (Tabela 3). Portanto, devido a alta e positiva correlação do índice SPAD principalmente com

clorofila total (0,851**) e com carotenóides (0,883**) esta variável mostra-se como técnica confiável e rápida, além de não destrutiva, para avaliação dos teores de pigmentos fotossintéticos em cultivares de cana-de-açúcar sob condições sem ou com restrição hídrica.

Correlações positivas entre clorofila *a*, *a+b* e carotenóides foram evidenciados em estudos de cana-de-açúcar (CHA-UM; KIRDMANEE, 2009) e em milho (HOLÁ et al., 2010) sob deficiência hídrica. Jangpromma et al. (2010a) também verificaram correlações positivas entre leitura SPAD e teor de clorofila em plantas jovens de cana-de-açúcar sob dois regimes hídricos, os quais relatam maior relação entre os genótipos e o teor de clorofila sob condições de seca. Já Silva et al. (2012) verificaram correlação positiva entre índice SPAD com fotossíntese e potencial hídrico sob condições de seca em cana-de-açúcar, e de acordo com os

autores, o índice SPAD é um dos principais parâmetros fisiológicos a ser considerado em programas de melhoramento de cana-de-açúcar com

o objetivo de diferenciar genótipos tolerantes e susceptíveis ao estresse hídrico.

Tabela 3. Correlação entre índice SPAD, clorofilas (*a* e *b*), clorofila total (*a+b*), relação entre clorofilas (*a/b*) e carotenoides (*c*) em cultivares de cana-de-açúcar sem e com deficiência hídrica.

Sem deficiência hídrica					
	SPAD	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	<i>a/b</i>
<i>a</i>	0,639**				
<i>b</i>	0,738**	0,923**			
<i>a+b</i>	0,552**	0,995**	0,881**		
<i>a/b</i>	0,441	-0,167	-0,473**	-0,177	
<i>c</i>	0,744**	0,896**	0,904**	0,842**	-0,276
Com deficiência hídrica					
	SPAD	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	<i>a/b</i>
<i>a</i>	0,850**				
<i>b</i>	0,872**	0,962**			
<i>a+b</i>	0,851**	0,992**	0,953**		
<i>a/b</i>	0,318	0,549**	0,313	0,552**	
<i>c</i>	0,883**	0,958**	0,946**	0,952**	0,485**

a, *b*, *a+b* e *c* = $\mu\text{g cm}^{-2}$; **significativo a 0,01

Neste estudo, as análises da composição de pigmentos fotossintéticos juntamente com suas relações com índice SPAD forneceram informações importantes para diagnosticar a integridade do sistema fotossintético em cana-de-açúcar sob deficiência hídrica, assim como atenderam o propósito dar confiabilidade à técnica da estimativa do conteúdo de clorofila (SPAD) para diferenciar cultivares.

CONCLUSÕES

Cultivares de cana-de-açúcar respondem diferentemente em relação aos pigmentos fotossintéticos quando submetidas à deficiência hídrica.

As cultivares IACSP95-5000 e RB928064 têm menor efeito do estresse por falta de água, atribuído à capacidade da manutenção dos

conteúdos de clorofilas e de carotenoides, além de maiores valores de índice SPAD, sob essa condição.

A deficiência hídrica afeta com maior intensidade as cultivares RB835054 e SP80-3280 devido às maiores reduções nos pigmentos fotossintéticos e no índice SPAD. Índice SPAD é correlacionado com conteúdo de clorofilas e carotenoides em cana-de-açúcar e pode ser utilizado como técnica na seleção de cultivares tolerantes à deficiência hídrica em programas de melhoramento genético.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de doutorado e produtividade em pesquisa.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the responses of sugar cane subject to water stress by photosynthetic pigments (chlorophylls *a*, *b*, total *a + b*, ratio chlorophylls *a/b* and carotenoids) and verify the use of SPAD index as a cultivar differentiation tool. The experiment was carried out in a greenhouse, where four cultivars (IACSP95-5000, RB835054, RB928064 and SP80-3280) were grown in pots. After 65 days of planting, two treatments were implemented, i.e., with no stress (-D) and with water stress (D +). Cultivars of sugar cane respond differently in relation to photosynthetic pigments when subjected to water deficit. Cultivars IACSP95-5000 and RB928064 have less effect of drought, that is attributed to the ability of maintaining the chlorophyll and carotenoid content, as well as higher SPAD index values under this condition. Water stress affects with more intensity the cultivars RB835054 and SP80-3280 due to higher reductions in photosynthetic pigments and SPAD index. SPAD index is correlated with chlorophyll and carotenoid content in sugar cane and can be used as a technique for selecting tolerant cultivars to drought in breeding programs.

KEYWORDS: *Saccharum* spp.. Cultivars. Chlorophyll. Carotenoids. Water stress.

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, C. V. T.; STEFFENS, C. A.; SANGOI, L.; ZANARDI, O. Z.; MIQUELOTO, A.; SCHWEITZER, C. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 1, p. 39-50, 2010.
- ARUNYANARK, A.; JOGLOY, S.; VORASOOT, N.; AKKASAENG, C.; KESMALA T.; PATANOTHAI, A. Stability of relationship between chlorophyll density and soil plant analysis development chlorophyll meter readings in peanut across different drought stress conditions. **Asian Journal of Plant Science**, Nova York, v. 8, n. 2, p. 102-110, 2009.
- BERNARDES, M. S. Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas. In: CASTRO, P. R. C. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: POTAFOS, 1987. p. 13-48.
- CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 8, n. 1, p. 51-58, 2009.
- EFOGLU, B.; EKMEKCI, Y.; CICEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 34-42, 2009.
- GOMATHI, R.; RAKKIYAPAN, P. Comparative lipid peroxidation, leaf membrane thermostability, and antioxidant system in four sugarcane genotypes differing in salt tolerance. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, Ilhas Vitória, v. 3, n. 4, p. 67-74, 2011.
- HOLÁ D.; BENEŠOVÁ, M.; HONNEROVÁ, J.; HNILIČKA, F.; ROTHOVÁ, O.; KOČOVÁ, M.; HNILIČKOVÁ, H. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny? **Photosynthetica**, Praga, v. 48, n. 4, p. 545-558, 2010.
- JABEEN, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Discriminating some prospective cultivars of maize (*Zea mays* L.) for drought tolerance using gas exchange characteristics and proline contents as physiological markers. **Pakistan Journal of Botany**, Islamabad, v. 40, n. 6, p. 2329-2343, 2008.
- JANGPROMMA, N.; SONGSRI, P.; THAMMASIRIRAK, S.; JAISIL, P. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a spad chlorophyll meter across different water stress conditions. **Asian Journal of Plant Sciences**, Nova York, v. 9, n. 6, p. 368-374, 2010a.
- JANGPROMMA, N.; KITTHAISONG, S.; LOMTHAISONG, K.; DADUANG, S.; JAISIL, P.; THAMMASIRIRAK, S.A. Proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, Nova York, v. 2, n. 2, p. 89-102, 2010b.
- JIFON, J. L.; SYVERTSEN, J. P.; WHALEY, E. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 130, n. 2, p. 152-158, 2005.
- 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.
- MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; KARAM, D.; MAGALHÃES, M. M.; CANTÃO, F. R. O. Caracterização ecofisiológica de linhagens de milho submetidas à baixa disponibilidade

hídrica durante o florescimento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 8, n. 3, p. 223-232, 2009.

MINOLTA CAMERA Co., Ltda. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka, Minolta, Radiometric Instruments divisions. 1989. 22p.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

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.

RONG-HUA, L.I.; PEI-POL, G.U.O.; BAUMZ, M.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 551-557, 2006.

ROSTAMI, M.; KOOCHEKI, A.R.; MAHALLATI M.N.; KAFI, M. Evaluation of chlorophyll meter (SPAD) data for predicting of nitrogen status in corn (*Zea mays* L.). **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Science**, Dubai, v. 3, n. 1, p. 79-85, 2008.

SILVA, M. de A.; JIFON, J.L.; SHARMA, V.; SILVA, J.A.G.; CAPUTO, M.M.; DAMAJ, M.B.; GUIMARÃES, E.R.; FERRO, M.I.T. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, Nova Deli, v. 13, n. 2, p. 178-184, 2011.

SILVA, M. de A.; JIFON, J.L.; SILVA, J.A.G. da; SANTOS, C.M. dos; SHARMA, V. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, *First View*, doi: 10.1017/S0021859612000834, 2013.

SILVA, P.P.; SOARES, L.; COSTA, J.G.; VIANA, L.V.; ANDRADE, J.C.F.; GONÇALVES, E.R.; SANTOS, J.M.; BARBOSA, G.V.S.; NASCIMENTO, V.X.; TODAROE, A.R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-SAF, M.F.; BARBOSA, M.H.P.; SANT'ANAC, A.E.G.; RAMALHO NETO, C.E. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 37, p. 11-19, 2012.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 820p.

TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; BRESSAN-SMITH, R.E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 104, n. 2, p. 199-209, 2005.

WAHID, A. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **Journal of Plant Research**, Faisalabad, v. 120, n. 2, p. 219-228, 2007.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.144, n. 3, p.307-313, 1994.

XU, W.; ROSENOW D.T.; NGUYEN, H.T. Stay green trait in grain sorghum: Relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 4, p. 365-367, 2000.