# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

## FERNANDA VIGINOTTI ALVES DE MORAES

Eficiência de uso de água e potássio, discriminação isotópica de <sup>13</sup>C, trocas gasosas e alterações metabólicas em genótipos de cana-de-açúcar

Piracicaba 2020

### FERNANDA VIGINOTTI ALVES DE MORAES

# Eficiência de uso de água e potássio, discriminação isotópica de <sup>13</sup>C, trocas gasosas e alterações metabólicas em genótipos de cana-de-açúcar

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Lavres Junior

Piracicaba 2020 AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

#### Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Moraes, F. V. A. de

Eficiência de uso de água e potássio, discriminação isotópica de 13C, trocas gasosas e alterações metabólicas em genótipos de cana-de-açúcar / Fernanda Viginotti Alves de Moraes; orientador José Lavres Junior. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

129 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020.

1. Déficit hídrico 2. Isótopos estáveis 3. Metabólitos 4. Metabolômica 5. Nutrição vegetal 6. Nutrientes minerais do solo I. Título

CDU 581.13 (633.61 + 581.132)

Elaborada por: Marilia Ribeiro Garcia Henyei CRB-8/3631 Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

## DEDICATÓRIA

Esse trabalho é dedicado ao meu marido Murilo e minha filha Giovanna por todo amor, paciência e incentivo durante meus estudos de doutorado e toda a minha vida.

Aos meus pais e minha família por todo o apoio.

#### AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo (USP), Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) e ao Laboratório de Nutrição de Plantas (LNP) pela oportunidade, suporte e condições de infraestrutura para o desenvolvimento deste estudo.

Gostaria de expressar minha gratidão ao meu orientador, Dr. José Lavres Junior, por sua orientação, profissionalismo, paciência e amizade. Sou grata por ter tido a oportunidade de trabalhar em sua equipe de pesquisa.

À Técnica Cleusa Pereira Cabral, pela amizade e constante ajuda durante todos esses anos, e às Secretárias Suzineide de Fátima Manesco de Almeida e Cristina Beatriz Salvego, pela assistência e ajuda.

Ao Claudinei Schiavon ("Alemão") e ao viveiro "São Jose mudas" pelo fornecimento das mudas de cana pré-brotadas utilizadas no experimento.

Ao Dr. Carlos Alberto Latate, pela colaboração na disponibilização do Laboratório de Genética Vegetal Max Feffer para as análises metabolômicas deste estudo. A Hana Karina Pereira da Silva pelo treinamento inicial e um agradecimento especial a especialista em laboratório Dra. Thaís R. Cataldi por todo o apoio e ensinamentos compartilhados em metabolômica.

Ao Dr. Ricardo Antunes Azevedo pela colaboração nas análises do sistema antioxidante realizadas no Laboratório de Genética e Bioquímica de Plantas, a Dra. Salete Aparecida Gaziola e a estagiária Luísa Cassuci por todo apoio e ajuda.

Ao Dr. Paulo Cesar Ocheuze Trivelin, Dr. José Albertino Bendassolli e aos Técnicos do Laboratório de Isótopos Estáveis: Ana Paula Gomes de Moraes Duarte, Hugo Batagello e José Aurélio Bonassi (Pingin) pelas análises isotópicas.

Ao Dr. Francisco Krug e as Técnicas do Laboratório de Química Analítica (CENA), Aparecida de Fátima Patreze e Dra. Liz Mary Bueno de Moraes.

Aos Técnicos de Laboratório Carlos Alberto Dorelli, Joaquim Everaldo Martins dos Santos, Mariana Belotti e Robson Clayton Jacques Arthur pela assistência e contribuição durante o experimento.

Às minhas queridas amigas Jessica Bezerra de Oliveira e Laura Panzarin Nerastri por todo o apoio, colaboração e ajuda nas análises nas análises desse projeto. Obrigado pela nossa amizade, risadas compartilhadas e todos os momentos felizes.

A todos os meus colegas que passaram e aos que ainda estão no Laboratório de Nutrição de Plantas: Amanda Rocha, Antônio Leite Florentino, Maria Clara Faria Chaves, Matheus da Cunha Almeida, Natalia Fernandes Carr, Nicolas Casarin, Nikolas de Souza Mateus e Taizi Silva, pelo apoio e convivência.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 165545/2017-8).

Fernanda de Moraes

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende".

Leonardo da Vinci

#### **RESUMO**

ALVES, F. V. Eficiência de uso de água e potássio, discriminação isotópica de <sup>13</sup>C, trocas gasosas e alterações metabólicas em genótipos de cana-de-açúcar. 2020. 129 f. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020.

A disponibilidade hídrica e nutrição potássica são fatores primordiais para o desenvolvimento e produtividade da cana-de-açúcar. Estudos que investiguem respostas fisiológicas, nutricionais e metabólicas do déficit hídrico e disponibilidade de potássio (K) no solo são necessários para o entendimento do uso eficiente e sustentável de água e K pela cultura. Assim, no primeiro experimento (experimento I) objetivou-se avaliar o efeito do déficit hídrico e do incremento da disponibilidade de K no solo sobre os parâmetros biométricos, fisiológicos e respostas nutricionais das plantas; biomassa de parte aérea e raízes; eficiência no uso da água e K e composição isotópica do carbono na folha ( $\delta^{13}$ C), enquanto que no segundo experimento (experimento II) objetivou-se avaliar a atividade do sistema protetivo antioxidante e descrever a modulação do perfil metabólico nas plantas submetidas aos tratamentos. Os estudos com os genótipos (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) foram conduzidos em casa de vegetação utilizando-se vasos de 5 dm<sup>-3</sup> de solo, sendo os tratamentos representados pelas combinações de suprimento hídrico (com irrigação até 80 e 40% da capacidade máxima de retenção de água no solo, condições de disponibilidade hídrica - controle e déficit) e teores de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Os vasos foram distribuídos de forma inteiramente casualizada, num esquema fatorial 2x2, com quatro repetições. No experimento I, foram avaliados os parâmetros biométricos de altura e diâmetro do colmo, a concentração de nutrientes, os parâmetros de trocas gasosas (taxa de assimilação de  $CO_2$  - A; condutância estomática - gs, transpiração – E; eficiência instantânea de carboxilação – k, eficiência do uso de água – EUA), conteúdo de clorofila, eficiência do fotossistema II, eficiência de absorção e uso de K, potencial de água na folha, área foliar e  $\delta^{13}$ C, enquanto no experimento II foi avaliado o sistema protetivo antioxidante e o perfil metabólico das plantas submetidas ao déficit hídrico e teores de K no solo. Dessa forma, as plantas supridas com o maior teor de K no solo apresentaram incrementos nas variáveis-respostas dos ajustes fisiológicos em condição de déficit hídrico, variando entre os diferentes genótipos estudados e, assim, fornecendo ferramentas para elucidar os mecanismos de adaptação das plantas em ambientes restritivos de água e manejo nutricional. Com relação ao metabolismo antioxidante, as plantas supridas com o maior teor de K no solo apresentaram menor peroxidação lipídica em IACSP95-5000 e RB975201, o que demonstra que o sistema antioxidante dessas plantas foi eficiente na atenuação dos danos causados pelo déficit hídrico. A caracterização do perfil metabólico foliar na identificação da interação condição hídrica e disponibilidade de K no solo contribuíram para elucidar os mecanismos bioquímicos e fisiológicos das plantas submetidas à condição de déficit hídrico.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Tolerância à seca. Eficiência nutricional. Sistema fotossintético. Metabolismo antioxidativo. Enzimas protetivas. Metabólitos.

#### ABSTRACT

ALVES, F. V. Water and potassium use efficiencies, <sup>13</sup>C isotopic discrimination, gas exchange and metabolic changes in sugarcane genotypes. 2020. 129 f. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020.

Water availability and potassium nutrition are key factors for the development and productivity of sugarcane. Studies that investigate physiological, nutritional and metabolic responses to water deficit and availability of potassium (K) in soil are necessary to understand the efficient and sustainable water and K use by the crop. Thus, in the first experiment (experiment I), the objective was to evaluate the effect of water deficit and the increase of K availability in soil in biometric, physiological and nutritional responses of plants; biomass of roots and shoots; water and K-use efficiency and leaf carbon isotopic composition ( $\delta^{13}$ C), while in the second experiment (experiment II) the objective was to evaluate the activities of the antioxidant protective system and describe the modulation of the metabolic profile in plants submitted to treatments. The studies with the genotypes (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 and CTC7) were carried out in a greenhouse using pots of 5 dm<sup>-3</sup> of soil, with the treatments represented by combinations of water supply (with irrigation up to 80 and 40% of the maximum water retention capacity in the soil, water availability conditions - control and deficit) and K content in soil (3 and 6 mmol<sub>c</sub> dm<sub>-3</sub>). The pots were distributed in a design completely randomized, in a 2x2 factorial scheme, with four replications. In experiment I, biometric parameters of height and stalk diameter, nutrient concentration, gas exchange parameters (CO<sub>2</sub> assimilation rate - A; stomatal conductance - gs, transpiration - E; instant carboxylation efficiency - k, water use efficiency - WUE), chlorophyll content, efficiency of Photosystem II, K-uptake and use efficiency, leaf water potential, leaf area and  $\delta^{13}$ C, while in experiment II was evaluated the antioxidant protective system and the metabolic profile of plants subjected to water deficit and K content in soil. Thus, the plants supplied with the highest K content in soil showed increases in response-variables of physiological adjustments in water deficit, varying between the different studied genotypes and so providing tools to elucidate the mechanisms of plant adaptation in environments water restrictive and nutritional management. Regarding antioxidant metabolism, the plants supplied with the highest K content in soil showed lower lipid peroxidation in IACSP95-5000 and RB975201, which demonstrates that the antioxidant system of these plants was more efficient in mitigating the damage caused by water deficit. Characterization of leaf metabolic profile in the identification of water and K-availability interaction, contributed to elucidate the biochemical mechanisms of plants under water deficit.

Keywords: *Saccharum* spp. Drought tolerance. Nutritional efficiency. Photosynthetic system. Antioxidative metabolism. Protective enzymes. Metabolites.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 A cultura da cana-de-açúcar	17
2.2 A cana-de-açúcar frente ao déficit hídrico	
2.3 Nutrição e adubação potássica	
2.4 Potássio (K) e estresse hídrico	20
2.5 Eficiência no uso de água (EUA) e de K	
2.6 Análise isotópica do carbono (C) e EUA	
2.7 A metabolômica como ferramenta de estudo do déficit hídrico em plantas	23
Referências	24
3. INTERAÇÃO ÁGUA E POTÁSSIO NAS RESPOSTAS BIOMÉTRICAS,	
FISIOLÓGICAS E ISOTÓPICA EM CANA-DE-AÇÚCAR	
Resumo	
Abstract	
3.1 Introdução	
3.2 Material e Métodos	
3.2.1 Material genético	
3.2.2 Condições experimentais	
3.2.3 Parâmetros biométricos e de trocas gasosas	
3.2.4 Determinação da concentração de clorofila e eficiência do fotossistema II	
3.2.5 Potencial de água na folha	
3.2.6 Determinação da área foliar e produção de massa seca	
3.2.7 Determinação dos teores de K, Ca, Mg e Na	
3.2.8 Composição isotópica de $\delta^{13}$ C de tecido vegetal	40
3.2.9 Análise estatística	40
3.3 Resultados	41
3.3.1 Parâmetros biométricos	41
3.3.2 Trocas gasosas e EUA	43
3.3.3 Concentração de clorofila e eficiência do fotossistema II	49
3.3.4 Potencial de água na folha	
3.3.5 Área foliar e produção de massa seca	54
3.3.6 Concentração de potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e sódio (Na)	60
3.3.7 Eficiência de absorção (EA) e de uso (EU) de K	66
3.8 Composição isotópica de carbono ( $\delta^{13}$ C)	68
3.4 Discussão	69
3.5 Conclusões	77
Referências	77

4. INTERAÇÃO ÁGUA E POTÁSSIO EM CANA-DE-ÇÚCAR: UM ENFOQUE EM	
METABOLISMO ANTIOXIDANTE E PERFIL METABÓLICO	87
Resumo	87
Abstract	88
4.1 Introdução	89
4.2 Material e Métodos	90
4.2.1 Material genético	90
4.2.2 Condições experimentais	91
4.2.3 Metabolismo antioxidante	92
4.2.3.1 Determinação de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) e malondialdeído (MDA)	92
4.2.3.2 Extração e quantificação de proteínas	93
4.2.3.3 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)	93
4.2.3.4 Catalase (CAT)	93
4.2.3.5 Ascorbato Peroxidase (APX)	93
4.2.3.6 Guaiacol Peroxidase (GPOX)	94
4.2.4 Perfil metabólico	94
4.2.4.1 Extração de metabólitos e derivatização para GC-MS	94
4.2.4.2 Análise por GC-MS	95
4.2.4.3 Processamento de dados e identificação de metabólitos	95
4.2.5 Análise estatística	96
4.3 Resultados	96
4.3.1 Avaliação do sistema antioxidante	96
4.3.1.1 Peróxido de hidrogênio (H2O2) e da concentração de malondialdeído (MDA)	96
4.3.1.2 Sistema protetivo antioxidante	98
4.3.1 Perfil metabólico	. 101
4.3.1.1 Análise das vias metabólicas	. 115
4.4 Discussão	. 116
4.5 Conclusões	. 120
Referências	. 121

#### 1. INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da cana-de-açúcar tem importância notória no cenário do agronegócio brasileiro, sendo o país o maior produtor do mundo e o estado de São Paulo destacando-se com o maior percentual da quantidade produzida. Diante disso, o país destaca-se como segundo produtor mundial de açúcar e etanol (CONAB, 2019b).

O cultivo da cana tem relevância mundial como fonte de alimentos e de suprimento energético, sendo um importante aliado na demanda mundial pelo uso de energia renovável, como uma alternativa ambiental mais sustentavelmente viável. O Brasil tem papel de destaque na crescente demanda mundial por combustíveis renováveis, visto que além de possuir condições edafoclimáticas adequadas e deter tecnologia vigente para a produção de bioetanol de cana, o país ainda possui áreas agricultáveis disponíveis para expansão, como tem ocorrido principalmente em áreas do Cerrado, caracterizadas pela baixa fertilidade e períodos de escassez hídrica.

O desenvolvimento fisiológico e a produtividade das culturas estão intimamente relacionados aos fatores ambientais bióticos e abióticos pelos quais as mesmas são expostas, e a possível interação entre esses fatores. Diante disso, é de extrema importância a adequação de genótipos de cana-de-açúcar ao zoneamento agrícola, visando o manejo varietal adaptado a cada local.

A disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que mais afetam a produtividade e o sucesso de uma cultura agrícola, principalmente devido ao seu envolvimento direto ou indireto em todos os processos fisiológicos e moleculares das plantas (ANGELOCI, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2017). De modo geral, as plantas respondem ao estresse hídrico em escalas molecular, celular e fisiológica que variam entre espécies e genótipo, duração e severidade, estágio de desenvolvimento, organela e compartimento celular (YAMAKAWA et al., 2007), sendo de extrema importância o entendimento desses mecanismos de respostas e, nesse contexto, a identificação de compostos e vias metabólicas.

As plantas desenvolveram mecanismos de sobrevivência e manutenção da produtividade em função dos estresses ambientais e atrelado a isso, o estado nutricional das plantas também desempenha papel no aumento da resistência. Dentre os nutrientes, o potássio (K), pode contribuir como agente atenuador de estresses e atuar na melhoria da eficiência do uso de água (EUA) pelas culturas. Segundo Smeltekop et al. (2003), uma possível forma de avaliar o estresse hídrico em plantas é por meio do uso da técnica do fracionamento isotópico de carbono, levando em conta o  $CO_2$  fixado durante a fotossíntese.

Vários estudos evidenciam que plantas que sofrem com a deficiência hídrica, apresentam uma maior necessidade interna de K (CAKMAK; ENGELS, 1999), principalmente devido às inúmeras funções que esse nutriente exerce nas plantas, tais como a ativação de mais de 50 enzimas, manutenção do processo fotossintético e de fixação de CO<sub>2</sub>, abertura e fechamento de estômatos (osmorregulação), balanço de carga nas células, redistribuição via floema dos carboidratos sintetizados na fotossíntese (KINGSTON, 2014), síntese de proteínas (BLEVINS, 1985) e proteção dos cloroplastos aos danos oxidativos (CAKMAK, 2005).

Assim, diante desse contexto, este estudo tem como hipóteses: (i) que os materiais vegetais quando submetidos ao déficit hídrico, apresentam melhor performance nutricional (produção de biomassa) e ajustes fisiológicos (trocas gasosas e eficiência do fotossistema II), em condição de alta disponibilidade de potássio, apresentando maior eficiência de uso de água e K; (ii) a técnica do fracionamento isotópico de carbono elucida os mecanismos fisiológicos de eficiência de uso de água pelas plantas supridas com K; (iii) O suprimento adequado de K no solo pode modular um sistema antioxidante eficiente e, dessa forma, mitigar os danos causados pelo estresse hídrico à seca; (iv) a condição hídrica e a nutrição potássica exercem influência direta no perfil de metabólitos das plantas dos diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o déficit hídrico e o efeito do incremento da disponibilidade de K em genótipos de cana-de-açúcar, de modo a investigar respostas quanto aos: i) parâmetros biométricos, fisiológicos e nutricionais das plantas; ii) eficiência no uso da água e de K; iii) composição isotópica do carbono da folha ( $\delta^{13}$ C), iv) avaliar a atividade do sistema protetivo antioxidante e v) descrever a modulação do perfil metabólico nas plantas submetidas aos tratamentos suprimento hídrico e teor de K no solo.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é pertencente à divisão Angiospermae, classe Monocotyledoneae, família Poaceae e gênero *Saccharum*, provavelmente originária do sudeste da Ásia, na região de Nova Guiné e Indonésia (DANIELS; ROACH, 1987). No Brasil, foi introduzida no Nordeste pelos portugueses no início da colonização, no século XVI (ROSILLO-CALLE; BAJAY; ROTHMAN, 2005).

Em relação à safra 2018/2019, o Brasil produziu 620.44 milhões de toneladas de cana em aproximadamente 8.6 milhões de hectares, distribuído em todos os estados produtores. O maior produtor é o estado de São Paulo, com 54% do total produzido, seguido pelos estados de Goiás (11%), Minas Gerais (10%), Mato Grosso do Sul (8%), Paraná (6%), Mato Grosso (3%); Alagoas (3%) e Pernambuco (2%). Esses estados compõem aproximadamente 94% da produção nacional e mais outros 13 estados com produções mais baixas que participam com o restante (CONAB, 2020a). Para a safra 2019/2020, estima-se uma produção de 624.7 milhões de toneladas em pouco mais de 8.5 milhões de hectares (CONAB, 2020b). Entre os diversos produtos e subprodutos da cana, destacam-se a produção de açúcar e o etanol. Na safra 2018/2019, a produção de açúcar foi de 29 milhões de toneladas, enquanto a produção de etanol atingiu 33 bilhões de litros.

O etanol de primeira geração (obtido a partir do caldo de cana) é o combustível mais viável para atender à crescente demanda mundial por energia renovável de baixo custo e menor poder poluente em comparação com as emissões de combustíveis fósseis, como a gasolina (CORTEZ, 2010). A substituição de combustíveis fósseis por biocombustíveis cria independência para recursos não renováveis e reduz as emissões de gases de efeito estufa (LAL, 2004).

A cana-de-açúcar é uma planta do tipo C4, sendo uma das culturas mais eficientes na conversão de energia solar em energia química e biomassa (SEGATO et al., 20006; FURTADO et al., 2014). Representada como um sistema de produção, a cana-de-açúcar é composta por um local de produção que são as folhas fotossinteticamente ativas, um sistema de fluxo e distribuição do produto fotossintetizado, vários locais de consumo, representados pelas raízes, caules, folhas jovens, tecidos meristemáticos e órgãos reprodutivos, e um local para acúmulo e armazenamento de sacarose (MACHADO, 1987).

O desenvolvimento e a produtividade da cana-de-açúcar são limitados pelos fatores bióticos e abióticos e suas interações. Entre os fatores abióticos, podemos incluir a disponibilidade de água (SILVA et al., 2008; FERREIRA et al., 2017; MONTEIRO; SENTELHAS, 2017).

#### 2.2 A cana-de-açúcar frente ao déficit hídrico

A deficiência hídrica é um fator frequentemente limitante quando se busca extrair o potencial produtivo das culturas (CIA et al., 2012; TAIZ; ZEIGER, 2017). A cana-de-açúcar é uma planta com alto consumo de água (BUSO, 2006), e sua necessidade hídrica varia de acordo com o genótipo e a fase vegetativa da planta (ALMEIDA et al., 2008).

Na literatura, o trabalho de Inman-Bamber e Smith (2005) descreve a influência da deficiência hídrica nas trocas gasosas em cana-de-açúcar, corroborando que algumas características de tolerância ao déficit hídrico possuem grande variação genotípica, como as respostas nas condutâncias radiculares e foliares bem como o ajuste da área foliar.

Em outro estudo, Graça et al. (2010) investigaram alguns genótipos brasileiros de canade-açúcar quanto a alguns parâmetros fisiológicos de tolerância à seca (taxa fotossintética, condutância estomática, taxa de transpiração, eficiência quântica do fotossistema - FSII e conteúdo relativo de água) e verificaram distinção significativa de genótipos tolerantes e sensíveis. As cultivares tolerantes (SP83-2847 e CTC15) apresentaram melhor desempenho no teor relativo de água e FSII além de uma maior taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração. O genótipo sensível, SP86-155 não apresentou desempenho fisiológico eficiente mesmo sob irrigação contínua.

A intensa demanda hídrica da cana-de-açúcar ocorre por volta de 60 a 150 dias após plantio, no período de perfilhamento e intenso crescimento (RAMESH, 2000; MACHADO et al., 2009), enquanto que, no período de maturação a necessidade hídrica diminui consideravelmente (ABREU et al., 2013). Dessa forma, dependendo da fase fenológica da cana-de-açúcar, o déficit hídrico pode ter maior ou menor impacto sobre a cultura (RAMESH, 2000; INMAN-BAMBER, 2004). Frente ao estresse hídrico, as plantas realizam alterações morfológicas e fisiológicas para evitar os efeitos negativos, e mesmo considerando essas alterações, a cana-de-açúcar apresenta decréscimo significativo na produção de fitomassa (MACHADO et al., 2009), com redução em torno de 35% na produção de biomassa total da parte aérea da planta (INMAN-BAMBER, 2004).

Com relação às respostas das plantas em condições de déficit hídrico, inicialmente temse um decréscimo da fotossíntese devido ao fechamento dos estômatos e, com a intensificação da deficiência hídrica, também ocorrem limitações metabólicas (LOPES et al., 2011). À medida que a perda de água se torna limitante, o fechamento estomático reduz o suprimento de  $CO_2$  ao processo fotossintético (TAMBUSSI et al., 2000), com a diminuição da atividade da fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC) e da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco) (LAKSHMANAN; ROBINSON, 2014).

A deficiência hídrica severa também conduz a um aumento da formação de espécies reativas do oxigênio (EROs) (CAKMAK, 2005), o que contribui para a degradação oxidativa da clorofila e membranas (WANG et al., 2013). Nessas condições, ocorre também uma restrição da redistribuição de fotoassimilados pelo floema da planta (CAKMAK; HENGELER; MARSCHNER, 1994; MARSCHNER, 2012), gerando baixo suprimento de energia para o sistema radicular (HERMANS et al., 2006).

O grau de abertura estomático das plantas é afetado pela concentração de ácido abscísico (ABA), responsável pelo controle do balanço iônico do íon potássio (K<sup>+</sup>) e, com isso, a entrada ou saída de água nas células-guarda (ANGELOCCI, 2002). Através de sinais químicos o ABA comunica as raízes com a parte aérea da planta, em resposta ao déficit hídrico no solo (INMAM-BAMBER; SMITH, 2005). Outro efeito resultante do déficit hídrico nas plantas é a abscisão foliar, causada pela síntese de outro hormônio de sinalização, o etileno (TAIZ; ZEIGER, 2017). Assim, as plantas têm como mecanismo contra o estresse hídrico, um aumento nos níveis de ABA e etileno, o que permite um maior ajuste do controle da perda de água por meio do fechamento de estômatos e abscisão foliar (CHAVES et al., 2002; TAIZ; ZEIGER, 2017).

#### 2.3 Nutrição e adubação potássica

O potássio (K) é o nutriente mais absorvido e acumulado pela cultura da cana-de-açúcar (RAIJ, 1974; CASOTI, 2008; DE OLIVEIRA et al., 2010; ROSETTO et al., 2010). Apresenta inúmeras funções bioquímicas e fisiológicas atreladas ao crescimento e desenvolvimento das plantas, como a ativação de enzimas, atuação na regulação estomática e no processo fotossintético, metabolismo de carboidratos, síntese de proteínas, transporte do floema e equilíbrio cátion-ânion (MARSCHNER, 2012; WANG et al., 2013; HASANUZZAMAN et al., 2018). Com relação à redistribuição de fotoassimilados, em condições de baixo suprimento de K, tem-se um acúmulo de sacarose nos tecidos fotossinteticamente ativos, o que resulta em menor suprimento energético para as raízes das plantas (HERMANS et al., 2006).

Além disso, o K também é importante para a manutenção do turgor das células, síntese de amido (MEURER, 2006) e expansão celular (PRADO, 2008). Plantas com níveis adequados de K têm maior resistência a pragas e doenças, de forma que esse nutriente favorece a síntese e o acúmulo de compostos fenólicos (PERRENOUD, 1990).

Nos solos, o K é um dos nutrientes mais abundantes, porém grande parte (98%) é encontrada na estrutura de minerais primários e secundários, e apenas uma fração está nas formas mais prontamente disponíveis para as plantas (ERNANI et al., 2007). As plantas absorvem o K da solução do solo como cátion ( $K^+$ ), sendo necessário o contato direto entre o nutriente e a raiz. A difusão é o principal mecanismo de contato íon-raiz, sendo responsável por aproximadamente 90% da quantidade de  $K^+$  absorvido pela raiz (RUIZ; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 1999; ROSOLEM et al., 2003).

A análise de K no solo permite a previsão de adubação na cultura da cana-de-açúcar, sendo que na literatura, vários autores estudaram o nível crítico externo (ROSETTO et al., 2010), como 2,1 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (RAIJ,1974); 2,3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (ORLANDO FILHO 1983); 2,0 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (RODELLA et al., 1983); 1,5 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>cana-planta e 1,2 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>cana-soca (CHALITA, 1991). A cultura da cana-de-açúcar responde a altas doses de K (ROSETTO et al., 2010). Muitas fontes de K estão disponíveis no solo ou são fornecidas como fertilizantes, tais como cloreto de potássio (KCl), nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), sulfato de potássio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e carbonato de potássio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (KAFKAFI et al., 2001).

Segundo Marschner (2012), a absorção e o transporte de K<sup>+</sup> pela planta são facilitados por proteínas da membrana (transportadores e canais catiônicos) que permitem seu movimento através da membrana plasmática. A faixa suficiente para a concentração de K nas folhas da cana-de-açúcar variam entre 10 e 16 g kg<sup>-1</sup> de massa seca, sendo que os sintomas de deficiência aparecem como manchas mosqueadas (verde-claras e verde-escuras), manchas avermelhadas na nervura central das folhas e bordas marrons que podem evoluir para uma necrose (SPIRONELLO et al., 1997). O K é muito móvel na planta (ROSETTO et al., 2010), podendo ser mobilizado para as folhas mais jovens e, dessa forma, os sintomas de deficiência aparecem inicialmente nas folhas mais velhas, próximas à base das plantas (EPSTEIN; BLOOM, 1995).

#### 2.4 Potássio (K) e estresse hídrico

O estado nutricional das plantas interfere no rendimento produtivo sob condições ambientais de estresse (ZÖRB; SENBAYRAM; PEITER, 2014). Dentre os nutrientes, o K pode contribuir para a sobrevivência e desenvolvimento das plantas em condições de estresses

ambientais bióticos e abióticos, como o déficit hídrico (CAKMAK, 2005; WANG et al., 2013; MARTINEAU et al., 2017; HASANUZZAMAN et al., 2018; MEILLE et al., 2018). O suprimento adequado de K facilita o ajuste osmótico, aumentando a capacidade de tolerância das plantas ao estresse hídrico (EGILLA; DAVIES; BOUTTON, 2005, MARTINEAU et al., 2017). As plantas que possuem maior capacidade de ajuste osmótico tendem a manter a turgescência das folhas em potencial hídrico mais baixo, o que possibilita melhor alongamento celular e melhoria na condutância estomática (MARTINEAU et al., 2017; TAIZ; ZEIGER, 2017).

O estado nutricional de K e a resposta das plantas em nível metabólico podem ser evidenciados por meio da presença de solutos como açúcares, álcoois de açúcar e prolina, que atuam no ajuste osmótico, mantendo o turgor celular em condições de déficit hídrico (SEKI et al. 2007). A deficiência de K na planta aumenta a transcrição de genes envolvidos na produção e sinalização de etileno (BENLLOCH-GONZALEZ et al., 2008), e, nesse caso pode levar a epinastia, abscisão foliar, senescência e perda de clorofila (TAIZ; ZEIGER, 2009). Kanai et al. (2011) demonstraram uma relação entre a aquaporina (proteínas de canal de água) e o canal transportador de K, em que a deficiência de K alterou de maneira acentuada a atividade do canal K<sup>+</sup>, com consequentes mudanças na atividade da aquaporina.

As plantas quando sofrem estresses abióticos apresentam aumento da biossíntese de poliaminas, como a putrescina, que pode ser uma resposta ao desequilíbrio iônico causado pela acidificação do suco celular intensificado pelo excesso de amônio e aumento da atividade de enzimas que convertem arginina, ornitina e citrulina em putrescina. Assim, o acúmulo de putrescina atua como um mecanismo interno de compensação para manter o pH a um valor fisiologicamente adequado (MALAVOLTA, 2006).

#### 2.5 Eficiência no uso de água (EUA) e de K

A tolerância à seca em espécies vegetais pode ser caracterizada pela alta eficiência no uso da água (EUA) (FARQUHAR; EHLERINGER; HUBICK, 1989), que pode ser definida como a produção de matéria seca da planta por unidade de perda de água por transpiração (RASHEED et al. 2013). O suprimento de K apresenta uma relação positiva com EUA EGILLA; DAVIES; BOUTTON, 2005; GRZEBISZ et al., 2013), sendo que níveis adequados de K sobre condições de seca aumentam a resistência, as relações hídricas, a EUA e o crescimento das plantas (EGILLA; DAVIES; BOUTTON, 2005). Existem vários métodos para determinar a EUA, em diferentes escalas espacial e temporal. Em escala de tempo curto e a nível foliar, pode-se analisar a EUA intrínseca das folhas (EUA<sub>i</sub>), por meio da razão da assimilação líquida de  $CO_2(A)$  pela condutância estomática (*gs*) ou a EUA instantânea (EUA<sub>T</sub>), por meio da relação de *A* pela transpiração (*E*) (SEIBT et al., 2008; MATEUS et al., 2019). Em longo prazo, e considerando uma escala da planta inteira, a EUA<sub>L</sub> pode ser determinada através da relação entre a massa seca da parte aérea e a água consumida pela planta durante todo o período experimental (EUA<sub>L</sub>) (MARTIN; THORSTENSON, 1988).

#### 2.6 Análise isotópica do carbono (C) e EUA

Na agricultura, o uso de isótopos estáveis do carbono (<sup>12</sup>C e <sup>13</sup>C) tem grande importância no estudo dos aspectos relacionados à fisiologia de plantas, pois pode auxiliar diretamente no estudo da fotossíntese, determinação dos ciclos fotossintéticos, translocação, alocação, assimilação de carbono e déficit hídrico (EHLERINGER et al., 1993).

Na natureza, o elemento carbono possui dois isótopos estáveis: <sup>12</sup>C e <sup>13</sup>C, com 98,89% e 1,11% de todo o carbono (abundância natural), respectivamente (BOUTTON, 1991). A terminologia desses isótopos é expressa por meio dos valores do enriquecimento relativo do <sup>13</sup>C, em delta ( $\delta$ ) per mil ( $\infty$ ) da razão isotópica <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C da amostra em relação ao padrão internacional - *PeeDee Belemnite – PDB* (CRAIG, 1957).

Os compostos que participam de processos na natureza têm diferentes proporções isotópicas, que podem ser detectadas em espectrômetros de massa (MARTINELLI et al., 1988), que são equipamentos capazes de separar formas isotópicas de um determinado elemento através de um campo elétrico, seguido por outro magnético, após o gás passar por uma fonte de íons de impacto de elétrons (JAMIN, 1997). As diferentes razões isotópicas são o resultado de reações físico-químicas e/ou biológicas, o que possibilita a discriminação de um dos isótopos (MARTINELLI et al., 1988).

A composição isotópica do C ( $\delta^{13}$ C) baseia-se na razão isotópica  $^{13}$ C/ $^{12}$ C sendo mais baixa no tecido vegetal do que na atmosfera, como resultado do fracionamento isotópico da fotossíntese e da composição isotópica do carbono na biomassa, basicamente determinada pela disponibilidade de água e limitação estomática (BOWLING, 2002).

Dessa forma, a avaliação da composição isotópica de  ${}^{13}C$  ( $\delta^{13}C$  ‰) em tecidos vegetais é um importante mecanismo para avaliar a variação nas trocas gasosas, e pode estar correlacionada com a pressão ambiental de carbono, difusão de CO<sub>2</sub>, ajuste osmótico e densidade estomática (MEINZER; PLAUT; SALIENDRA, 1994; MATEUS et al., 2019).

A utilização da técnica isotópica de  $\delta^{13}$ C em plantas pode ser empregada também para monitorar estresses ambientais, como a deficiência hídrica (CLAY et al., 2001; MONNEVEAUX et al., 2007), como verificaram Clay et al. (2001) na avaliação da diminuição de produtividade do milho sob déficit hídrico, em que foi constatado decréscimo de 1% com aumento de  $\delta^{13}$ C de 0.0117‰. O  $\delta^{13}$ C varia como resultado das propriedades bioquímicas das enzimas de fixação de CO<sub>2</sub> atmosférico (RuBisCo e PEPC) e das limitações da difusão de CO<sub>2</sub> para o interior das folhas (MONNVEUX et al., 2007). Em plantas do tipo C3, o  $\delta^{13}$ C depende basicamente da pressão interna e externa de CO<sub>2</sub> na folha, já em plantas do tipo C4, como a cana-de-açúcar, o valor de  $\delta^{13}$ C também depende do vazamento (*leakiness*) de CO<sub>2</sub> ( $\Phi$ ) descarboxilado das células do feixe da bainha que não é fixado pela RuBisCo, sendo direcionado para as células do mesófilo foliar para ser re-fixado pela PEPC (HENDERSON; CAEMMERER; FARQUHAR et al., 1992).

A determinação de  $\delta^{13}$ C é um importante parâmetro para avaliar genótipos com maior tolerância ao estresse hídrico em plantas, sendo um potencial indicador de EUA (MÅRTENSSON et al., 2017). De modo geral, as plantas em condições de baixa disponibilidade de água no solo tendem a fechar os estômatos para evitar maiores perdas de água por transpiração e, dessa forma, ocorre decréscimo do processo fotossintético. Com a entrada de CO<sub>2</sub> sendo limitada na câmara estomática, haverá decréscimo na pressão interna e, dessa forma, diminuição da relação *Ci/Ca*, ou seja, a razão entre a fração molar de CO<sub>2</sub> nos espaços intercelulares das folhas (*Ci*) e da atmosfera (*Ca*) e, consequentemente, aumentando os valores de  $\delta^{13}$ C da planta (MARTINELLI et al., 2009).

#### 2.7 A metabolômica como ferramenta de estudo do déficit hídrico em plantas

O entendimento geral de um sistema metabólico em uma planta é essencial para a elucidação dos mecanismos que envolvem muitos processos biológicos (FUKUSHIMA et al., 2009). Metabólitos são produtos intermediários ou finais do metabolismo biológico (FIEHN, 2002), podendo ser vistos como produtos finais da expressão gênica e definir o fenótipo (FIEHN, 2002). Assim, a metabolômica das plantas tornou-se na última década uma notória ferramenta de pesquisa para o estudo dos mecanismos bioquímicos relativos ao

crescimento e desenvolvimento das plantas em resposta ao estresse abiótico, como a seca, aumentando a compreensão das interações moleculares complexas nos sistemas biológicos das plantas (JORGE et al., 2016). Em plantas, uma das maiores aplicações em metabolômica é a análise de mudanças metabólicas devido a condições de estresses ambientais e nutricionais (GUY; KOPTA; MORITZ, 2008; RICHTER et al., 2015; RABÊLO et al., 2018; NIEVES-CORDONES et al., 2018).

As abordagens de metabolômica de plantas baseadas em espectrometria de massa estão encontrando um número crescente de aplicações para investigar os mecanismos moleculares e bioquímicos quanto às respostas das plantas em ambientes estressantes (JORGE; ANTONIO, 2018). A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) é uma das técnicas analíticas mais usadas em estudos de metabolômica (FIEHN, 2008; HILL; ROESSNER, 2013), com alta repetibilidade. As análises do perfil metabólico por GC-MS permitem a quantificar muitos metabólitos em um único extrato (JORGE et al., 2016) e, com isso, uma compreensão mais abrangente das diferentes respostas de tolerância aos estresses abióticos em plantas (DAS; RUSHTON; ROHILA, 2017), elucidando mecanismos bioquímicos complexos.

#### Referências

ABREU, M.L.; SILVA, M.A.; TEODORO, I.; HOLANDA, L.A.; NETO, G.D.S. Crescimento e produtividade de cana-de-açúcar em função da disponibilidade hídrica dos Tabuleiros Costeiros de Alagoas. **Bragantia**, Campinas, v. 72, p. 262-270, 2013.

ALMEIDA, A.C.S.; SOUZA, J.L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G.V.S.; MOURA FILHO, G.; FERREIRA JÚNIOR, R.A. Desenvolvimento vegetativo e produção de variedades de cana-deaçúcar em relação à disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1441- 1448, 2008.

ANGELOCCI, L.R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: Introdução ao tratamento biofísico. Piracicaba: Esalq/USP, 2002. 272 p.

BENLLOCH-GONZALEZ, M.; ROMERA, J.; CRISTESCU, S.; HARREN, F.; FOUMIER, J.M.; BENLLOCH, M. K<sup>+</sup> starvation inhibits water-stress-induced stomatal closure via ethylene synthesis in sunflower plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 1139-1145, 2008.

BLEVINS, D.G. Role of potassium in protein metabolism in plants. In: MUNSON, R.D. (Ed.). **Potassium in agriculture**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1985. p. 413-424.

BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. **Carbon isotope techniques.** San Diego: Academic Press, 1991. cap. 10, p. 155-171.

BOWLING, D.R.; MCDOWELL, N.G.; BOND, B.J.; LAW, B.E.; EHLERINGER, J. <sup>13</sup>C content of ecosystem respiration is linked to precipitation and vapor pressure deficit. **Oecologia**, New York, v. 131, p. 113-124, 2002.

BUSO, P.H.M. **Estudo do sistema radicial de cana-de-açúcar no plantio em gema e tolete**. 2006. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CAKMAK, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stress in plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 168, p. 521-530, 2005.

CAKMAK, I.; ENGELS, C. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation. In: RENGEL, Z. (Ed.). **Mineral nutrition of crops**: mechanisms and implications. New York: The Haworth Press, 1999. p.141-168.

CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSCHNER, H. Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, n. 278, p. 1245-2150, 1994.

CASOTI, R.O. Adubação nitrogenada e potássica na cultura da cana-de-açúcar e seus efeitos na produção e qualidade nutricional. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, 2008.

CHALITA, R. **Calibração da adubação potássica através da análise química do solo para a cultura da cana-de-açúcar**. 1991. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.; RICAROD, C.P.P.; OSORIO, M.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 7, p. 907-916, 2002.

CIA, M.C.; GUIMARÃES, A.C.R.; MEDICI, L.O.; CHABREGAS, S.M.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 161, n. 3, p. 313-324, 2012.

CLAY, D.E.; CLAY, S.A.; LIU, U.Z.; REESE, C. Spatial variability of C-13 isotopic discrimination in corn (*Zea mays*). Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 32, p. 1813-1827, 2001.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2018/19. Brasília, DF, 2019a. 29 p.

\_\_\_\_\_. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2019/20. Brasília, DF, 2019b. 53 p.

CORTEZ, L.A.B.; JORDAN, R.A.; MESA PÉREZ, J.M.; ROCHA, J.D. Roadmap tecnológico para o etanol: componente termoconversão de biomassa. In: CORTEZ, L.A.B. **Bioetanol de cana-de-açúcar**: P&D para a produtividade e sustentabilidade. São Paulo: Blucher, 2010. p. 919-935.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for massspectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 12, p. 133-149, 1957.

DANIELS, J.; ROACH, B.T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D.J. Sugarcane improvement throught breeding. New York: Elsevier, 1987. 84 p.

DAS, A.; RUSHTON, P.J.; ROHILA, J.S. Metabolomic profiling of soybeans (Glycine max L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress. **Plants**, Basel, v. 6, p. 2-21, 2017.

DE OLIVEIRA, E.C.A.; FREIRE, F.J.; DE OLIVEIRA, R.I.; FREIRE, M.B.G.S.; SIMÕES NETO, D.E.; DA SILVA, S.A.L. Extração e exportação de nutrientes por variedades de canadeaçúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1343-1352, 2010.

EGILLA, J.N.; DAVIES, F.T.; BOUTTON, T.W. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of hibiscus rosa-sinensis at three potassium concentrations. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 43, p. 135–140, 2005.

EHLERINGER, J.; ANTHONY, R.; FARQUHAR, J. About the book. Stable isotopes and plant carbon-water relations. New York: Academic Press, 1993. 555 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas**: Princípios e perspectivas. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 399 p.

ERNANI, P.R.; ALMEIDA, J.A.; SANTOS, F.C. Potássio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V. H.V.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017 p.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R., HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the inter-cellular carbon-dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 9, p. 121-137, 1982.

FERREIRA, T.H.S.; TSUNADA, M.S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G.V. Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 1-18, 2017.

FIEHN, O. Extending the breadth of metabolite profiling by gas chromatography coupled o mass spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 261-269, 2008.

FIEHN, O. Metabolics – the link between genotypes and phenotypes. **Pant Molecular Biology**, The Hague, v. 48, p. 155-171, 2002.

FUKUSHIMA, A.; KUSANO, M.; REDESTIG, H.; ARITA, M.; SAITO, K. Integrated omics approaches in plant systems biology. **Current Opinion in Chemical Biology**, London, v. 13, p. 532-538, 2009.

FURTADO, A.; LUPOI, J.S.; HOANG, N.V.; HEALEY, A.; SINGH, S.; SIMMONS, B.A. Modifying plants for biofuel and biomaterial production. **Plant Biotechnology Journal**, Sheffield, v. 12, p. 1246–1258, 2014.

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

GRZEBISZ, W.; GRANSEE, A.; SZCZEPANIAK, W.; DIATTA, J. The effects of potassium fertilization on water-use efficiency in crop plants. **Journal of plant nutrition**, Weinheim, v. 176, p. 355-374, 2013.

GUY, C.; KOPTA, J.; MORITZ, T. Plant metabolics coming of age. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 132, p. 113-116, 2008.

HASANUZZAMAN, M.; BORHANNUDDIN BHUYAN, M.H.M.; NAHAR, K.; HOSSAIN, MD.S.; AL MAHMUD, J.; HOSSEN, MD.S.; MASUD, A.A.C.; MOUMITA; FUJITA, M. Potassium: a vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. **Agronomy**, Basel, v. 8, n. 31, p. 1-29, 2018.

HERMANS, C.; HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J.; VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? **Trends in Plant Science**, London, v. 11, p. 610-617, 2006.

HILL, C.B.; ROESSNER, U. Metabolic profiling of plants by GC-MS. In WECKWERTH W.; KAHL, G. (Ed.). **The handbook of plant metabolics**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2013. p. 1-23.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 102-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N.G.; SMITH, D.M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 4, p. 185-202, 2005.

JAMIN, E.; GONZALEZ, J.; REAMUD, G.; NAULET, N.; MARTÍN, G.G. Detection of exogenous sugars or organic acids addition in pineapple juices and concentrates by <sup>13</sup>C IRMS analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 3961-3967, 1997.

JORGE T.F.; RODRIGUES, J.A.; CALDANA, C.; SCHMIDT, R.; van DONGEN, J.T.; THOMAS-OATES, J.; ANTÓNIO, C. Mass spectrometry-based plant metabolomics: Metabolite responses to abiotic stress. **Mass Spectrometry Reviews**, New York, v. 35, p. 620-649, 2016.

JORGE, T.F.; ANTONIO, C. Plant metabolomics in a changing world: metabolite responses to abiotic stress combinations. In: VIOLETA, A. (Ed.). **Plant, abiotic stress and responses to climate change**. London: IntechOpen, 2018. cap. 6, p. 111-132.

KAFKAFI, U.; XU, G.; IMAS, P.; MAGEN, H.; TARCHITZKY, J. **Potassium and chloride in crops and soils:** the role of potassium chloride fertilizer in crop nutrition. Horgen, Switzerlands: International Potash Institute, 2001. 220 p. (IPI Research Topics, 22).

KANAI, S.; MOGHAIEB, R.E.; EL-SHEMY, H.A.; PANIGRAHI, R.; MOHAPATRA, P.K.; ITO, J.; NGUYEN, N.T.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Potassium deficiency affects water status and photosynthetic rate of the vegetative sink in green house tomato prior to its effects on source activity. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 180, n. 2, p. 368-374, 2011.

KINGSTON, G. Mineral nutrition of sugarcane. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Ed.). **Sugarcane:** physiology, biochemistry & functional biology. Indianapolis: Wiley-Blackwell, 2014. p. 85-115.

LAKSHMANAN, P.; ROBINSON, N. Stress physiology: abiotic stresses. In: MOORE, P.H.; BOTHA, F.C. (Ed.). **Sugarcane**: physiology, biochemistry, and functional biology. New Delhi: Wiley-Blackwell, 2014. p. 411-434.

LAL, R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. **Science**, New York, v. 304, n. 5677, p. 1623-1627, 2004.

LOPES, M.S.; ARAUS, J.L.; VAN HEERDEN, P.D.R.; FOYER, C.H. Enhancing drought tolerance in C4 crops. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 3135-3153, 2011.

MACHADO, E.C. Fisiologia de produção de cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. (Ed.). **Cana-de-açúcar**: cultivo e utilização. Campinas, Fundação Cargill, 1987.

MACHADO, R.S.; RIBEIRO, R.V.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, D.F.S.P.; MACHADO, E.C.; LANDELL, M.G.A. Biometric and physiological responses to water deficit in sugarcane at different phenological stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, DF, v. 44, p. 1575-1582, 2009.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MARSCHNER, P. Mineral nutrition of higher plants. 3. ed. New York: Elsevier, 2012. 651 p.

MÅRTENSSON, L.-M.; CARLSSON, G.; PRADE, T.; KØRUP, K.; LÆRKE, P.E.; JENSEN, E.S. Water use efficiency and shoot biomass production under water limitation is negatively correlated to the discrimination against <sup>13</sup>C in the C3 grasses *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* and *Phalaris arundinacea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 113, p. 1-5, 2017.

MARTIN, B.; THORSTENSON, Y.R. Stable carbon isotope composition ( $\delta^{13}$ C), water use efficiency, and Biomass Productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, abd F1 Hybrid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 2130217, 1988.

MARTINEAU, E.; DOMEC, J.C.; BOSC, A.; DENOROY, P.; FANDINO, V.A.; LAVRES, J.; MEILLE, L.J. The effects of potassium nutrition on water use in field-grown maize (*Zea mays* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 134, p. 62-71, 2017.

MARTINELLI, L.A.; OMETTO, J.P.H.B.; FERRAZ, E.S.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; VICTORIA, R.L. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009. 144 p.

MARTINELLI, L.A.; VICTÓRIA, R.L.; MATSUI, E.; FORSBERG, B.R.; MOZETO, A.A. Utilização das variações naturais de  $\delta^{13}$ C no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Botucatu, v. 11, p. 859-882, 1988.

MATEUS, N.S.; FERREIRA, E.V.O.; ARTHUR-JUNIOR, J.C.; DOMEC, J.C.; MEILLE, L.J.; GONÇALVES, J.L.M.; LAVRES, J. The ideal percentage of K substitution by Na in Eucalyptus seedlings: Evidences from leaf carbon isotopic composition, leaf gas exchanges and plant growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 138, p. 102-112, 2019.

MEILLE, J.L.; MARTINEAU, E.; BORNOT, Y.; LAVRES JUNIOR, J.; ABREU JUNIOR, C.H.; DOMEC, J.C. How does water-stressed corn respond to potassium nutrition? A shoot-root scale approach study under controlled conditions. **Agriculture**, Warsaw, v. 8, p. 180, 2018.

MEINZER FC, PLAUT Z, SALIENDRA N.C. Carbon isotope discrimination, gas exchange and growth of sugarcane cultivars under salinity. **Plant Physiology**, Rockville, v. 104, p. 521–526, 1994.

MEURER, E.J. Potássio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 281-298.

MONNEVEUX, P.; SHESHSHAYEE, M.S.; AKHTER, J.; RIBAUT, J.M. Using carbon isotope discrimination to select maize (*Zea mays* L.) inbred lines and hybrids for drought tolerance. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 173, p. 390-396, 2007.

MONTEIRO, L.A.; SENTELHAS, P.C. Sugarcane yield gap: can it be determined at national level with a simple agrometeorological model? **Crop and Pasture Science**, Collingwood, v. 68, p. 272-284, 2017.

NIEVES-CORDONES, C.; RÓDENAS, R.; LARA, A.; RUBIO, V. M. F. The combination of K+ deficiency with other environmental stresses: What is the outcome? **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 165, p. 264–276, 2018.

ORLANDO FILHO, J.; ZAMBELLO JUNIOR, E.; AGUJARU, R. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil. Rio de Janeiro: IAA, PLANALSUCAR, 1983. 368p.

PERRENOUD, S. Potassium and plant health. 2. ed. Berne: International Potash Institute, 1990. 363 p.

PRADO, R.M. Nutrição de plantas. São Paulo: Editora Unesp, 2008. 407 p.

RABÊLO, F.H.S.; FERNIE, A.R.; NAVAZAS, A.; BORGO, L.; KEUNEN, E.; SILVA, B.K.A.; CUYPERS, A.; LAVRES, J. A glimpse into the effect of sulfur supply on metabolite profiling, glutathione and phytochelatins in *Panicum maximum* cv. Massai exposed to cadmium. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 151, p. 76-88, 2018.

RAIJ, B. van. Calibração do potássio trocável em solos para feijão, algodão e cana-de-açúcar. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 575-576, 1974.

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

RASHEED, F.; DREYER, E.; RICHARD, B.; BRIGNOLAS, F.; MONTPIED, P.L.E.; THIEC, D. Genotype differences in <sup>13</sup>C discrimination between atmosphere and leaf matter match differences in transpiration efficiency at leaf and whole-plant levels in hybrid *Populus deltoids*  $\times$  *nigra*. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 36, p. 87–102, 2013.

RICHTER, J.; ERBAN, A.; KOPTA, J.; ZÖRB, C. Metabolic contribution to salt stress in two maize hybrids with contrasting resistance. g resistance. **Plant Science**, Shannon, v. 233, p. 107-115, 2015.

RODELLA, A.A.; ZAMBELLO JUNIOR, E.; ORLANDO FILHO, J. A calibração de análises de fósforo e potássio no solo em cana-de-açúcar; 2<sup>a</sup> aproximação. **Saccharum STAB**, São Paulo, v. 6, n. 28, p. 39-42, 1983.

ROSILLO-CALLE, F.R.; BAJAY, S.V.; ROTHMAN, H. **Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira**. Campinas: UNICAMP, 2005. 448 p.

ROSOLEM, C.A.; MATEUS, G.P.; GODOY, L.J.G.; FELTRAN, J.C.; BRANCALIÃO, S.R. Morfologia radicular e suprimento de potássio às raízes de milheto de acordo com a disponibilidade de água e potássio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 875-884, 2003.

ROSSETTO, R.; DIAS, F.L.F.; VITTI, A.C.; PRADO JUNIOR, J.P.Q. Fósforo. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2010. p. 271-289.

RUIZ, H.A.; MIRANDA, J.; CONCEIÇÃO, J.C.S. Contribution of mass flow and diffusion mechanisms for supplying K, Ca and Mg to rice plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 1015-1018, 1999.

SEGATTO, S.V.; MATTIUZ, C. F.M.; MOZAMBANI, A.E. Aspectos fenológico da cana-deaçúcar, In: SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÒBREGA, J.C.M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ, 2006. p. 19-36.

SEIBT, U.; RAJABI, A.; GRIFfiTHS, H.; BERRY, J.A. Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. **Oecologia**, New York, v. 155, p. 441-454, 2008.

SEKI, M.; UMEZAWA, T.; URANO, K.; SHINOZAKI, K. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, p. 296–302, 2007.

SILVA, M. de A.S.; SOARES, R.A.B.; LANDELL, M.G. de A.; CAMPANA, M.P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 655-661, 2008.

SMELTEKOP, H.; CLAY, D.E.; CLAY, S.A. The impact of intercropping annual sava snail medic on corn production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, n. 4, p. 917-924, 2003.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239. (Boletim Técnico, 100).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TAMBUSSI, E.A.; BARTOLLI, C.G.; BELTRANO, J.; GUIAMET, J.J.; ARAUS, J.L. Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 108, n. 4, p. 398-404, 2000.

WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The critical role of potassium in plant stress response. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 4, p. 7370–7390, 2013.

YAMAKAWA, H. et al. Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray. **Plant Physiology**, Rockville v. 144, p. 258-277, 2007.

# 3. INTERAÇÃO ÁGUA E POTÁSSIO NAS RESPOSTAS BIOMÉTRICAS, FISIOLÓGICAS E ISOTÓPICA EM CANA-DE-AÇÚCAR

#### Resumo

A nutrição potássica apresenta uma relação positiva com a capacidade das plantas em suportar estresses abióticos, como a seca. Estudos que contemplem o entendimento das respostas fisiológicas e nutricionais das plantas frente ao estresse hídrico e uso de K são necessários para o melhor entendimento da atuação desses fatores no desenvolvimento da cultura, e também para seleção de cultivares mais adaptados a condições adversas. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar efeito do déficit hídrico e do incremento de K no solo sobre os parâmetros biométricos, fisiológicos e nutricionais das plantas de cana-de-açúcar; eficiência no uso da água e de K e composição isotópica do carbono na folha ( $\delta^{13}$ C). Os experimentos com os genótipos independentes, IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7, foram conduzidos em casa-devegetação, e as plantas foram cultivadas em duas condições hídricas (80% e 40% da capacidade máxima de retenção de água no solo, controle e déficit, respectivamente) e dois teores de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), num esquema fatorial 2x2, inteiramente casualizado e com quatro repetições. Em geral, houve diferenças para as variáveis-resposta dos genótipos nas plantas mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) e com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Dessa forma, observando-se os parâmetros de trocas gasosas, houve incremento nos valores de gs e E em IACSP95-5000 e A (assimilação de CO<sub>2</sub>), gs (condutância estomática), E (transpiração) e k (eficiência instantânea de carboxilação) em RB975201. A concentração de clorofila nas folhas e a eficiência do fotossistema II apresentaram incremento para os genótipos CTC14 e RB975201, respectivamente. Em RB975201 e CTC7 observou-se a redução do potencial hídrico, mantendo o ajuste de turgidez da célula. Também foram observados incremento na área foliar dos genótipos IACSP95-5000, CTC14 e RB975201 e na massa seca total de CTC7. O  $\delta^{13}$ C‰ apresentou efeito de redução dos valores em RB975201. As plantas de IACSP95-5000 apresentaram aumento da EUA em todas as escalas, porém esse efeito foi pronunciado em 3mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Dessa forma, de modo geral, constataram-se incrementos nas variáveis-respostas com o aumento da disponibilidade de K no solo variando para os genótipos estudados, indicando haver relação positiva entre a nutrição potássica quando as plantas foram submetidas ao estresse hídrico, principalmente nos ajustes fisiológicos.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Avaliação fisiológica. Avaliação nutricional. Tolerância à seca.

#### Abstract

Potassium nutrition has a positive relationship with the ability of plants to support abiotic stresses, such as drought. Studies that contemplate the understanding of the physiological and nutritional responses of plants to water stress and the K use, are necessary for a better understanding the role of these factors in the development of crop, and also for the selection of cultivars more adapted to adverse conditions. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of water deficit and increase of K in soil on biometric, physiological and nutritional parameters of sugarcane plants; water and K-use efficiency and leaf carbon isotopic composition ( $\delta^{13}$ C). The experiments with independent genotypes, IACSP95-5000, CTC14, RB975201 and CTC7, were carried out in a greenhouse, and the plants were grown under two water conditions (80% and 40% of the maximum water retention capacity in soil, control and deficit, respectively) and two K levels in soil (3 and 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), in a 2x2 factorial scheme, completely randomized, with four replications. In general, there were differences for the response-variables for the genotypes, in plants maintained under water deficit (CH-40%) and with the increase of K availability in soil (from 3 to 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Thus, observing the gas exchange parameters, there was an increase in the values of gs and E in IACSP95-5000 and A (CO<sub>2</sub> assimilation), gs (stomatal conductance), E (transpiration) and k (instantaneous carboxylation efficiency) in RB975201. The chlorophyll concentration in leaves and the efficiency of photosystem II showed an increase for the genotypes CTC14 and RB975201, respectively. In RB975201 and CTC7, a reduction in water leaf potential was observed, maintaining the cell's turgidity adjustment. An increase was also observed in leaf area of the genotypes IACSP95-5000, CTC14 and RB975201 and in total dry mass produciton of CTC7. The  $\delta^{13}$ C‰ showed a reduction effect in RB975201. The plants of IACSP95-5000 showed an increase in EUA in all scales, however this effect was pronounced in 3mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Thus, in general, there were increases in response-variables with increased availability of K in soil, varying for the studied genotypes, indicating a positive relationship between potassium nutrition when plants were subjected to water stress, mainly in physiological adjustments.

Keywords: Abiotic stress. Physiological evaluation. Nutritional assessment. Drought tolerance.

#### 3.1 Introdução

A seca causa déficit hídrico no solo e as plantas respondem de forma ativa a esse estímulo através de uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas no seu metabolismo visando à aclimatação nesse novo ambiente limitante (FANG; XIONG, 2015). O entendimento dos processos da interação planta e ambiente é de suma importância, sendo que as trocas gasosas fazem parte de um dos processos fisiológicos mais estudados entre as plantas, sendo utilizadas como ferramentas para a avaliação indireta da integridade do processo fotossintético como um todo frente às adversidades do meio ambiente, principalmente no tocante de serem avaliadas por meio de técnicas de análise rápidas, precisas e não destrutivas (TORRES NETTO et al., 2015).

Além disso, também existem outras técnicas menos usuais para determinação de variação nas trocas gasosas, em que está inserida a técnica isotópica da abundância natural de <sup>13</sup>C, sendo considerada uma importante ferramenta nesse tipo de avaliação em espécies e genótipos (FARQUHAR et al., 1989), e com isso contribuir para distinção de materiais genéticos mais tolerantes. Essa técnica é baseada no fracionamento isotópico do carbono (C), que ocorre na natureza devido aos isótopos estáveis do C, <sup>13</sup>C (aproximadamente 1,1% do total) e <sup>12</sup>C (98,9% do total), sendo que esses isótopos na forma de CO<sub>2</sub> são fixados nos tecidos das plantas de forma diferenciada (FARQUHAR et al., 1989).

A eficiência fisiológica das plantas tem uma estreita relação com o seu processo de crescimento. Quando as plantas são submetidas a condições ambientais de estresse podem ocorrer interferências no tilacóide, alterando a eficiência fotossintética, inativando o fotossistema II e a cadeia de transporte de elétrons, que é responsável pela produção de ATP e NADPH<sub>2</sub> (COSTA et al., 2003). Possíveis respostas de melhoria da tolerância das plantas à condição limitante de falta de água, provavelmente dependem ou possuem interação com a nutrição mineral potássica, principalmente em razão das inúmeras funções fisiológicas e bioquímicas que esse nutriente exerce nas plantas, contribuindo para a melhoria da eficiência do uso de água como estratégia para mitigar os impactos adversos da seca (MARTINEAU et al., 2017). Entretanto, segundo Meille et al. (2018) ainda existem lacunas de conhecimento da estrutura e do consumo de água pelas plantas.

A eficiência de absorção e uso de potássio (K) apresentam diferenças genotípicas para diversas espécies de interesse agronômico (RENGEL; DAMON, 2008). A eficiência de uso agronômico de nutrientes é definida de várias maneiras (FAGERIA et al., 1997) e, dessa forma,
os genótipos podem ser classificados em eficientes e responsivos (ER), eficientes e nãoresponsivos (ENR), não-eficientes e responsivos (NER) e não-eficientes e não-responsivos (NENR) (FAGERIA et al., 1997; FAGERIA, 2000).

Dessa forma, tendo como base o pressuposto, os objetivos desse estudo foram: (i) determinar os parâmetros biométricos e de trocas gasosas (taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> - *A*, condutância estomática - *g*s, transpiração - *E* e *k*), potencial de água na folha ( $\Psi$ m), concentração de clorofila bem como produção de biomassa; (ii) determinar as concentrações de K, Na, Ca e Mg, avaliar a absorção e as eficiências de uso da água (EUA) e de K em genótipos de cana-de-açúcar, cultivados sob condições de suprimentos hídrico (controle e déficit) e de potássio no solo (médio e alto teor) e (iii) usar a técnica de  $\delta^{13}$ C para elucidar respostas ao estresse hídrico, EUA e o uso do K como nutriente atenuador.

# **3.2** Material e Métodos

## 3.2.1 Material genético

No estudo para avaliar o efeito da disponibilidade de K e do suprimento de água em plântulas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), utilizaram-se mudas pré-brotadas (MPB) de quatro variedades de cana-de-açúcar fornecidas pelo viveiro "São José Mudas", localizado em Santa Cruz das Palmeiras, São Paulo, Brasil. A opção pelo uso de MPB foi realizada de modo a garantir um alto padrão de sanidade, vigor e maior uniformidade de plantio.

Entre as variedades selecionadas, a IACSP95-5000 é considerada responsiva aos insumos, com alta produção de biomassa e sistema radicular mais concentrado na superfície do solo (LANDELL et al., 2007), sendo também uma variedade que apresenta bons resultados em condições de déficit hídrico (MARCHIORI, 2014; SILVEIRA et al., 2017).

A CTC14 é uma variedade com alta adaptabilidade ao plantio e colheita mecanizada, com melhor potencial de produtividade em ambientes de produção favoráveis (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2018).

A RB975201 apresenta alta sanidade, produtividade e boa brotação na colheita mecanizada. É uma variedade recomendada para plantio em ambientes com alto potencial produtivo (RIDESA, 2015).

O CTC7 possui alto teor de sacarose, precocidade, adaptabilidade ao plantio mecanizado e longo período de utilização industrial (PUI). É uma variedade que apresenta melhor performance quando alocada em regiões com boa disponibilidade hídrica (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2018).

### 3.2.2 Condições experimentais

Os experimentos com genótipos de cana-de-açúcar foram realizados em casa de vegetação localizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura em Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°43 'de latitude sul e 47°38' de longitude oeste), durante o período de 02 outubro a 15 dezembro de 2019. O estudo foi realizado com mudas pré-brotadas (60 dias após a emergência), transplantadas em vasos plásticos individuais (5 dm<sup>-3</sup>) contendo amostras de um Latossolo Distrófico Vermelho-Amarelo típico (LVAd) (EMBRAPA, 2013). As amostras de solo foram coletadas da camada superior do solo (0-20 cm), homogeneizadas, secas ao ar, passadas por uma malha peneirada (2 mm) e enviadas para caracterização física e química.

A análise da umidade gravimétrica do solo foi realizada pelo Laboratório de Física do Solo (CENA/USP) através da câmara de pressão de Richards (EMBRAPA, 2011) e apresentou capacidade de campo (CC) (-0,3 Bar) e ponto de murcha permanente (PMP) (-15 Bar) de 9,9 e 14,4% da massa seca do solo, respectivamente. O solo apresentou constituição granulométrica (GEE; OR, 2002) de 818, 2 e 162 g kg<sup>-1</sup> de areia, silte a argila, respectivamente. A caracterização química foi avaliada de acordo com Raij et al., (2001): pH 5,4 (CaCl<sub>2</sub>); matéria orgânica 18 g dm<sup>-3</sup>; P (resina) 28 mg dm<sup>-3</sup>; K 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca 20 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg 9 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al 0 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H + Al 21 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC 52 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; soma de bases (SB) 32 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; saturação por bases (V%) 60; Cu 2 mg dm<sup>-3</sup>; Fe 29 mg dm<sup>-3</sup>; Zn 5 mg dm<sup>-3</sup>; Mn 3 mg dm<sup>-3</sup> e B 0,2 mg dm<sup>-3</sup>.

Para a correção da fertilidade do solo utilizado no experimento, os fertilizantes foram aplicados no plantio e em cobertura, conforme análise do solo (MALAVOLTA, 1980). O fósforo (P) foi fornecido através de fosfato de diamônio (DAP), o nitrogênio (N) como NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, Manganês (Mn) como MnSO<sub>4</sub><sup>-2</sup>.H<sub>2</sub>O e boro (B) como H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Todos os fertilizantes utilizados foram p.a. Não foi necessária a correção da acidez e dos demais nutrientes (Ca, Zn, Fe e Mn), pois os teores disponíveis já estavam adequados para a cultura da cana-de-açúcar.

Em relação aos tratamentos com K, manteve-se o teor original do solo do experimento (3 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>, condição média) para a metade das unidades experimentais, em que a disponibilidade de K não foi corrigida, e para a outra parte, elevou-se para 6 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup> (condição considerada adequada/ótima) (SPIRONELLO et al., 1997), por meio da adubação com KCl, a partir da análise do solo. A adubação de K foi realizada por meio do uso de solução estoque de KCl (1 mol L<sup>-1</sup>). Este estudo não considerou avaliar o desempenho de plantas cultivadas em solos com baixa disponibilidade de K, visto que as respostas relacionadas a distúrbios morfológicos, nutricionais e fisiológicos em plantas com alta deficiência de K já são amplamente divulgadas na literatura (SUDAMA et al., 1998; BENLLOCH-GONZALEZ et al., 2008; ANDESERSEN; JENSENM; LÖSCH, 2009; VALADABADI; FARAHANI, 2010; JÁKLI et al., 2018) e também por não representar as condições reais/adequadas de áreas de cultivo de cana-de-açúcar, que normalmente recebem aplicação de vinhaça.

Após o transplante das plantas, o conteúdo de água foi mantido na capacidade de campo durante 15 dias e, em seguida, as plântulas foram expostas a dois regimes hídricos: controle e déficit hídrico. O teor relativo de água no solo (SRWCs) no solo em ambos os regimes, foi realizado por meio do método gravimétrico (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2009), com irrigação de até 80 e 40% da capacidade de retenção de água, condições de disponibilidade hídrica (controle) e déficit hídrico, respectivamente.

A SRWCs é expressa pela equação:

$$SRWCs = (W_{solo} + W_{vaso} - DW_{solo}) / W_{FC} - W_{vaso}$$
(1)

Em que  $W_{Solo}$  é o peso atual do solo (solo + vaso + água),  $W_{vaso}$  é o peso do vaso vazio,  $DW_{solo}$  é o peso do solo seco e  $W_{FC}$  é o peso do solo na capacidade de campo.

Os vasos foram pesados diariamente em uma balança analítica de precisão, adicionando água até o correspondente SRWC valor, repondo a quantidade de água transpirada e evaporada. As reposições de água foram realizadas ao final do dia e registradas. Além do controle do peso da água por meio da pesagem de vasos, a umidade do solo também foi monitorada através de leituras diariamente com o uso do equipamento *Soilmoisture GBlocks* (5201F1, *Soilmoisture Equipment Corp., California, USA*), de maneira a validar o conteúdo de água imposto.

Aos 57 e 58 dias após o transplante (DAT) foram realizadas as análises não destrutivas das plantas: avaliações biométricas (altura das plantas e diâmetro do colmo); estimativa do teor de clorofila (em unidade SPAD), parâmetros de trocas gasosas; eficiência quântica do

fotossistema II e potencial hídrico foliar. As plantas foram colhidas aos 60 DAT, identificadas, pesadas e separadas em folhas, de acordo com o sistema descrito por Kuijper (VAN DILLEWIJN, 1952), colmo e raízes. As raízes foram lavadas em água corrente, usando duas peneiras sobrepostas (malhas de 1,00 e 0,25 mm) para evitar a perda de raízes durante o processo de separação.

O delineamento experimental para cada genótipo foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2x2, sendo as principais fatores dois regimes de fornecimento de água (controle – 80% e déficit hídrico – 40%) e dois teores disponíveis de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), com 4 repetições, totalizando 16 unidades experimentais (uma planta em cada vaso), para cada experimento independente de genótipo.

#### 3.2.3 Parâmetros biométricos e de trocas gasosas

A altura da planta (H) foi medida do solo até a inserção da folha +1 e o diâmetro (D) foi medido no terço médio do colmo e, usando um paquímetro digital.

As medidas dos parâmetros de trocas gasosas - assimilação de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração (*E*) foram registradas entre 10 e 12 horas, na porção média da folha (+1), utilizando um analisador de gás infravermelho (*IRGA*, *Li-6400*, *Licor Inc. Lincoln NE*, *USA*), sendo a concentração externa de CO<sub>2</sub> fixada em 380 µmol mol<sup>-1</sup> e a radiação fotossinteticamente ativa em 2.000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (MARCOS et al., 2018).

Posteriormente, as relações foram calculadas: Eficiência instantânea de carboxilação (k = A/C<sub>i</sub>) (FARQUHAR; SHARKEY, 1982), eficiência do uso de água instantânea (EUA<sub>T</sub> = A/E) e a eficiência intrínseca do uso da água (EUA<sub>i</sub> = A/gs) (FARQUHAR; RICHARDS, 1984; MARTIN; THORSTENSON, 1988). A eficiência no uso de água em longo prazo (EUA<sub>L</sub>) foi calculada dividindo-se a produção total de matéria seca pelo consumo de água durante o período experimental (g peso seco / kg H<sub>2</sub>0) (MARTIN; THORSTENSON, 1988).

#### 3.2.4 Determinação da concentração de clorofila e eficiência do fotossistema II

A concentração de clorofila foi estimada pelo medidor de clorofila SPAD-502 (*Soil-Plant Analysis Dev., Minolta Camera Co., Osaka, Japan*). Foi utilizada uma média de três leituras na folha +1, de cada planta.

A eficiência quântica do fotossistema II (PSII) foi determinada na folha (+1), utilizando um fluorômetro de clorofila PAM (*Pulse Amplitude Modulated*) (*JUNIOR-PAM*,

*Walz, Germany*) e os parâmetros de fluorescência mínima inicial (Fo) e fluorescência máxima (Fm) foram processados no software *WinControl (Walz, Effeltrich, Germany*).

As folhas foram previamente adaptadas no escuro por 30 minutos, de acordo com Da Matta et al. (1997). A Fo ocorre quando todas as reações do PSII se fecham e a Fm quando os centros de reação de PSII estão abertos. Fo e Fm foram utilizados para calcular a fluorescência variável (Fv = Fm - Fo) e o rendimento quântico máximo do PSII (Fv / Fm) (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

#### 3.2.5 Potencial de água na folha

O potencial de água na folha (Ψm) foi determinado na folha +1 usando uma câmara de pressão Scholander modelo 3005 (*Soil Moisture Equipment Corp., Santa Barbara CA, USA*) (MARTÍNEZ-FERNANDEZ et al., 2012). As medidas foram tomadas na antemanhã (3h) (Ψma) e ao meio-dia (Ψmm), sendo expressas em MPa.

### 3.2.6 Determinação da área foliar e produção de massa seca

A área foliar (AF) foi determinada utilizando-se medidor integrador de área foliar LI 3100 (*LI-COR Inc., Lincoln, USA*). A área foliar específica (AFe) foi calculada dividindo-se AF (m<sup>2</sup>kg<sup>1</sup>) pela produção de matéria seca das folhas (kg planta<sup>-1</sup>) (WITKOWSKI; LAMONT, 1991).

Para obter a produção de massa seca, cada parte da planta (folhas, colmo e raiz) foi seca em estufa de ventilação forçada a 60°C por 90 h. A relação parte aérea/raiz foi calculada dividindo-se o peso seco total das folhas e colmo pela matéria seca total das raízes.

### 3.2.7 Determinação dos teores de K, Ca, Mg e Na

Após a secagem, o material vegetal (folhas, colmo e raízes) foi moído em um moinho tipo Wiley e o extrato vegetal foi obtido via digestão nítrico-perclórica (5:1 v/v), conforme descrito por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), para determinação das concentrações de K, Ca e Mg, por meio de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (*ICP-OES, Model iCAP 7000 series, Thermo Fisher Scientific, USA*). A concentração de Na foi obtida por espectrometria de absorção atômica por chama (*Perkin Elmer AAnalyst 3110, Elmer Inc., Shelton, CT, USA*).

O acúmulo de nutrientes foi calculado multiplicando-se a concentração do elemento no tecido vegetal pela produção de matéria seca do respectivo tecido (folhas, colmo e raiz) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). O acúmulo de K foi utilizado para determinar a eficiência de absorção de K ( $EA_K$ ) (Equação 2) (SWIADER; CHYAN; FREIJI, 1994) e a eficiência de uso de K ( $EU_K$ ) (Equação 3) (SIDDIQI; GLASS, 1981).

$$EA_{K} = K$$
 na planta (mg) / massa seca raiz (g) (2)

$$EU_{K} = (massa seca total)^{2} (g) / K na planta (mg)$$
(3)

# **3.2.8** Composição isotópica de $\delta^{13}$ C de tecido vegetal

A composição isotópica de carbono ( $\delta^{13}$ C ‰) foi realizada nas folhas +1, após secas e moídas, em espectrômetro de massa ANCA-GSL (*Hydra 20-20 SERCON Co., Crewe, GBR*) acoplado a um analisador automático de carbono, segundo metodologia de Barrie e Prosser (1996) e através da equação (PARK; EPSTEIN, 1960; HENDERSON; CAEMMERER; FARQUHAR, 1992; CERNUSAK et al., 2013):

$$\delta^{13}C(\%_0) = \left(\frac{Ramostra}{Rpadrão} - 1\right) \times 1000$$
(1)

Em que R é a razão de  ${}^{13}C/{}^{12}C$  e o material de referência é o *Vienna Pee Dee Belemnite VPDB* = 0,01117960 (CRAIG, 1957).

#### 3.2.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do programa estatístico R Software® versão 3.5.1 (R Development Core Team, 2015). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F (P <0,05) e seguidos pelo teste de médias de Tukey, quando foram detectadas diferenças. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EP). O regime hídrico e o suprimento de K foram considerados fatores nos experimentos com os genótipos. A distribuição normal e a homogeneidade das variâncias foram examinadas pelos testes Shapiro - Wilk W e Bartlett, respectivamente.

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Parâmetros biométricos

A Tabela 1 apresenta a análise de variância e os resultados dos tratamentos de condição hídrica (CH-80% e CH-40%) e dos teores de K disponíveis no solo  $(3 \text{ e } 6 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}, \text{médio e alto teor, respectivamente})$  para os parâmetros de altura e diâmetro do colmo dos genótipos estudados.

Em IACSP95-5000 a altura das plantas em condição de déficit hídrico (CH-40%) não apresentou efeito pronunciado do K, sendo que não foram observadas diferenças de média entre os tratamentos de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) e, dessa forma, constatou-se que para a interação CH x K, somente a limitação hídrica influenciou na altura de plantas. O mesmo comportamento foi observado para o diâmetro do colmo.

CTC14 apresentou altura média 37% superior das plantas controle em relação às cultivadas em déficit hídrico, sendo que o teor de K no solo também não apresentou efeito significativo entre os fatores (Tabela 1). O diâmetro do colmo das plantas mantidas em déficit hídrico não apresentou diferença significativa entre os teores disponíveis de K no solo, e dessa forma, também não foi observada influência da disponibilidade de K no solo em mitigar o efeito negativo do déficit hídrico para esse parâmetro em CTC14.

Para o genótipo RB975201 foi observada na interação CH x K na altura das plantas. Para o diâmetro do colmo, as plantas sob regime hídrico ideal apresentaram média 21% superior em relação às plantas mantidas em déficit hídrico, independente do teor de K no solo (Tabela 1). CTC7 apresentou comportamento distinto dos outros genótipos avaliados, de forma que em déficit hídrico (CH-40%) houve incremento em altura de 27% quando as plantas foram cultivadas em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K. Dessa forma, pode-se observar que o aumento da disponibilidade no teor de K no solo foi efetivo para mitigar o efeito do déficit hídrico nestas plantas. Para o diâmetro do colmo, não houve efeito das doses de K, observando-se somente efeito independente da CH. As plantas mantidas sob tratamento CH-80% apresentaram altura média 39% superior em relação àquelas mantidas em CH-40%.

Tabela	1 -	Altura (H) e diâmetro (D) dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000, CTC14
		RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH
		40%) e teor disponível de K no solo (3 e 6 mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )

Tratament	tos -	Genótipos			
		IACSP9	95-5000		
Condicão hídrica (CH)	K	Altura	Diâmetro		
Conarçao marica (CII)	$(\text{mmol}_{c} \text{ dm}^{-3})$	(cm)	(cm)		
Controle	3	30,4 Ba $\pm$ 0,6	12,1 Ba $\pm$ 0,4		
Controle	6	35,8 Aa ± 1,2	19,3 Aa ± 0,8		
Déficit	3	27,1 Ab $\pm$ 1,2	12,0 Aa ± 0,4		
Denci	6	26,4 Ab ± 0,3	12,1 Ab ± 0,3		
	CH	0,000015*	0,000018*		
P valor	Κ	0,025220*	0,000002*		
I -valor	CH*K	0,005428*	0,000022*		
	CV (%)	6,1	6,8		
		СТС	C14		
	K	Altura	Diâmetro		
Condição hídrica (CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$	(cm)	(cm)		
	3	45.5 a ± 0.75	17.9 Aa ± 0.4		
Controle	6	$42.5 a \pm 2.3$	$15.9 \text{ Ba} \pm 0.6$		
	3	32.5  b + 1.3	$12.1 \text{ Ab} \pm 0.5$		
Déficit	6	$31.8 \text{ b} \pm 0.3$	$12.9 \text{ Ab} \pm 0.8$		
	CH	0.00000*	0.000006*		
	K	ns	ns		
P-valor	CH*K	ns	0.04472*		
	CV (%)	7.3	7.6		
		RB97	5201		
	K	Altura	Diâmetro		
Condição hídrica (CH)	$(\text{mmol}_{a} \text{dm}^{-3})$	(cm)	(cm)		
	3	46,1 Aa ± 1,7	18,9 a ± 1,0		
Controle	6	39,5 Ba ± 1,2	19.6 a ± 1.1		
	3	29,8 Ab ± 1,6	15,2 b ± 0,9		
Deficit	6	31,0 Ab ± 1,5	16,8 b ± 0,3		
	СН	0,000003*	0,00192*		
	Κ	ns	ns		
P-valor	CH*K	0,023928*	ns		
	CV (%)	8.3	9.6		
		СТ	C7		
	K	Altura	Diâmetro		
Condição hídrica (CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$	(cm)	(cm)		
	3	56,5 Aa ± 1,2	18,1 a ± 0,6		
Controle	6	$53,1 \text{ Aa} \pm 2.1$	$17.8 a \pm 0.7$		
	3	36,4 Bb ± 0,7	$12,2 b \pm 0.6$		
Déficit	6	$43.3 \text{ Ab} \pm 0.8$	$13.7 \text{ b} \pm 0.6$		
	СН	0,000000*	0,00001*		
	K	ns	ns		
P-valor	CH*K	0,001568*	ns		
	CV (%)	5.7	8.6		
	2. (/0)	-,,	3,0		

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre a condição hídrica (dentro do mesmo teor de K); Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). Todos os dados são apresentados em média  $\pm$  EP, n = 4. \* P <0,05; ns - não significativo.

A Tabela 2 apresenta a análise de variância para os parâmetros de trocas gasosas (assimilação de  $CO_2$  - *A*, condutância estomática - *gs*, transpiração - *E* e eficiência instantânea de carboxilação - *k*) e EUA (eficiência no uso de água instantânea - EUA<sub>T</sub>, eficiência no uso de água intrínseca - EUA<sub>i</sub> e eficiência no uso de água em longo prazo - EUA<sub>L</sub>) dos genótipos estudados.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de trocas gasosas (assimilação de CO<sub>2</sub> - A, condutância estomática - gs, transpiração - E e eficiência instantânea de carboxilação K) e eficiência do uso da água (eficiência no uso de água instantânea - EUA<sub>T</sub>, eficiência no uso de água intrínseca - EUA<sub>i</sub> e eficiência no uso de água em longo prazo - EUA<sub>L</sub>) de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com a condição hídrica (CH) e o teor de K disponível no solo. \*p<0,05; ns – não significativo</li>

	IACSP95-5000	CTC14	RB975201	CTC7
ANOVA			A	
CH	0,000061*	0,000000*	0,000032*	0,000194*
Κ	ns	ns	0,000078*	0,004754*
CH*K	ns	ns	0,002321*	ns
CV (%)	22,1	15,7	11,1	11,7
		Į	gs	
CH	0,000200*	0,000006*	0,000002*	0,00003*
Κ	0,000000*	ns	0,000026*	0,00136*
CH*K	0,000003*	ns	0,010643*	ns
CV (%)	15,2	20,9	15,1	17,9
		-	E	
CH	0,000218*	0,00002*	0,000000*	0,00004*
Κ	0,000000*	ns	0,008727*	ns
CH*K	0,005806*	ns	0,002464*	ns
CV (%)	14,2	15,5	11,6	14,1
			k	
CH	0,000000*	0,000000*	0,000032*	0,000000*
Κ	ns	0,000000*	0,000001*	0,000000*
CH*K	0,03915*	0,000000*	0,003980*	ns
CV (%)	22,2	22,4	21,2	10,7
		EU	UA <sub>T</sub>	
СН	ns	0,00712*	0,00193*	0,00870*
Κ	0,00007*	ns	ns	ns
CH*K	0,00096*	ns	ns	ns
CV (%)	21,1	21,6	13,5	17,1
		E	UA <sub>i</sub>	
СН	ns	ns	0,012097*	0,004063*
Κ	0,000005*	0,01845*	0,023408*	0,016845*
CH*K	0,000004*	0,01877*	ns	0,047724*
CV (%)	17,2	19,7	32,2	22,1
		EU	UA <sub>L</sub>	
СН	ns	ns	0,01841*	ns
Κ	ns	0,02088*	ns	0,00348*
CH*K	0,036422*	ns	ns	ns
CV (%)	17,8	16,9	15,9	12,6

Quanto aos resultados de trocas gasosas (Figura 1), para o genótipo IACSP95-5000 o parâmetro *A* apresentou redução de 50% na média do tratamento controle em relação ao déficit, enquanto que para CTC14 esse valor de redução foi de 55%, sendo que para esses dois genótipos o teor de K no solo não apresentou efeito significativo, somente efeito independente de CH (Tabela 2). Em RB975201 em condições de déficit hídrico (CH-40%), as plantas apresentaram aumento de 98% em *A* com o incremento do teor de K disponível no solo de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, ou seja, observou-se efeito atenuador do nutriente, quando incrementou-se a disponibilidade no solo de K. O genótipo CTC7 apresentou incremento de 37% da média da CH controle em relação ao déficit, e de 23% do médio para o alto teor de K no solo, mas nesse caso não foi observada interação dos efeitos (CH e K) (Tabela 2).

Para a condutância estomática (gs), em IACSP95-5000 cultivado no tratamento CH-40% e com alto teor de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) as plantas apresentaram 240% de incremento em gs em relação àquelas plantas cultivadas sob teor médio de K (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), nessa mesma condição hídrica. Em RB975201 esse mesmo incremento em gs foi de 143%. Dessa forma, tanto para IACSP95-5000 e RB975201 foi observado que o maior teor de K no solo mitigou os efeitos do déficit hídrico na gs. O genótipo CTC14 apresentou incremento em gs do tratamento de controle hídrico em relação ao déficit, mas nesse caso a disponibilidade de K no solo não apresentou efeito significativo. Em CTC7 houve incremento na gs de 46% na média do controle hídrico em relação ao déficit, e aumento de 45% nos valores de gs com o incremento da disponibilidade de K no solo, porém foi observada interação dos efeitos (CH e K) (Tabela 2).

Com relação à transpiração (*E*), a variedade IACSP95-5000 mantida sob condição de déficit hídrico (CH-40%) apresentou aumento de 280% do valor de *E*, quando cultivadas em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, em relação àquelas cultivadas em 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K no solo. O genótipo RB975201 cultivado sob CH-40% apresentou o mesmo comportamento, com incremento de 83% em *E*, com o aumento da disponibilidade de K no solo. Para esse genótipo foi também observado que a transpiração das plantas (*E*) não foi alterada pelos tratamentos CH-40% e CH-80%, quando cultivadas em solo com o teor de K disponível de 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K. Esses dados sugerem tanto para IACSP95-5000 quanto para RB975201 houve efeito pronunciando do suprimento de K em mitigar a condição de déficit hídrico imposto a essas plantas. A variedade CTC14 incrementou a taxa de transpiração (*E*) média de 42% com o aumento na disponibilidade de água no solo; enquanto que para a variedade CTC7 esse aumento foi de 36%, sendo que para ambas as variedades não foram observados efeitos do teor disponível de K no solo (Tabela 2).

Quanto à eficiência instantânea de carboxilação (k), para IACSP95-5000 e CTC14 não foram observadas diferenças das médias dos valores, nos tratamentos 3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K, com regime hídrico de CH-40%. Enquanto que para RB975201 mantida sob CH-40%, houve incremento de 450% com o aumento na disponibilidade de K no solo, evidenciando que o K apresentou efeito atenuador do déficit hídrico para a variável-reposta k. O genótipo CTC7 não apresentou interação CH x K para k, somente efeito dos fatores independentes CH e K (Tabela 2).

Dessa forma, para os parâmetros de trocas gasosas (A, gs, E e k), de maneira geral, observou-se que os materiais IACSP95-5000 e RB975201 foram os genótipos menos impactados pelo déficit hídrico, quando as plantas foram cultivadas sob maior teor de K disponível no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Para a eficiência de uso de água instantânea (EUA<sub>T</sub>), observou-se para o genótipo IACSP95-5000 mantido em condição de déficit hídrico (CH-40%), redução de 69% quando os teores disponíveis de K no solo aumentaram de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Figura 2). Os demais genótipos (RB975201, CTC14 e CTC7) apresentaram variação dos valores de EUA<sub>T</sub> somente para os tratamentos de CH (40% e 80%), não sendo observado, portanto, efeito da disponibilidade de K no solo (Tabela 2). Para a variável eficiência de uso de água intrínseca (EUA<sub>i</sub>), observou-se para os genótipos IACSP95-5000, CTC14 e CTC7 mantidos sob déficit hídrico (CH-40%), redução desses valores quando houve incremento na disponibilidade de K no solo, de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Essas reduções foram de 77%, 41% e 36% para IACSP95-5000, CTC14 e CTC7, respectivamente. O genótipo RB975201 mantido sob CH-80% apresentou incremento de 62% dos valores de EUAi em relação ao tratamento CH-40%, e incremento de 53% da EUA<sub>i</sub> com a redução da disponibilidade de K no solo, todavia, sem ser observada interação dos fatores água e K no solo (Tabela 2). Dessa forma, para IACSP95-5000 observa-se um melhor desempenho tanto para EUA<sub>T</sub>, quanto EUA<sub>i</sub> em condição de média disponibilidade de K no solo.

Para a eficiência no uso de água em longo prazo (EUA<sub>L</sub>), observou-se que genótipo IACSP95-5000, mantido sob condição de déficit hídrico (CH-40%), reduziu em 9% a EUA<sub>L</sub> com o incremento da disponibilidade de K no solo de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, evidenciando melhor desempenho das plantas em termos de EUA<sub>L</sub>, da mesma forma que EUA<sub>T</sub> e EUA<sub>i</sub>, em condição de média disponibilidade de K no solo.

Não foi observado efeito significativo de interação CH x K para a EUA<sub>L</sub> nos genótipos CTC14 e CTC7 (Tabela 2), enquanto que RB975201 apresentou aumento na média dos valores de EUA<sub>L</sub> em 22% quando houve incrementou do suprimento de água, independente da disponibilidade de K no solo (Tabela 2).

Figura 1 – Parâmetros de trocas gasosas – assimilação de CO<sub>2</sub> - A (A), condutância estomática - gs (B), transpiração - E (C) e k (D) dos genótipos de cana-deaçúcar (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e suprimento de K (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrica). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)



Figura 2 – Eficiência do uso de água instantânea - EUA<sub>T</sub> (A); Eficiência do uso de água intrínseca - EUA<sub>i</sub> (B) e Eficiência do uso de água a longo prazo - EUA<sub>L</sub> (C) dos genótipos de cana-de-açúcar (IAC SP 95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes regimes hídricos (controle CH-80% e déficit hídrico CH-40%) e suprimento de K (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)</li>



#### 3.3.3 Concentração de clorofila e eficiência do fotossistema II

A Tabela 3 apresenta a análise de variância e os resultados para os parâmetros de concentração de clorofila e eficiência do fotossistema II dos genótipos estudados.

A concentração de clorofila das folhas da variedade IACSP95-5000 cultivada em condição de déficit hídrico (CH-40%) não foi alterada pelos teores disponíveis de K no solo, porém também não foi constatada diferença das plantas mantidas em CH-80% e 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K no solo em relação àquelas mantidas CH-40% com esse mesmo teor de K, evidenciando nesse caso, que a disponibilidade média de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) já apresentou resposta em mitigar o impacto deletério do déficit hídrico na variável-reposta de concentração de clorofila. Para CTC14 o maior teor de K disponível no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) em condição de déficit hídrico (CH-40%), modulou a resposta da planta com o aumento de 33% do teor de clorofila nas folhas em relação ao menor teor de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Para os genótipos RB975201 e CTC7 não houve efeito de interação significativo entre CH x K (Tabela 3), sendo constatado somente efeito isolado desses fatores.

Com relação à variável-reposta fluorescência variável (Fv), observou-se em IACSP95-5000 que as plantas mantidas em déficit hídrico (CH-80%) não apresentaram diferenças com relação à disponibilidade de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> K). Em CTC14 não foi observado interação dos efeitos (CH e K), somente o efeito isolado da CH e teor de K no solo. Em CTC14 não foi observado interação dos efeitos (CH e K), apenas efeitos isolados de CH e K, com incremento de 24% da média do controle hídrico em relação à média do déficit, e de 49% da média do teor de 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> em relação a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K. O genótipo RB975201 cultivado em tratamento CH-40% apresentou 152% de incremento com o aumento da disponibilidade de K no solo, evidenciando resposta positiva do K ao déficit hídrico. Nesse genótipo, a variável-resposta Fv para as plantas cultivadas em CH-40% foi superior em relação aos valores observados nas plantas que foram cultivadas em CH-80% com maior disponibilidade de K no solo. Em CTC7 o controle hídrico apresentou redução de 14%, em relação às plantas sob déficit, sem efeito significativo para K (Tabela 3).

Para o rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm), observou-se para o genótipo IACSP95-5000 que as plantas mantidas sob déficit hídrico (CH-40%) não apresentaram diferenças com relação ao incremento de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> K), evidenciando que o aumento da disponibilidade de K, nesse caso, não apresentou efeito em mitigar o déficit hídrico para essa variável-resposta. Em CTC14 não foi observada interação CH x K entres os fatores para Fv/Fm, apenas efeitos isolados de CH e K. Dessa forma, houve incremento de 13% da média do controle hídrico (CH-80%) em relação à média do déficit (CH-40%), e de 6% da média do teor médio em relação ao teor alto de K (Tabela 3). Os genótipos RB975201 e CTC7 cultivados em condição de déficit hídrico (CH-40%) apresentaram aumento de 8% e 12%, respectivamente, com o incremento da disponibilidade de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> K). Para esses mesmos genótipos, as plantas cultivadas em condição hídrica controle (CH-80%) e em condição de déficit (CH-40%) não apresentaram diferenças para o maior teor de K no solo, evidenciando assim, que para esses genótipos, a maior disponibilidade de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) apresentou efeito em mitigar o estresse hídrica à seca para a variável resposta Fv/Fm.

Tratament	os	Genótipos		
			IACSP95-5000	
Condição hídrica (CH)	$\mathbf{K}$ (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	SPAD	Fv	Fv/Fm
Controls	3	45,7 Ba ± 1,4	394,8 Ba ± 45,0	0,67 Ba ± 0,01
Controle	6	50,4 Aa ± 1,3	622,3 Aa ± 36,3	0,70 Aa ± 0,01
	3	46,3 Aa ± 0,5	371,0 Aa ± 11,7	0,63 Ab ± 0,01
Defict	6	48,3 Aa ± 1,3	285,3 Ab ± 47,1	0,62 Ab ± 0,00
	СН	ns	0,000618*	0,000002*
D	Κ	ns	ns	ns
P-valor	CH*K	0,01309*	0,001798*	0,020808*
	CV (%)	4,9	18,7	2,1
			CTC14	
Condição hídrica (CH)	K (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	SPAD	Fv	Fv/Fm
<b>a</b>	3	52,1 Aa ± 0,8	546,0 Ba ± 42,3	0,69 Ba ± 0,00
Controle	6	50,2 Aa ± 1,8	661,5 Aa ± 11,8	0,71 Aa ± 0,00
	3	34,7 Bb ± 3,3	363,4 Bb ± 43,8	0.61 Bb ± 0.02
Defict	6	46,4 Ab ± 1,6	$480,7 \text{ Ab} \pm 44,8$	$0.64 \text{ Ab} \pm 0.01$
	СН	0,000482*	0,00276*	0,00001*
	Κ	ns	0,03343*	0,04862*
P-valor	CH*K	0,011342*	ns	ns
	CV (%)	9,5	18,9	3,1
			RB975201	
Condição hídrica (CH)	K (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	SPAD	Fv	Fv/Fm
Controlo	3	41,7 a ± 1,9	610,6 Aa ± 37,7	0,68 Aa ± 0,01
Controle	6	43,3 a ± 1,4	586,4 Ab ± 22,6	0,69 Aa ± 0,01
Dáfiat	3	37,8 b ± 0,8	228,0 Bb ± 16,0	$0,63 \text{ Bb} \pm 0,00$
Denci	6	$38,7 b \pm 0,5$	662,7 Aa ± 41,7	0,68 Aa ± 0,01
	СН	0,00574*	0,0017307*	0,005261*
P_valor	Κ	ns	0,0001679*	0,011426*
1-vaior	CH*K	ns	0,0000617*	0,043367*
	CV (%)	6,3	14,6	2,7
			CTC7	
Condição hídrico (CH)	K	SPAD	Fx	Fv/Fm
	$(\text{mmol}_{c} \text{ dm}^{-3})$	51 AD	F. A.	£ 7/£111
Controle	3	$41,4 a \pm 0,9$	$601,8 a \pm 9,8$	0,69 Aa ± 0,01
Controle	6	43,0 a ± 2,1	558,3 a ± 9,2	0,66 Ba ± 0,01
Défict	3	$37,2 b \pm 0,9$	$482,3 b \pm 39,1$	$0{,}60\text{ Bb}\pm0{,}00$
Denet	6	$40,2 b \pm 1,0$	513,5 b ± 33,5	0,67 Aa ± 0,01
	CH	0,02966*	0,02773*	0,000014*
P-valor	K	ns	ns	0,000004*
1 14101	CH*K	ns	ns	0,015496*
	CV (%)	7.0	9.0	1,8

Tabela 3 - Concentração de clorofila, Fv (fluorescência variável) e Fv/Fm (rendimento quântico máximo do fotossistema II) dos genótipos de cana (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle e déficit) e teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>)

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre a condição hídrica (dentro do mesmo teor de K); Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). Todos os dados são apresentados em média  $\pm$  EP, n = 4. \*P <0,05; ns - não significativo.

# 3.3.4 Potencial de água na folha

A Tabela 3 apresenta o resumo da análise de variância dos tratamentos estudados para o potencial de água na folha (Ψm), na antemanhã (Ψma) e ao meio dia (Ψmm).

Tabela 4 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de potencial de água na folha (Potencial de água na folha na antemanhã - Ψma e ao meio dia - Ψmm) de cada genótipo de cana-deaçúcar, de acordo com a condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e o teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). \*p<0,05; ns – não significativo

	IACSP95-5000	CTC14	<b>RB 975201</b>	CTC7			
ANUVA							
СН	0,00447*	0,000632*	ns	ns			
Κ	ns	0,000330*	0,00701*	0,000065*			
CH*K	ns	ns	0,02232*	0,005076*			
CV (%)	7,9	12,3	9.0	13,4			
	Ψmm						
СН	0,02434*	0,00661*	0,00005*	0,00904*			
Κ	ns	0,04802*	ns	ns			
CH*K	ns	ns	ns	ns			
CV (%)	24,5	13,9	18,6	16,9			

Para o genótipo IACSP95-5000 (Figura 3), as variáveis-resposta Ψma e Ψmm (Figura 3) não apresentaram efeito do teor de K no solo, somente o efeito isolado de CH (Tabela 4), sendo que as plantas mantidas sob condição de déficit hídrico (CH-40%) apresentaram 14% de incremento (Ψma) e 27% de redução (Ψmm) em relação as plantas mantidas sob controle (CH-80%). Em CTC14 foram observados somente os efeitos isolados de CH e K no solo, (Tabela 4), com incremento em Ψma de 24% das plantas mantidas sob CH-40% em relação àquelas mantidas em CH-80%, e 36% de redução com o aumento da disponibilidade de K no solo. Em RB975201 e CTC7 foi observado efeito teor de K no solo sobre a variável-resposta Ψma, sendo que as plantas mantidas em CH-40% apresentaram redução de 28% (RB975201) e 82% (CTC7) com o aumento da disponibilidade de K no solo, de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, evidenciando o efeito atenuante do K sobre o Ψma nas plantas desses genótipos. Em Ψmm o K não apresentou efeito significativo para esses genótipos, apenas CH (Tabela 4).

Figura 3 - Potencial de água na folha na antemanhã (Ψma) e ao meio dia (Ψmm) dos genótipos de canade-açúcar IAC SP 95-5000 (A e E), CTC14 (B e F), RB975201 (C e G) e CTC7 (D e H) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e suprimento de K (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro do mesmo teor de K); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)



# 3.3.5 Área foliar e produção de massa seca

O resumo da análise de variância dos tratamentos estudados para área foliar (AF), área foliar específica (AFe), produção de massa seca (massa seca da parte aérea – MSPA, massa seca da raiz - MSR e massa seca total - MST) e razão raiz: parte aérea está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de área foliar (AF), área foliar específica (AFe), produção de massa seca (parte aérea - MSPA, raiz - MSR e total - MST) e a razão raiz: parte aérea de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com a condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e o teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). \*p<0,05; ns - não significativo

	IACSP95-5000	CTC14	<b>RB975201</b>	CTC7					
ANUVA	Área foliar								
СН	0,000000*	0,000000*	0,000000*	0,000000*					
Κ	0,023060*	0,000032*	0,000932*	ns					
CH*K	0,042350*	0,004385*	0,009339*	0,047780*					
CV (%)	11,1	7,1	8,1	7,4					
	Área foliar específica								
СН	ns	ns	0,00002*	0,0214973*					
Κ	ns	0,005635*	0,00023*	0,0116542*					
CH*K	0,028683*	0,022489*	ns	0,0094083*					
CV (%)	11,1	9,9	12,1	6,2					
		Massa seca	parte aérea						
СН	0,000000*	0,000000*	0,000008*	0,000000*					
Κ	ns	ns	0,015516*	ns					
CH*K	ns	ns	0,000544*	0,002041*					
CV (%)	10,4	10,1	10,8	9.0					
		Massa	seca raiz						
CH	0,000036*	0,000000*	0,000000*	0,000000*					
Κ	0,023225*	0,003579*	ns	ns					
CH*K	ns	0,000467*	ns	ns					
CV (%)	20,7	16,7	9,7	20,5					
		Massa s	eca total						
CH	0,000000*	0,000000*	0,000000*	0,000000*					
K	ns	0,004866*	ns	ns					
CH*K	ns	0,003414*	0,008438*	0,020570*					
CV (%)	12,2	7,5	8,6	10,5					
	Razão raiz:parte aérea								
CH	ns	0,006631*	ns	0,013030*					
Κ	0,026690*	0,037105*	0,016866*	ns					
CH*K	ns	0,000553*	0,001189*	ns					
CV (%)	15,4	20,1	14,5	18,3					

A Figura 4 apresenta os resultados de área foliar (AF) e área foliar específica (AFe). Com relação aos genótipos IACSP95-5000, CTC14, RB975201, as plantas mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) apresentaram incrementos na AF com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), sendo esses incrementos de 24%, 16% e 50% para os genótipos IACSP95-5000, CTC14 e RB975201, respectivamente. Em CTC7 não foi observado diferença nos teores de K no solo em condição de déficit hídrico (CH-40%).

Para AFe, IACSP95-5000 e CTC14 apresentaram efeito pronunciado do maior teor de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) na interação CH x K. Dessa forma, para esses genótipos, as plantas mantidas em CH-40% apresentaram incremento em AFe de 26% e 36% (IACSP95-5000 e CTC14, respectivamente) com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Em CTC7, as plantas mantidas em CH-40% apresentaram maior AFe quando cultivadas no solo com disponibilidade de 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Em RB975201 não foi observada interação dos efeitos CH e K, somente efeito isolado de CH e K.

Figura 4 - Área foliar (AF) e área foliar específica (AFe) dos genótipos de cana-de-açúcar (IAC SP 95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teor de K (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)</li>



Com relação aos resultados de massa seca, o genótipo IACSP 95-5000 (Figura 5, A-D) não apresentou resposta de efeito de interação CH e K (Tabela 5). Para massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), as plantas mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) apresentaram redução de 48%, 50% e 50%, respectivamente, em relação àquelas mantidas em condição controle (CH-80%). A MSR das plantas apresentou incremento de 24% com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), enquanto que a razão raiz: parte aérea das plantas esse incremento foi de 20% (Tabela 5).

O genótipo CTC14 (Figura 5, E-H) apresentou para MSPA, redução de 44% das plantas mantidas em CH-40% em relação àquelas sob controle, sem efeito significativo do teor de K no solo (Tabela 5). Para MSR e MST o aumento na disponibilidade de K no solo não apresentou resposta em mitigar o efeito do déficit hídrico para essas variáveis-respostas, enquanto que, para a razão raiz: parte aérea das plantas mantidas em CH-40% houve incremento de 32% com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Em RB975201 (Figura 5, I-L), os resultados de MSPA, MST e razão raiz: parte aérea não apresentaram incremento com o aumento da disponibilidade de K no solo quando as plantas foram mantidas em déficit hídrico (CH-40%) e, dessa forma, não foi observado efeito do K em mitigar os efeitos deletérios da seca nesses variáveis-respostas na interação CH x K. A MSR apresentou redução de 42% da média das plantas cultivadas em CH-40% em relação àquelas mantidas em CH-80%, sem efeito do teor de K no solo (Tabela 5).

Em CTC7 (Figura 5, M-P), quando as plantas foram mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%), foi observado aumento das variáveis de MSPA (24%) e MST (26%) com o incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). A MSR e a razão raiz: parte aérea apresentaram redução de 52% e 45%, respectivamente, das plantas mantidas em CH-40% em relação àquelas mantidas em CH-80%, sem efeito significativo do teor de K no solo (Tabela 5).

Figura 5 - Produção de massa (parte aérea - MSPA, raiz - MSR e total - MST), razão raiz:parte aérea dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000 (A-D), CTC14 (E-H), RB975201 (I-L) e CTC7 (M-P) sob diferentes condições hídricas (controle e déficit hídrico) e suprimento de K (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)</li>





### 3.3.6 Concentração de potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e sódio (Na)

Com relação à concentração de K, Ca, Mg e Na, a Tabela 6 apresenta a análise de variância e os resultados dos tratamentos estudados para os diferentes genótipos de cana-deaçúcar do experimento.

Com relação à concentração de K nas folhas, colmo e raízes, não houve efeito de interação CH x K para nenhum dos genótipos estudados, mas observou-se incremento da concentração desse nutriente na planta com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), independente da CH as quais as plantas foram mantidas. Em IACSP95-5000 esse incremento foi de 34% para folhas, 60% para colmo e 82% para as raízes; em CTCT14 foi 6% para folhas, 34% para colmo e 65% para as raízes; em RB975201 foi 53% para folhas, 146% para colmo e 96% para as raízes e em CTC7 foi de 68% para folhas, 102% para colmo e 57% para as raízes.

Em IACSP95-5000, com relação às concentrações de Ca e Mg, observou-se, de maneira geral para todas as partes da planta, redução das médias desses nutrientes quando as plantas foram mantidas sob CH-40% em relação àquelas em CH-80%, e aumento da disponibilidade do teor de K no solo. A concentração de Na apresentou interação CH x K nas folhas, colmo e raízes das plantas e, de modo geral, houve incremento de Na quando as plantas foram mantidas em CH-40%. Para CTC14, o teor de Mg apresentou interação CH x K para folhas, colmo e raízes, com diminuição da concentração desse nutriente com o aumento da disponibilidade de K no solo. A concentração de Na apresentou interação CH x K apenas no colmo, sendo que para as plantas mantidas em CH-40% a maior concentração de Na ocorreu com a maior disponibilidade de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Em RB975201, a concentração de Ca e Mg não apresentou interação CH x K, exceto para o teor de Ca nas raízes. De maneira geral, foi observado diminuição de Ca e Mg quando as plantas foram mantidas em CH-40%. A concentração de Na reduziu com a condição de déficit hídrico. Para CTC7, os teores de Ca e Mg apresentaram interação CH x K apenas para as raízes, sendo observado um aumento desses nutrientes quando as plantas foram mantidas em CH-40% em relação àquelas em CH-80%, e com aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). A concentração de Na apresentou interação CH e K somente no colmo, sendo que para as plantas mantidas em CH-40% a maior concentração de Na ocorreu no maior disponibilidade de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Tabela 6 - Acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes dos genótipos de cana-de-açúcar (IAC SP 95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7 sob diferentes condições hídricas (controle e déficit) e suprimento de K (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro do mesmo teor de K); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)

Tratamentos			IAC SP	95-5000			СТ	C 14	
Condição hídrica	K	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{ dm}^{-3})$		Fol	has			Fol	has	
Controle	3	13,15 ± 1,28 Bb	$3,35 \pm 0,13$ Aa	$2,82\pm0,02~\mathrm{Aa}$	$0,05 \pm 0,00$ Ab	$18,27 \pm 0,76$ Aa	$2,85 \pm 0,13$ a	$3,23 \pm 0,14$ Aa	$0,\!07\pm0,\!00$
	6	$19,58 \pm 0,75$ Ab	$2{,}64\pm0{,}18~\mathrm{Ba}$	2,02 $\pm$ 0,02 Ba	$0,05 \pm 0,00$ Aa	$11,88 \pm 0,50$ Ba	$2,60 \pm 0,16$ a	$1,95\pm0,10~\text{Ba}$	$0,\!07\pm0,\!01$
Dáfiait	3	17,60 $\pm$ 0,48 Ba	$3{,}00\pm0{,}10~Ab$	$2{,}49\pm0{,}17~Ab$	$0,07\pm0,00~\mathrm{Aa}$	$14,29 \pm 0,41$ Ab	$2{,}25\pm0{,}13\text{ b}$	$2{,}58\pm0{,}11~Ab$	$0,\!05\pm0,\!01$
Déficit	6	$21,77 \pm 0,76$ Aa	$2{,}36\pm0{,}16\text{ Bb}$	$1,\!63\pm0,\!09~Bb$	$0,06\pm0,00~\mathrm{Ba}$	22,73 ± 0,31 Bb	$2,29 \pm 0,15$ b	$1,\!89\pm0,\!03~\mathrm{Ba}$	$0,\!07\pm0,\!01$
	CH	0,002544*	0,04609*	0,00732*	0,006725*	0,000028*	0,00752*	0,005609*	ns
D volor	K	0,000059*	0,00050*	0,00001*	ns	0,000000*	ns	0,000000*	ns
P-valor	CH*K	ns	ns	ns	0,017530*	ns	ns	0,014154*	ns
	CV (%)	9,7	9,9	10,4	14,9	6,3	11,6	8,4	20,7
			IAC SP	95-5000			СТ	C 14	
Condição hídrica	K	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$		Col	mo			Co	lmo	
Controle	3	$22,97 \pm 2,13$ A	$4,13 \pm 0,11 \text{ A}$	$6{,}60\pm0{,}41~\mathrm{Aa}$	$0,06\pm0,00~\mathrm{Aa}$	$11,48 \pm 1,29$ Aa	$3{,}23\pm0{,}26$	$5,31\pm0,32$ Aa	$0,10\pm0,01$ Aa
Controle	6	$42{,}20\pm1{,}79\text{ B}$	$3{,}29\pm0{,}18~\mathrm{B}$	$3{,}55\pm0{,}41~\mathrm{Ba}$	$0,06\pm0,00~\mathrm{Aa}$	$28{,}60\pm2{,}69~\mathrm{Ba}$	$3{,}25\pm0{,}09$	$4{,}39\pm0{,}12\text{ Ba}$	$0{,}07\pm0{,}00~\mathrm{Ba}$
Dáficit	3	$30,\!67 \pm 0,\!57~{ m A}$	$3{,}99\pm0{,}15~A$	$5{,}58\pm0{,}46~Ab$	$0,01\pm0,00~\text{Ab}$	$20,57 \pm 2,87$ Ab	$3{,}22\pm0{,}11$	$6{,}28\pm0{,}13~Ab$	$0{,}07\pm0{,}00~Ab$
Déficit	6	$43,49 \pm 2,55 \text{ B}$	$3{,}05\pm0{,}22~B$	$3{,}44\pm0{,}26\text{ Bb}$	$0,07\pm0,01~\mathrm{Ba}$	$40,82 \pm 2,24$ Bb	$3,\!25\pm0,\!16$	$3{,}99\pm0{,}09\text{ Ba}$	$0{,}10\pm0{,}01~Bb$
	CH	ns	ns	0,009892*	0,000031*	0,00069*	ns	ns	ns
P valor	K	0,000002*	0,00017*	0,000000*	0,018179*	0,00000*	ns	0,000002*	ns
<i>I</i> =val01	CH*K	ns	ns	ns	0,006664*	ns	ns	0,003557*	0,00652*
	CV (%)	10,9	9,2	8,2	11,4	18,5	10,4	7,5	19,7
			IAC SP	95-5000			СТ	C 14	
Condição hídrica	К	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$		Raí	zes			Ra	ízes	
Controlo	3	$5,32 \pm 0,54$ Aa	$4,60 \pm 0,11$ A	$4,27 \pm 0,16$ a	$0,054 \pm 0,00$ Aa	$3,73 \pm 0,48$ Aa	$3,14 \pm 0,08$ a	$2,66 \pm 0,15$ Aa	$0,056 \pm 0,02$ Aa
Controle	6	$9{,}92\pm0{,}58~\mathrm{Ba}$	$3{,}92\pm0{,}14~\mathrm{B}$	$3,89 \pm 0,14$ a	$0{,}036\pm0{,}00~\mathrm{Ba}$	$7,77\pm0,34~\mathrm{Ba}$	$3,82 \pm 0,13$ a	$4,11\pm0,19~\text{Ba}$	$0,054 \pm 0,01$ Ba
Déficit	3	$7,50 \pm 0,46$ Ab	$4{,}40\pm0{,}28~\mathrm{A}$	$3,71 \pm 0,21$ b	$0,049 \pm 0,01$ Ab	$7,48 \pm 0,54$ Ab	$4{,}59\pm0{,}04~b$	$3,77 \pm 0,13$ Ab	$0,053 \pm 0,01$ Ab
	6	$13,44 \pm 0,44$ Bb	$3{,}89\pm0{,}24~B$	$3{,}30\pm0{,}20~b$	$0{,}053\pm0{,}02\text{ Bb}$	$10{,}68\pm0{,}83\text{ Bb}$	$4{,}70\pm0{,}32~b$	$3,36\pm0,13~Ab$	$0,049 \pm 0,01$ Bb
	CH	0,000102*	ns	0,00720*	0,000068*	0,00009*	0,000028*	ns	0,00818*
P valor	K	0,00000*	0,01369*	ns	0,000027*	0,00004*	ns	0,005646*	0,02113*
r -val01	CH*K	ns	ns	ns	0,000000*	ns	ns	0,000070*	ns
	CV (%)	11,1	10,1	9,8	4,4	15,6	8,8	8,9	4,9

Tratamer	itos		RB 975201			СТС7			
Condição hídrica	K	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	<b>K</b> (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{ dm}^{-3})$		Folk	as			Folh	as	
Controle	3	12,21 ± 0,56 A	$2,82 \pm 0,18$ a	2,96 ± 0,10 Aa	$0,05 \pm 0,00 \; A$	$11,45 \pm 0,07$ Aa	$3,40 \pm 0,15$ Aa	3,43 ± 0,17 Aa	$0,\!05\pm0,\!00$
	6	$20{,}42\pm0{,}70~\mathrm{B}$	$3,40 \pm 0,20$ a	$2{,}59\pm0{,}23~\mathrm{Ba}$	$0{,}09\pm0{,}00~B$	$19{,}59\pm0{,}80~\mathrm{Ba}$	$3,27\pm0,20$ Ba	$2,92\pm0,08$ Ba	$0,\!05\pm0,\!00$
Dáfiait	3	$14,56 \pm 0,73$ A	$2{,}83\pm0{,}13~b$	$2,65 \pm 0,13$ Ab	$0,\!04\pm0,\!00~A$	$15,11 \pm 0,91$ Ab	$3{,}00\pm0{,}03~Ab$	$2,86 \pm 0,13$ Ab	$0,\!05\pm0,\!00$
Dench	6	$20,46 \pm 0,23$ b	$2,37\pm0,15~b$	$1{,}71\pm0{,}05~\text{Bb}$	$0{,}09\pm0{,}00~B$	$24{,}90\pm0{,}57~Bb$	$2{,}50\pm0{,}07~Bb$	$2,\!15\pm0,\!09~Bb$	$0,\!04\pm0,\!00$
	CH	ns	0,01389*	0,001248*	ns	0,000025*	0,001037*	0,00015*	ns
P valor	Κ	0,000000*	ns	0,000362*	0,00000*	0,000000*	0,034305*	0,00030*	ns
r -val01	CH*K	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	CV (%)	7.0	11,9	11,3	9,4	7,6	8,6	8,6	10,7
			RB 97	5201			СТС	27	
Condição hídrica	K	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$		Col	mo			Colr	no	
Controlo	3	12,97 ± 1,51 Aa	$2,75 \pm 0,06$ Aa	$4,24 \pm 0,21$ Aa	$0,07 \pm 0,01$ a	$10,26 \pm 0,65$ Aa	2,98 ± 0,01 a	4,93 ± 0,09 Aa	$0,06 \pm 0,00$ Aa
Controle	6	$42,13 \pm 1,51$ Ba	$2,63 \pm 0,11$ Ba	$2,\!86\pm0,\!08~\mathrm{Ba}$	$0,08 \pm 0,01$ a	$29,74 \pm 1,78$ Ba	$2,84 \pm 0,07$ a	$3,78 \pm 0,12$ Ba	$0,10 \pm 0,01$ Ba
Déficit	3	$21,28 \pm 0,98$ Ab	$2{,}40\pm0{,}07~Ab$	$3,61 \pm 0,13$ Ab	$0,\!05\pm0,\!01~\mathrm{b}$	$22,95 \pm 1,15$ Ab	$2{,}57\pm0{,}12\text{ b}$	$4,65 \pm 0,16$ Ab	$0,09 \pm 0,01$ Ab
Dench	6	$42,56 \pm 2,28$ Ba	$1,\!97\pm0,\!05~Bb$	$2,04\pm0,04~\text{Bb}$	$0,\!04\pm0,\!00~\mathrm{b}$	$37,33 \pm 1,34$ Bb	$2,31 \pm 0,17$ b	$3,20 \pm 0,17$ Bb	$0,07 \pm 0,01$ Bb
	CH	ns	0,000021*	0,00016*	0,00193*	0,000005*	0,0009*	0,015289*	ns
P valor	Κ	0,00000*	0,00303*	0,00000*	ns	0,00000*	ns	0,00001*	ns
1 -valor	CH*K	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,00008*
	CV (%)	10,2	6,1	8,4	21,7	10,3	8,1	6,6	13,5
			RB 97	5201			СТС	27	
Condição hídrica	K	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )	<b>K</b> (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Na (g kg <sup>-1</sup> )
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{dm}^{-3})$		Raíz	zes			Raíz	es	
Controlo	3	$4,77 \pm 0,39$ A	$3,10 \pm 0,21$ Aa	$2,35\pm0,13$	$0,055 \pm 0,01$ Aa	$3,55 \pm 0,17$ Aa	3,38 ± 0,21 Aa	2,01 ± 0,17 Aa	$0,051 \pm 0,02$ a
Controle	6	$10{,}02\pm0{,}29~\mathrm{B}$	$3,31 \pm 0,08$ Aa	$2,\!57\pm0,\!23$	$0{,}049\pm0{,}03~\mathrm{Ba}$	$5{,}97\pm0{,}68~\mathrm{Ba}$	$3,78 \pm 0,07$ Aa	2,76 ± 0,14 Ba	$0,048 \pm 0,02$ a
Dáficit	3	$5,50 \pm 0,39$ A	$3,07 \pm 0,08$ Aa	$2,\!37\pm0,\!06$	$0,051 \pm 0,01$ Ab	$6,15 \pm 0,69 \text{ Ab}$	$4,63 \pm 0,08 \text{ Ab}$	3,25 ± 0,12 Ab	$0,052 \pm 0,00$ t
Deficit	6	$10,14 \pm 0,39 \text{ B}$	3,91 ± 0,10 Bb	$2,\!36\pm0,\!14$	$0{,}039\pm0{,}02\text{ Bb}$	$9{,}30\pm0{,}15~Bb$	$4,33 \pm 0,16 \text{ Ab}$	3,33 ± 0,23 Ab	$0,054 \pm 0,00$ t
	СН	ns	0,021179*	ns	0,004284*	0,00200*	0,00005*	0,000128*	0,02581*
P valor	K	0,00000*	0,000952*	ns	0,001378*	0,00305*	ns	0,027705*	ns
r -val01	CH*K	ns	0,021179*	ns	ns	ns	0,03563*	0,048086*	ns
	CV (%)	9,7	7.0	12,3	8,8	24,1	7,4	11,6	5,8

A Tabela 7 apresenta o resumo da análise de variância ANOVA e a Figura 6 apresenta os resultados dos tratamentos de condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) para o acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes dos genótipos de cana-de-açúcar do experimento.

	IACSP 95-5000	CTC14	<b>RB 975201</b>	CTC 7		
ANUVA		Acúmulo d	e K nas folhas			
СН	0,000000*	0,000000*	ns	0,000000*		
Κ	0,000000*	0,000000*	0,000004*	0,000000*		
CH*K	0,000000*	0,000000*	ns	0,023635*		
CV (%)	5,4	10,4	9,6	6,8		
Acúmulo de K no colmo						
СН	0,000000*	0,000261*	0,000000*	0,000022*		
Κ	0,000000*	0,000015*	0,000000*	0,000000*		
CH*K	0,000000*	0,015500*	0,009809*	0,007937*		
CV (%)	9,1	16,6	10,4	6,6		
		Acúmulo d	e K nas raízes			
CH	0,000459*	0,000001*	0,000000*	0,022059*		
Κ	0,000004*	0,000054*	0,000000*	0,000136*		
CH*K	0,007726*	0,281722*	0,000000*	ns		
CV (%)	15,9	9,8	6,7	18,4		

Tabela 7 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com o suprimento hídrico (controle CH-80% e déficit CH-40%) e o conteúdo de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). \*p<0,05; ns – não significativo

Com relação à Figura 6, observa-se que a maior disponibilidade de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) apresentou os maiores valores de acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes para todos os genótipos. Em IACSP95-5000, quando as plantas foram mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) houve incremento de 21%, 38% e 101% no acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes, respectivamente, com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). O genótipo CTC14 também apresentou a mesma tendência de resultados para o acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes, com incrementos de 57%, 56% e 59%, respectivamente, com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 7%, 56% e 59%, respectivamente, com o aumento da disponibilidade de K no solo nas plantas mantidas em condição de CH-40%. Dessa forma, fica evidente o efeito do K na interação CH x K para esses genótipos.

Em RB975201 (Figura 6), para o acúmulo de K no colmo e nas raízes, observou-se para as plantas mantidas em CH-40%, aumento dessas variáveis em 104% e 90%, respectivamente, com o incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Para acúmulo de K nas folhas houve apenas efeito do teor de K no solo, sendo o maior acúmulo observado em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K no solo.

Para o genótipo CTC7 (Figura 6), o acúmulo de K nas folhas e no colmo quando as plantas foram mantidas em CH-40% apresentaram incremento de 125% e 106%, respectivamente, com o aumento da disponibilidade de K no solo. O acúmulo de K nas raízes não apresentou interação significativa CH x K, apenas os efeitos isolados desses fatores, sendo o maior acúmulo observado em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K no solo, independente da condição hídrica (Tabela 7).

Figura 6 - Acúmulo de K nas folhas, colmo e raízes dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7 sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro do mesmo teor de K); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)





### 3.3.7 Eficiência de absorção (EA) e de uso (EU) de K

A Tabela 8 apresenta o resumo da análise de variância da eficiência de absorção (EA) e uso (EU) de K e a Figura 7 apresenta os resultados de  $EA_K$  e  $EU_K$  dos tratamentos de condição hídrica (CH-80% e CH-40%) e teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>, médio e alto teor, respectivamente) para os genótipos estudados.

	IACSP95-5000	CTC14	<b>RB975201</b>	CTC7		
ANUVA	EA <sub>K</sub>					
СН	0,00900*	0,000699*	0,004508*	0,000003*		
Κ	0,00063*	0,000062*	0,000009*	0,000001*		
CH*K	ns	0,040427*	ns	ns		
CV (%)	11.0	19,1	14,4	13,9		
		]	EU <sub>K</sub>			
СН	0,000000*	0,000000*	0,000002*	0,000002*		
Κ	0,024900*	0,000000*	0,000000*	0,000050*		
CH*K	ns	0,000004*	0,000184*	0,000583*		
CV (%)	20,3	16.0	15,9	23.0		

Tabela 8: Resumo da análise de variância para os parâmetros de Eficiência de absorção de K (EA<sub>K</sub>) e Eficiência de uso de K (EU<sub>K</sub>) de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com a condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e o teor de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>) p<0,05; ns – não significativo

Em IACSP95-5000 (Figura 7), houve aumento médio na eficiência de absorção de K (EA<sub>K</sub>) em 19% para as plantas mantidas sob déficit hídrico (CH-40%) em relação àquelas sob controle (CH-80%). O incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) aumentou a EA<sub>K</sub>, porém não foi observada interação CH x K. Para os genótipos RB975201 e CTC7, também foi observado o mesmo comportamento, com aumento de 29% e 78%, respectivamente, das plantas mantidas sob CH-40% em relação àquelas sob CH-80%. O incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) aumentou a EA<sub>K</sub>, porém também não se observou interação dos efeitos CH x K. Em CTC14, para as plantas mantidas em CH-40% foi observado incremento de 34% em EA<sub>K</sub> com o aumento na disponibilidade de K no solo, com efeito de interação CH x K. Dessa forma, para esse genótipo, em condição de déficit hídrico, as plantas modularam a resposta na absorção de K quando houve maior disponibilidade de K no solo (Figura 7).

Com relação à EU<sub>K</sub>, em IACSP95-5000 observou-se redução de média das plantas sob controle hídrico (CH-80%) em relação àquelas cultivadas em déficit (CH-40%), e redução da EU<sub>K</sub> com o aumento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), porém não foi observado efeito de interação CH x K. Para os genótipos CTC14, RB975201 e CTC7 quando as plantas foram mantidas em CH-80% houve efeito pronunciado da menor disponibilidade de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) na variável EU<sub>K</sub>. Em CTC14 e CTC7, quando as plantas foram cultivadas em CH-40% não foram apresentadas diferenças quanto à EU<sub>K</sub>, enquanto que em RB975201 houve redução de 37% quando houve aumento da disponibilidade de K no solo.

Figura 7 - Eficiência de absorção (EA<sub>K</sub>) e de uso de K (EU<sub>K</sub>) dos genótipos de cana-de-açúcar (IAC SP 95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7 sob diferentes condições hídricas (controle e déficit) e suprimento de K (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)</p>





# **3.8** Composição isotópica de carbono ( $\delta^{13}$ C)

A Tabela 9 apresenta a análise de variância ANOVA e os resultados da composição isotópica do C ( $\delta^{13}$ C) das plantas mantidas nos tratamentos sob condição hídrica CH-80% e CH-40% e teor disponível de K no solo de 3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, para os genótipos estudados.

Os valores de  $\delta^{13}$ C apresentaram incrementos nas plantas mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) em relação ao controle (CH-80%) para todos os genótipos. Para os genótipos IACSP95-5000 e RB975201 mantidos sob condição hídrica de déficit, observou-se redução dos valores de  $\delta^{13}$ C (‰) com o incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Para os genótipos CTC14 e CTC7 as plantas mantidas em tratamento hídrico déficit apresentaram média de aumento de 8% e 5%, respectivamente, em relação àquelas cultivadas sob controle hídrico, sendo que o teor de K no solo não apresentou efeito significativo (Tabela 9). Tabela 9 -  $\delta^{13}$ C dos genótipos de cana-de-açúcar sob diferentes condições hídricas (controle e déficit) e suprimento de K (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre o regime hídrico (dentro do mesmo teor de K); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre o teor de K (dentro do mesmo regime hídrico). Todos os dados são apresentados em média ± EP, n = 4. \*P<0,05; ns - não significativo

Condição hídrica	K	δ <sup>13</sup> C				
(CH)	$(\text{mmol}_{c} \text{ dm}^{-3})$	IAC 95-5000	CTC14	RB 975201	CTC7	
Controlo	3	-13,66 Aa ± 0,09	$-13,55 a \pm 0,08$	-13,31 Aa $\pm$ 0,05	-13,27 a ± 0,09	
Controle	6	-14,07 Ba $\pm$ 0,09	$-13,44 a \pm 0,10$	-13,48 Ba $\pm$ 0,05	$-13,47 a \pm 0,10$	
Dáficit	3	$-12,80 \text{ Ab} \pm 0,05$	$-12,59 \text{ b} \pm 0,11$	-12,34 Ab $\pm$ 0,02	$-12,74 \text{ b} \pm 0,09$	
Denci	6	- 12,89 Ab $\pm$ 0,04	$-12,50 \text{ b} \pm 0,05$	$-12,74 \text{ Bb} \pm 0,06$	$-12,75 \text{ b} \pm 0,06$	
	CH	0,000000*	0,00001*	0,000000*	0,00001*	
D volor	Κ	0,032634*	ns	0,000106*	ns	
r - value	CH*K	0,002481*	ns	0,041528*	ns	
	CV (%)	0,99	1,95	0,78	1,34	

### 3.4 Discussão

Considerando as variáveis-respostas dos parâmetros avaliados nesse estudo, os genótipos de cana-de-açúcar IACSP 95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7 foram impactados pelo estresse hídrico e pela disponibilidade de potássio (K) no solo, porém em diferentes proporções e respostas entre os genótipos. O suprimento hídrico e/ou teor disponível de K no solo constituíram fatores limitantes dependentes ou independentes.

Em relação aos parâmetros biométricos de altura e diâmetro (Tabela 1), IACSP95-5000 apresentou limitação hídrica na interação CH x K, e não foi observado efeito do suprimento de K como nutriente atenuador. De maneira geral, os outros genótipos também apresentaram para altura e diâmetro, maior influência da limitação hídrica para esses atributos, com exceção da CTC7, em que o teor disponível de K no solo de 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> amenizou o efeito deletério do déficit hídrico na altura das plantas. O K é um dos elementos essências mais exigidos para diversas espécies vegetais, desempenhando papel fundamental nos processos de crescimento e desenvolvimento (TANG et al., 2015). Kanai et al. (2011) observaram em tomate uma estreita relação dos canais transportadores de K<sup>+</sup> com as atividades da aquaporina (proteínas de membrana) e, dessa forma, alterando a condutância hidráulica da raiz e o fornecimento de água para expansão do diâmetro do caule.

A altura do colmo é afetada negativamente pelas condições de seca (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; SILVA; COSTA, 2004; SOARES et al., 2004; SILVA et al., 2008), o mesmo também ocorre para o diâmetro do colmo, sendo a limitação também dependente do genótipo (SILVA; COSTA, 2004). Segundo Soares et al. (2004), a altura é um dos parâmetros biométricos mais afetado sob déficit hídrico. A seleção de genótipos de cana-de-açúcar mais tolerantes à seca pode ser associada a características fenotípicas como o diâmetro, o perfilhamento e a altura do colmo, sendo essas características ferramentas importantes para programas de melhoramento (SOARES et al., 2004; SILVA et al., 2008).

De modo geral, em condições de déficit hídrico todos os genótipos apresentaram diminuição nos valores dos parâmetros simultâneos de trocas gasosas – assimilação de  $CO_2(A)$ , condutância estomática (gs), transpiração (E) e eficiência instantânea de carboxilação (k) (Figura 1), como também observado por Inman-Bamber e Smith (2005), Silva et al. (2007), Da Graça et al. (2010), Medeiros et al. (2013), Santos et al. (2014) e Basnayake et al. (2015), em variedades de cana-de-açúcar. Essas reduções estão principalmente relacionadas com o processo de abertura e fechamento estomático, visando reduzir a perda de água sobre condições de baixa umidade no solo (LARCHER, 2004). A redução da concentração interna de CO<sub>2</sub> associada à redução de gs e, consequentemente A, indicam um decréscimo da eficiência instantânea de carboxilação (k) em virtude do declínio da atividade da RuBisco, pela perda de ATP sintase e, dessa forma, se as concentrações de  $CO_2$  intercelulares estão baixas, seu influxo nas células do mesófilo é restringido, limitando o processo fotossintético (TAIZ; ZEIGER, 2017). A sensibilidade de gs ao estresse hídrico pode ser considerada uma importante característica relacionada à resistência ao déficit hídrico em cana-de-açúcar (RIBEIRO et al., 2013). Li et al. (2016) relataram declínio gradual em gs e na taxa de E, com aumento concomitante no conteúdo de ácido abscísico (ABA) em plantas de cana-de-açúcar expostas ao déficit hídrico. O ABA estimula o efluxo de K<sup>+</sup> das células protetoras para o apoplasto foliar, resultando em perda da pressão do turgor e diminuição de gs (SAUTER; DAVIES; HARTUNG, 2001).

Dentre os genótipos estudados, CTC14 e CTC7 não apresentaram o efeito do suprimento de K como atenuador do estresse hídrico nas trocas gasosas. O genótipo RB975201 apresentou melhoria da performance dos parâmetros de trocas gasosas (A, gs, E e k) quando cultivado com disponibilidade de K no solo de 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e sob restrição hídrica (CH-40%), evidenciando o efeito positivo do K em mitigar os danos da limitação hídrica. Essa resposta também foi observada em IACSP95-5000 para os parâmetros gs e E. Nesses casos, o K pode operar como um osmólito para atuar na manutenção de gs e, dessa forma, evitar maiores danos nas plantas (AZEDO-SILVA, 2004). A regulação estomática é um evento primordial que governa a operação contínua de fotossíntese, e é alterada pela quantidade de K absorvida pela planta (MARSCHNER, 2012).
Com relação aos parâmetros de eficiência do uso de água (EUA) (Figura 2), constatouse para a variedade IACSP95-5000 interação CH x K, sendo que no teor disponível de K no solo de 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> em condição hídrica de CH-40% as plantas apresentaram a maior resposta para todas as escalas de EUA (eficiência de uso de água instantânea – EUA<sub>T</sub>, eficiência de uso de água intrínseca - EUA<sub>i</sub> e eficiência de uso de água a longo prazo - EUA<sub>L</sub>). Nesse caso, durante o déficit hídrico houve aumento da EUAi provavelmente pelo rápido fechamento dos estômatos (EGILLA; DAVIES; BOUTTON, 2005). Dessa forma, pode-se inferir que esse genótipo possui bom desempenho quanto à EUA, pois na condição de menor disponibilidade do K no solo as plantas apresentaram resposta mais efetiva quanto ao uso de água. Esse resultado corrobora com Marchiori (2014) e Silveira (2017), que encontraram repostas positivas quanto aos ajustes fisiológicos e bioquímicos desse genótipo em condição de estresse hídrico à seca. RB975201, de modo geral, também apresentou aumento da EUA em todas as escalas avaliadas, mas sem efeito significativo do teor de K no solo, também demonstrando desempenho positivo das plantas quanto a EUA. CTC14 e CTC7 apresentaram, de maneira geral, menor EUA em condições de déficit hídrico, com exceção de EUA<sub>i</sub> (A/E). A maior EUAi pode ser uma característica importante para selecionar genótipos tolerantes (FLEXAS, 2016), porém como uma medida instantânea e somente em nível foliar, igualmente como EUA<sub>T</sub>, pode não ser tão eficiente para determinar a EUA para toda a planta, sendo mais recomendadas análises como a de composição isotópica de carbono ( $\delta^{13}$ C) (TÓMAS et al., 2014; MEDRANO et al., 2015) e EUA<sub>L</sub>, que leva em conta o consumo de água na planta durante todo o período experimental (MEDRANO et al., 2015; MÅRTENSSON et al., 2017). Segundo o Centro de Tecnologia Canavieira (2018), CTC14 apresenta melhor potencial em ambientes de produção favoráveis e CTC7 possui melhor desempenho em condições de maior disponibilidade hídrica.

De modo geral, para todos os genótipos, houve redução do teor de clorofila (índice SPAD) (Tabela 3) em condição de déficit hídrico, sendo que para os genótipos RB975201 e CTC7 o efeito da condição hídrica foi exclusivo, sem interferência do conteúdo de K no solo. A seca reduz o conteúdo do pigmento clorofila das plantas e, consequentemente, reduz *A* (TARIQ et al., 2018). A redução do índice SPAD em plantas expostas a seca ocorre como consequência da degradação da clorofila (LONG et al., 1994). Na literatura, muitos estudos reportaram a redução do índice SPAD em genótipos de cana-de-açúcar sob condição de déficit hídrico (PARDO; DELGADO, 1989; SILVA et al., 2007; PINCELLI, 2010; SILVA et al., 2011; ZHAO; GLAZ; COMSTOCK, 2013; SILVA et al., 2014).

Segundo O'Neill et al. (2006) uma redução no índice SPAD é uma característica sensível e facilmente mensurável no rastreamento da tolerância ao estresse hídrico. Os genótipos IACSP95-5000 e CTC14 apresentaram efeito positivo do K em mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico sobre o índice SPAD, sendo que essa resposta foi observada para as duas condições de teores disponíveis de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) em IACSP95-5000, e para CTC14 cultivada com K disponível no solo em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. A regulação do teor de K na planta está associada com a atividade das enzimas envolvidas na desintoxicação das espécies reativas de oxigênio (EROs), que são responsáveis pela degradação da clorofila e da membrana das plantas (CAKMAK, 2005). As plantas acumulam K<sup>+</sup> do solo através da membrana plasmática das raízes e, assim criam um gradiente desse íon (LEIGH; WYN JONES, 1984). As EROs, que podem ser geradas por meio de respostas aos estresses ambientais, são responsáveis pelo efluxo de K<sup>+</sup> nas raízes das plantas devido ao extravasamento do conteúdo celular, causado pela peroxidação lipídica das membranas (DEMIDCHIK, 2014).

Os resultados dos genótipos para a eficiência quântica do fotossistema II (FSII) (Tabela 3), de modo geral, também apresentaram redução quando expostos ao déficit hídrico, como reportado por Silva et al. (2007), Silva et al. (2011), Medeiros et al. (2013) e Vilela et al. (2017). O efeito do K em função de mitigar os efeitos deletérios do sob o déficit hídrico foi observado somente em RB975201, onde o maior teor de K no solo apresentou efeito positivo sobre a fluorescência variável (Fv), parâmetro que conforme Inman-Bamber (2004) pode ser usado como indicador do efeito do déficit hídrico em cana-de-açúcar.

O rendimento quântico do FSII está associado com assimilação de carbono e reflete o processo fotossintético da folha (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Em condições de estresse hídrico, a biossíntese da clorofila é inibida e com isso tem-se uma menor eficiência na absorção de energia luminosa (SILVA et al., 2011). Assim, o declínio do rendimento nos centros de reação do FSII está ligado à ocorrência de dano fotoinibitório (BJÖRKMAN; DEMMING, 1987), em função de que Fv representa o fluxo de elétrons do centro de reação do FSII até a plastoquinona e o rendimento quântico máximo do PSII, representado pela relação Fv/Fm, que indica a eficiência máxima de captura de luz absorvida pelo complexo do fotossistema II e que é convertida em energia química (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Dentro desse contexto, o íon K torna-se necessário em grande quantidade para utilizar a alta energia luminosa absorvida para a fixação de CO<sub>2</sub>. Dessa forma, plantas que estão expostas ao excesso de energia luminosa podem Κ (radiação fotossinteticamente ativa) requerer maior demanda de (HASANUZZAMAN et al., 2018).

Com relação ao potencial de água na folha na antemanhã (Yma), de modo geral, todos os genótipos apresentaram-se menos negativos em condições de estresse hídrico em relação ao controle. Na literatura, estudos em cana-de-açúcar também demonstraram essas repostas quanto ao Yma foliar (SALIENDRA et al., 1996; MACHADO et al., 2009). Os genótipos RB975201 e CTC7 também apresentaram efeito significativo para o conteúdo de K disponível no solo. Em CTC7, sob 6 mmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup> K houve efeito ainda mais pronunciado de Yma até em relação à condição controle (CH-80%), evidenciando que o maior conteúdo desse nutriente no solo foi capaz de mitigar os impactos negativos do estresse hídrico para esse parâmetro. Diante disso, o K tem um importante papel como um soluto osmoticamente ativo que possivelmente altera o potencial osmótico das folhas permitindo a maior retenção de água e manutenção do turgor celular (WANG et al., 2016). Os valores de Yma observados nas plantas cultivadas com maior conteúdo de K no solo pode ser a principal razão pela qual as folhas mantêm a integridade e recuperação fotossintética durante o estresse hídrico, como observado por Zahoor et al. (2017). O estresse hídrico reduziu o potencial de água na folha ao meio-dia (Ymm) de todos os genótipos avaliados, e que apenas CTC14 apresentou efeito independente do teor de K no solo. Ao meio dia, os valores do Ym são mais negativos por ser o horário de maior demanda evaporativa e, dessa forma, pode acentuar os efeitos do déficit de água no solo, conduzindo a planta a reduzir seu potencial hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2017).

A área foliar (AF) (Figura 5) apresentou resposta positiva do maior teor de K no solo em condições de déficit hídrico para os genótipos IACSP95-5000, CTC14 e RB975201. Para a área foliar específica (AFe) foi observada resposta do maior teor de K para IACSP95-5000 e CTC14, e do teor médio de K no solo para CTC7. Dessa forma, de modo geral, houve efeito positivo da disponibilidade de K do solo, em condição de défict hídrico, nos genótipos de cana para as variáveis AF e AFe. O desenvolvimento da AF é afetado diretamente pelo status nutricional das plantas (MARSCHNER, 2012). Lindhauer (1985) reportou que a nutrição potássica promoveu aumento na massa seca e área foliar de girassol (*Helianthus-annuus* L.) sob condições de seca e Gerardeaux et al. (2010) também observaram influência positiva do K na área foliar em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), em fase vegetativa.

A AF reduzida é considerada uma resposta de aclimatação das plantas em exposição a condições de seca, promovendo redução da área transpirante e da interceptação de radiação e, dessa forma, minimizando a pressão de energia nos sistemas fotossintéticos (CHAVES et al., 2009), em função da redução da perda de água das folhas (SILVA et al., 2007). Além disso, é responsável por uma redução geral na quantidade de formação de fotoassimilados para o

crescimento da planta (PETTIGREW, 2008). No caso da cana-de-açúcar, pode ser considerada uma das respostas mais comuns ao estresse hídrico em conjunto com o fechamento estomático, a redução do crescimento do colmo e senescência foliar (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012). A AFe também é considerada um indicador para a regulação da folha da planta após fatores de estresses como a seca (MONCLUS et al., 2006). Nesse contexto, o K desempenha papel imprescindível no processo de fotossíntese e, consequentemente, contribuindo para o desenvolvimento e produtividade das plantas (HASANUZZAMAN et al., 2018).

A produção de massa seca (parte aérea, raiz e total) bem como a relação parte aérea/raiz das plantas de todos os genótipos diminuiu com a condição de estresse hídrico, o qual também foi reportado em outros estudos (OLIVEIRA et al., 2010; ZHAO; GLAZ; COMSTOCK, 2010; INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012). Em consequência da deficiência hídrica, foi observada redução de até 35% na produção de biomassa vegetal da cana-de-açúcar em relação a um período de alta demanda evaporativa (INMAN-BAMBER, 2004). Com relação aos genótipos estudados, IACSP 95-5000 não apresentou interação entre CH x K para nenhum dos parâmetros de biomassa avaliados; em RB975201 o efeito da limitação hídrica foi dominante em relação aos teores de K no solo, visto que não reduziram os danos causados pela condição de déficit hídrico. Em CTC7 foi observado efeito positivo do maior teor de K para matéria seca da parte aérea, com efeito positivo sobre o déficit hídrico. Em CTC14 para as variáveis de massa seca da raiz e total, o teor de K não foi capaz de mitigar os efeitos do déficit hídrico, enquanto que para a razão parte aérea/raiz o maior teor de K apresentou boa resposta em relação à condição controle, indicando provável alocação de fotossintatos para o crescimento radicular, como ocorre em plantas cultivadas em condições de seca (MERCHANT et al., 2006), como resposta a aclimatação. Dessa forma, o aprofundamento do sistema radicular é uma estratégia importante para evitar a desidratação das plantas em condições de limitação hídrica (HUND et al., 2009), o que pode ser atribuído à regulação estomática por K<sup>+</sup> e, consequentemente maiores taxas de crescimento radicular (ROMHELD; KIRKBY, 2010).

As concentrações de K, Ca, Mg e Na nos tecidos vegetais das plantas após a colheita apresentaram variação entre os genótipos estudados, condição hídrica e teor de K no solo (Tabela 6). A concentração de K em todas as partes da planta aumentou com o incremento da disponibilidade de K no solo para todos os cultivares estudados. O Ca e o Mg são nutrientes antagônicos ao K (ESPIRONELLO et al., 1986) e, dessa forma, com o incremento do teor de K no solo, independente da condição hídrica, de maneira geral houve redução das concentrações desses nutrientes para todos os genótipos e em todos os órgãos analisados. Com relação à

concentração de Na, houve diferenças entre os genótipos com exceção para CTC14 que não apresentou diferença significativa para os teores desse elemento, para nenhum dos efeitos estudados. De modo geral, os genótipos não apresentaram um padrão de aumento ou redução do Na em relação aos teores de K no solo, ou seja, os teores de Na nos genótipos não foram alterados pelos fatores CH e suprimento de K.

O acúmulo de K nas diferentes partes da planta também apresentou variação entre os diferentes genótipos, sendo que os maiores acúmulos foram encontrados nas plantas cultivadas em condição de controle hídrico (CH-80%) e com disponibilidade do maior teor de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). O suprimento de K no solo alterou o acúmulo de K nas diferentes partes da planta e seguindo o padrão: Colmo > Folhas > Raiz. Diversos trabalhos têm relatado que as quantidades de nutrientes absorvidos do solo pela cana-de-açúcar variam de acordo com os métodos de cultivo, genótipos e disponibilidade de nutrientes como o K, e transporte de carboidratos e, dessa forma, podem existir diferenças de acúmulo na planta (TASSO JUNIOR et al., 2007). Os íons K<sup>+</sup> são absorvidos pelas raízes e transportados no xilema por meio do fluxo de transpiração para as folhas. Nos tecidos-fonte, as bombas de prótons no floema estabelecem um gradiente elétrico alimentado por ATP que é usado para carregar o floema com K<sup>+</sup> por canais de captação (DREYER; BLATT, 2009). A absorção e o transporte de K<sup>+</sup> através da planta é facilitada por proteínas de alta e baixa afinidade, que possibilitam seu movimento para a membrana plasmática (MARSCHNER, 2012).

De modo geral, comparando os regimes hídricos, o déficit aumentou a EA<sub>K</sub> e reduziu a EU<sub>K</sub> para todos os genótipos. As plantas utilizam um sistema de absorção de K<sup>+</sup> dependendo de sua disponibilidade no solo (EPSTEIN et al., 1963). O genótipo CTC14 em CH controle em relação ao déficit não apresentou diferença significativa de média na EA<sub>K</sub> para o maior conteúdo de K no solo, evidenciando ser um genótipo eficiente na absorção desse nutriente mesmo em estresse hídrico, o que também corrobora ao fato da boa performance parte aérea/raiz apresentada. Os outros genótipos apresentaram maior EA<sub>K</sub> em 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>3</sup>, independente da condição hídrica. Em relação à EU<sub>K</sub>, os genótipos em condição hídrica controle e em teor médio de K no solo apresentaram aumento drástico da EU<sub>K</sub>, exceto para IACSP95-5000, que não apresentou interação dos tratamentos (CH e K). A EU<sub>K</sub> é a capacidade relativa de uma planta de produzir biomassa ou rendimento por unidade de K<sup>+</sup> acumulado e, dessa forma, pode refletir a capacidade de transporte, distribuição e acumulação de K nas plantas (WANG et al., 2014). A produção de biomassa apresenta uma alta correlação com a eficiência agronômica de uso do K e, nesse caso RB975201 apresentou-se eficiente no uso de K, sob

déficit hídrico e teor médio de K no solo (Figura 7), mas não responsivos (ENR) (FAGERIA et al., 1997; FAGERIA, 2000) em produção de massa seca (Figura 5). Assim torna-se importante a melhoria genética de cultivares que adquiram e/ou utilizam o K de forma mais eficaz (RENGEL; DAMON, 2008).

Zhang et al. (2007) verificaram em cultivares de algodoeiro maiores valores de  $EU_K$ quando submetidos a menor concentração de K na solução. Variações intraespecíficas significativas para  $EU_K$  foram relatadas para diversas culturas (GEORGE; LU; ZHOU, 2002; DAMON; MA; RENGE, 2011; WANG et al., 2015). Em condições de "fome" de K<sup>+</sup>, a sobrevivência das plantas depende não apenas de sua eficiência de absorção, mas também de sua eficiência de utilização (TANG et al., 2015), sendo que a seleção de genótipos com maior capacidade de EA e/ou EU de nutrrientes são mais desejáveis por permitirem a manutenção da produtividade da cultura mesmo em solos com menores teores nutricionais (GODOY; ROSADO, 2011) e/ou ambientes de seca.

Para todos os genótipos avaliados, a diminuição na disponibilidade de água no solo causou um aumento nos valores de  $\delta^{13}$ C, o qual também foi reportado em outros estudos (CLAY et al., 2001; NGUGI et al., 2003; YAN; PANG; CHEN, 2009). IACSP95-5000 apresentou o maior valor de  $\delta^{13}$ C em condição de estresse hídrico, independente do teor de K no solo, enquanto que para RB975201 o maior valor de  $\delta^{13}$ C foi encontrado em 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> K. A disponibilidade de K regula as relações hídricas das plantas alterando o status osmótico da célula (ZAHOOR et al., 2017), o que pode estar relacionado aos valores de  $\delta^{13}$ C encontrados nesses genótipos. Em CTC14 e CTC7 não foi observado efeito dos teores de K no solo (Tabela 7). Em espécies C4, como a cana-de-açúcar, a discriminação líquida é uma função de *Ci/Ca* e do vazamento de CO<sub>2</sub> ( $\Phi$ ), ou seja, a proporção de CO<sub>2</sub> fixada pela PEPC que posteriormente vaza para fora da bainha (FARQUHAR, 1983). Saliendra et al. (1996) verificaram um aumento de  $\delta^{13}$ C em condição de menor irrigação em cultivares de cana-de-açúcar, sendo esse aumento relacionado com a razão da atividade das enzimas RuBisco/PEPC, pois a atividade da RuBisco, localizada nas células da bainha, apresentou redução em maior proporção que a atividade da PEPC, no mesófilo, aumentando o  $\Phi$  e, consequentemente o  $\delta^{13}$ C.

O isótopo de carbono da folha ( $\delta^{13}$ C) possui uma estreita relação com as condições ambientais e, dessa forma, com as variações de *A*, *gs* e *E* (FARQUHAR; RICHARDS, 1984; ANDERSON et al., 1996), e, dessa forma também está relacionado à EUA das plantas (SARANGE et al., 1999; MCDOWELL; BROOKS; FITZGERALD, 2003; HUANG et al., 2019). Quando ocorrem limitações estomáticas, *gs* diminui em resposta à menor disponibilidade de água no solo, como uma resistência adicional à difusão de CO<sub>2</sub> aos cloroplastos (MISSON et al., 2010), enquanto que *E* diminui em função da possível redução de perda de água pelas folhas. Em condições de seca, espera-se que a  $\delta^{13}$ C aumente com a EUA (FARQUHAR; RICHARDS, 1984), em função da diminuição de *gs* (EUAi = *A/gs*) e/ou E (EUAt = *A/E*). Dessa forma, foi observado aumento de EUA e  $\delta^{13}$ C para os genótipos avaliados.

# 3.5 Conclusões

Em condição de déficit hídrico, o desenvolvimento dos genótipos de cana-de-açúcar avaliados no experimento foi influenciado por mecanismos fisiológicos e nutricionais. O efeito da interação condição hídrica e teor de K no solo foi capaz de mitigar os efeitos deletérios da seca em todos os genótipos, porém apresentaram diferenças nas variáveis-resposta. O incremento do suprimento potássico no solo minimizou os efeitos deletérios da seca nas variáveis fisiológicas avaliadas, porém não foi observado incremento em biomassa, com exceção da massa seca total em CTC7. O genótipo RB9752011 foi eficiente na manutenção dos ajustes fisiológicos para melhoria do desempenho fotossintético com o incremento do teor de K no solo. IACSP95-5000 apresentou-se eficiente no uso de água em condições de seca, porém não refletiu em incremento de biomassa. CTC14 apresentou resposta quanto à eficiência de absorção de K, porém não apresentou eficiência de uso desse nutriente e capacidade de mitigar o estresse à seca. O δ<sup>13</sup>C ‰ somente para o genótipo RB9752011 mostrou-se eficiente na avaliação dos parâmetros de trocas gasosas das plantas na avaliação do estresse hídrico, porém não foi observado incremento na eficiência no uso de água.

## Referências

ANDERSEN, M.; JENSEN, C.; LÖSCH, R. The Interaction Effects of Potassium and Drought in Field-Grown Barley. I. Yield, Water-Use Efficiency and Growth. Acta Agriculturae Scandinavica, Oslo, v. 42, p. 34-44, 2009.

ANDERSON, J.E.; WILLIAM, J.; KRIEDEMANN, P.; AUSTIN, M.P.; FARQUHAR, G.D. Correlations between carbon isotope discrimination and climate of native habitats for diverse eucalypt taxa growing in a common garden. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 23, p. 311–320, 1996.

AZEDO-SILVA, J.; OSORIO, J.; FONSECA, F.; CORREIA, M.J. Effects of soil drying and subsequent re-watering on the activity of nitrate reductase in roots and leaves of *Helianthus annuus*. **Functional Plant Biology**, Melbourne, v. 31, p. 611–621, 2004.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P.A.N.; MAN-BAMBER, G.; INLAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Variation in stomatal conductance and its genetic correlation with crop productivity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, p. 3945–3958, 2015.

BENLLOCH-GONZALEZ, M.; ROMERA, J.; CRISTESCU, S.; HARREN, F.; FOUMIER, J.M.; BENLLOCH, M. K<sup>+</sup> starvation inhibits water-stress-induced stomatal closure via ethylene synthesis in sunflower plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 1139-1145, 2008.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77k among vascular plants of diverse origins. **Planta**, Berlin, v. 170, p. 61-66, 1987.

CAKMAK, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 168, p. 521–530, 2005.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA - CTC. **Bula Técnica Variedades**: CTC14. São Paulo: CTC, 2018. 4 p.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA - CTC. **Bula Técnica Variedades**: CTC7. São Paulo: CTC. 2018. 4 p.

CERNUSAK, L.A.; UBIERNA, N.; WINTER, K.; HOLTUM, J.A.M.; MARSHALL, J.D.; FARQUHAR, G.D. Environmental and physiological determinants of carbon isotope discrimination in terrestrial plants. **New Phytologist**, London, v. 200, p. 950-965, 2013.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, p. 551-560, 2009.

COSTA, E.S.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVEIRA, J.G.; CAMPOSTRINI, E. Chlorophyll *a* Fluorescence Analysis in Response to Excitation Irradiance in Bean Plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) Submitted to High Temperature Stress. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 41, p. 77–82, 2003.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for massspectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 12, p. 133-149, 1957.

DA GRAÇA, J.; RODRIGUES, F.; FARIAS, J.; OLIVEIRA, M.D.; HOFFMANN-CAMPO, C.; ZINGARETTI, S. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Plant Physiology**, Rockville, v. 22, p. 189–197, 2010.

DAMON, P.M.; MA, Q.F.; RENGEL, Z. Wheat genotypes differ in potassium accumulation and osmotic adjustment under drought stress. **Crop and Pasture Science**, Melbourne, v. 62, p. 550-555, 2011.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms and physiological roles of K<sup>+</sup> efflux from root cells. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 171, n. 9, p. 696-707, 2014.

DREYER, I.; BLATT, M.R. What makes a gate? The ins and outs of Kv-like K<sup>+</sup> channels in plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 14, p. 383–390, 2009.

EGILLA, J.N.; DAVIES, F.T.; BOUTTON, T.W. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of hibiscus rosa-sinensis at three potassium concentrations. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 43, p. 135–140, 2005.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p. (Documentos, 132).

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 342 p.

FAGERIA, N.K. Eficiência do uso de potássio pelos genótipos de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 10, p. 2115-2120, 2000.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. Rice. In: FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. **Growth and mineral nutrition of field crops**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 283-343.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 72, n. 4, p. 673–689, 2015.

FARQUHAR G.D.; RICHARDS R.A. Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes. **Australian Journal Plant Physiology**, Collingwood, v. 11, p. 539–552, 1984.

FARQUHAR, G.D. On the nature of carbon isotope discrimination in C4 species. Australian. **Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 10, p. 205-226, 1983.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v. 33, p. 317-345, 1982.

FLEXAS, J. Genetic improvement of leaf photosynthesis and intrinsic water use efficiency in C3 plants: Why so much little success?. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 251, p. 155-161, 2016.

GEE, G.W.; OR, D. Particle-size analysis. In: DANE, J.H.; TOOP, G.C. (Ed.). **Methods of soil analysis:** physical methods. Madison: Soil Science Society of America, 2002. p. 255-293. (Book Series, 5).

GEORGE, M.S.; LU, G.Q.; ZHOU, W.J. Genotypic variation for potassium uptake and utilization efficiency in sweetpotato. Field Crops Research, Amsterdam, v. 77, p.7–15, 2002.

GODOY, T.G.; ROSADO, C.S. Efficiency of phosphorus use in young plants of Eucalyptus urophylla S. T. Blake. **Revista Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 303-308, 2011.

HASANUZZAMAN, M.; BORHANNUDDIN BHUYAN, M.H.M.; NAHAR, K.; HOSSAIN, MD.S.; AL MAHMUD, J.; HOSSEN, MD.S.; MASUD, A.A.C.; MOUMITA; FUJITA, M. Potassium: a vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. **Agronomy**, Basel, v. 8, n. 31, p. 1-29, 2018.

HENDERSON, S.A.; CAEMMERER, S.V.; FARQUHAR, G.D. Short-term measurements of carbon isotope discrimination in several C<sub>4</sub> species. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 19, p. 263-285, 1992.

HUANG, G.; ZHANG, X.; WANG, Y.; FENG, F.; MEI, X.; ZHONG, X. Comparisons of WUE in twelve genotypes of winter wheat and the relationship between  $\delta^{13}$ C and WUE. **PeerJ**, San Diego, v. 7, p. 1-22, 2019.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 102-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N.G.; LAKSHMANAN, P.; PARK, S. Sugarcane for water-limited environments: theoretical assessment of suitable traits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.134, p. 95-104, 2012.

INMAN-BAMBER, N.G.; SMITH, D.M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 4, p. 185-202, 2005.

JÁKLI, B.; HAUER-JÁKLI, M.; BÖTTCHER, F.; MEYER ZUR MÜDEHORST, J.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Leaf, canopy and agronomic water-use efficiency of fieldgrown sugar beet in response to potassium fertilization. Journal of Agronomy and Crop Science, Malden, v. 204, n. 1, p. 99-110, 2018.

KANAI, S.; MOGHAIEB, R.E.; EL-SHEMY, H.A.; PANIGRAHI, R.; MOHAPATRA, P.K.; ITO, J.; NGUYEN, N.T.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Potassium deficiency affects water status and photosynthetic rate of the vegetative sink in green house tomato prior to its effects on source activity. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 180, p. 368–374, 2011.

LANDELL, M.G.A.; CAMPANA, M.P.; FIGUEIREDO, P.; XAVIER, M.A.; VASCONCELOS, A.C.M.; BIDOIA, M.A.P.; SILVA, D.N.; DOS ANJOS, I.A.; PRADO, H.; PINTO, L.R.; SOUZA, S.C.D.; SCARPARI, M.S.; ROSA JUNIOR, V.E.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; AZANIA, C.A.M.; PERECIN, D.; ROSSETO, R.; SILVA, M.A.; MARTINS, A.L.M.; CAVICHIOLI, J.C.; VEIGA FILHO, A.A.; MENDONÇA, J.R.; DIAS, F.L.F.; GARCIA, J.C. Variedades de cana-de-açúcar para o centro-sul do Brasil: 16<sup>a</sup> liberação do programa cana IAC (1959-2007). Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 37 p.

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

LEIGH, R.A.; WYN JONES, R.G.A. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and function of this ion in the plant cell. **New Phytologist**, London, v. 97, p. 1-13, 1984.

LI, D.; MOU, W.; LUO, Z.; LI, L.; LIMWACHIRANON, J.; MAO, L.; YING, T. Developmental and stress regulation on expression of a novel miRNA, Fan-miR73, and its target ABI5 in strawberry. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 1-11, 2016.

LINDHAUER, M.G. Influence of K nutrition and drought on water relations and growth of sunflower (*Helianthus-annuus* L.). Journal of Plant Nutrition and Soil Science, Weinheim, v. 148, p. 654–669, 1985.

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.

MACHADO, R.S.; RIBEIRO, R.V.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, D.F.S.P.; MACHADO, E.C.; LANDELL, M.G.A. Biometric and physiological responses to water deficit in sugarcane at different phenological stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, p. 1575–158, 2009.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 201 p.

MARCHIORI, P.E.R. **Fisiologia de cana-de-açúcar sob déficit hídrico:** Plasticidade fenotípica, transporte de água, metabolismo antioxidante e fotossíntese. 2014. 84 p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas, 2014.

MARCOS, F.C.C.; SILVEIRA, N.M.; MOKOCHINSKI, J.B.; SAWAYA, A.C.H.F.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, E.C.M.; SOUZA, G.M.; LANDELL, M.G.A.; RIBEIRO, R.V. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water déficit. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 223, p. 9-18, 2018.

MARSCHNER, P. Mineral nutrition of higher plants. 3. ed. New York: Elsevier, 2012. 651 p.

MÅRTENSSON, L.-M.; CARLSSON, G.; PRADE, T.; KØRUP, K.; LÆRKE, P.E.; JENSEN, E.S. Water use efficiency and shoot biomass production under water limitation is negatively correlated to the discrimination against <sup>13</sup>C in the C3 grasses *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* and *Phalaris arundinacea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 113, p. 1-5, 2017.

MARTIN, B.; THORSTENSON, Y.R. Stable Isotope Composition (delta <sup>13</sup>C), Water Use Efficiency, and Biomass Productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, and the F1 Hybrid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 213-217, 1988.

MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, D.; WALKER, D.J.; ROMERO, P.; MARTÍNEZ-BALLESTA, M.C.; CORREAL, E. The Response of the Leguminous Fodder Plant Bituminaria bituminosa to Water Stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 198, n. 6, p. 442-451, 2012.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

82

MCDOWELL, N.G.; BROOKS, J.R.; FITZGERALD, S.A.; BOND, B.J. Carbon isotope discrimination and growth response of old *Pinus ponderosa* trees to stand density reductions. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 26, p. 631–644, 2003.

MEDEIROS, D.B.; DA SILVA, E.C.; MANSUR CUSTODIO NOGUEIRA, R.J.; TEIXEIRA M.M.; BUCKERIDGE, M.S. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Dordrecht, v. 25, p. 213–222, 2013.

MEDRANO, H.; TOMÁS, M.; MARTORELL, S.; FLEXAS, J.; HERNÁNDEZ, S.; ROSELLÓ, J.; POU, A.; ESCALONA, J-M.; BOTA, J. From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. **The Crop Journal**, Amsterdam, v. 3, n. 3. p. 220-228, 2015.

MEILLE, J.L.; MARTINEAU, E.; BORNOT, Y.; LAVRES JUNIOR, J.; ABREU JUNIOR, C.H.; DOMEC, J.C. How does water-stressed corn respond to potassium nutrition? A shoot-root scale approach study under controlled conditions. **Agriculture**, Warsaw, v. 8, p. 180, 2018.

MISSON, L.; LIMOUSIN, J.M.; RODRIGUEZ, R.; LETTS, M.G. Leaf physiological responses to extreme droughts in Mediterranean Quercus ilex forest. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 33, p. 1898–910, 2010.

NGUGIA, M.R.; HUNTB, M.A.; DOLEYC, D.; PAUL, R.; PETER, J.D. Effects of soil water availability on water use efficiency of Eucalyptus cloeziana and *Eucalyptus argophloia* plants. **Australian Journal of Botany**, Camberra, v. 51, p. 159–166, 2003.

OLIVEIRA, E.C.A.; OLIVEIRA, R.I.; ANDRADE, B.M.T.; FREIRE, F.J.; JÚNIOR, M.A.L.; MACHADO P.R. Crescimento e acúmulo de matéria seca em variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 951-960, 2010.

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, p. 681-687, 2006.

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

PARK, R.; EPSTEIN S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis, Geochimica et Cosmochimica Acta, New York, v. 21, p. 110-126, 1960.

PETTIGREW, W.T. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 133, p. 670–681, 2008.

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

RAIJ, B.V.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

REDE INTERUNIVERSITÁRIA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SETOR SUCROENERGÉTICO - RIDESA. Liberação nacional de variedades RB de cana-deaçúcar. Curitiba: Graciosa, 2015. 71 p.

RENGEL, Z.; DAMON, P.M. Crops and Genotypes Differ in Efficiency of Potassium Uptake and Use. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 133, p. 624-636, 2008.

RIBEIRO R.V.; MACHADO R.S.; MACHADO E.C.; MACHADO, D.F.S.P.; MAGALHÃES FILHO, J. R.; LANDELL, M.G.A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 49, n. 2, p. 212-224, 2013.

ROMHELD, V.; KIRKBY, E.A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 335, p. 155–180, 2010.

SALIENDRA, N.Z.; MEINZER, F.C.; PERRY, M.; THOM, M. Associations between partitioning of carboxylase activity and bundle sheath leakiness to CO<sub>2</sub>, carbon isotope discrimination, photosynthesis, and growth in sugarcane. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 907-914, 1996.

SANTOS, C.M.; SILVA, M.A.; LIMA, G.P.P.; BORTOLHEIRO, F.P.A.P.; BRUNELLI, M.C.; HOLANDA, L.A.; OLIVER, R. Physiological changes associated with antioxidant enzymes in response to sugarcane tolerance to water deficit and rehydration. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 17, p. 291–304, 2014.

SARANGE, Y.; FLASH, I.; PATERSON, A.H.; YAKIR, D. Carbon isotope ratio in cotton varies with growth stage and plant organ. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 142, n. 1, p. 47–56, 1999.

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

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparation of nutriente efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, Rockville, v. 4, p. 289-302, 1981.

SILVA, A.L.C.; COSTA, W.A.J.M. Varietal variation in growth, physiology and yield of sugarcane under two contrasting water regimes. **Tropical Agricultural Research**, Peradeniya, v. 16, p. 1-12, 2004.

SILVA, M.A.; JIFON, J.L.; DA SILVA, J.A.G.; DOS SANTOS, C.M.; SHARMA, V. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. **The Journal of Agricultural Science**, Lahore, v. 152, p. 104-118, 2014.

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

SILVA, M.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 water deficit tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 13, v. 191–197, 2011.

SILVA, M.A.S.; SOARES, R.A.B.; LANDELL, M.G.A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 655-661, 2008.

SILVEIRA, N.M.; HANCOCK, J.T.; FRUNGILLO, L.; SIASOU, E.; MARCOS, F.C.C.; SALGADO, I.; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Evidence towards the involvement of nitric oxide in drought tolerance of sugarcane. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 115, p. 354-359, 2017.

SOARES, R.A.B.; OLIVEIRA, P.F.M.; CARDOSO, H.R.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A.; ROSENFELD, U. Efeito da irrigação sobre o desenvolvimento e a produtividade de duas variedades de cana-de-açúcar colhidas em início de safra. **STAB Açúcar**, **Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 22, p. 38-41, 2004.

SPIRONELLO, A.; GALLO, J.R.; LAVORENTI, A.; IGUE, T.; HIROCE, E.R. Efeitos da adubação NPK nos teores de macronutrientes das folhas de cana-de-açúcar (cana-soca). **Bragantia**, Campinas, v. 45, p. 377-382, 1986.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C.P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J.L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M.G.A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239. (Boletim Técnico, 100).

SUDAMA, S.; TIWARI, T.N.; SRIVASTAVA, R.P.; SINGH, G.P.; SINGH, S. Effect of potassium os stomatal, behavior, yield quality of sugarcane under moisture stressed condition. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 3, p. 303-305, 1998.

SWIADER, J.M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, Alexandria, v. 17, n. 10, p. 1687-1699, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TANG, Z.H.; ZHANG, A.J.; WEI, M.; CHEN, X.G.; LIU, Z.H.; LI, H.M.; DING, Y.F. Physiological response to potassium deficiency in three sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) genotypes differing in potassium utilization efficiency. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warsaw, v. 37, p. 184, 2015.

TARIQ, A.; PAN, K.; OLATUNJII, O.A.; GRACIAN, C.; LI, Z.; SUN, F.; ZHANG, L.; WU, X.; CHEN, W.; SONG, D.; HUANG, D.; XUE, T.; ZHANG, A. Phosphorous fertilization alleviates drought effects on *Alnus cremastogyne* by regulating its antioxidant and osmotic potential. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, p.5644, 2018.

TASSO JUNIO, L.C.; MARQUES, M.O.; CAMILOTTI, F.; SILVA, T. Extração de macronutrientes em cinco variedades de cana-de-açúcar cultivadas na região centro-norte do estado de São Paulo. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 25, p. 38-42, 2007.

TOMÁS, M.; MEDRANO, H.; ESCALONA, J.M.; MARTORELL, S.; POU, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J. Variability of water use efficiency in grapevines. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 103, p. 148–157, 2014.

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.

VALADABADI, S.A.; FARAHANI, H.A. Studying the interactive effect of potassium application and individual field crops on root penetration under drought control. Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development, Lesotho, v. 2, p. 82-86, 2010.

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

VILELA, R.D.; BEZERRA, B.K.L.; FROEHLICH, A.; ENDRES, L. Antioxidant system is essential to increase drought tolerance of sugarcane. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 171, p. 451–463, 2017.

WANG, J.D.; WANG, H.Y.; ZHANG, Y.C.; ZHOU, J.M.; CHEN, X.Q. Intraspecific variation in potassium uptake and utilization among sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. **Field Crop Research**, Amsterdam, v. 170, p. 76–82, 2015.

WANG, N.; QI, H.K.; SU, G.L.; YANG, J.; ZHOU, H.; XU, Q.H.; HUANG, Q.; YAN, G.T. Genotypic variations in ion homeostasis, photochemical efficiency and antioxidant capacity adjustment to salinity in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Soil Science and Plant Nutrition, Tokyo, v. 62, p. 240–246, 2016.

WANG, X.; MOHAMED, I.; XIA, Y.; CHEN, F. Effects of water and potassium stresses on potassium utilization efficiency of two cotton genotypes. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 14, n. 4, p. 833-844, 2014.

WITKOWSKI, E.T.F.; LAMONT, B.B. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia**, New York, v. 88, p. 486-493, 1991.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 13, p. 3737–3749, 2009.

YIN, X.; PANG, X.; CHEN, K. The effects of water, nutrient availability and their interaction on the growth, morphology and physiology of two poplar species. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 1, p. 196-203, 2009.

ZAHOOR, R.; ZHAO, W.; ABID, M.; DONG, H.; ZHOU, Z. Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 215, p. 30-38, 2017.

ZHANG, Z.; TIAN, X.; DUAN, L.; WANG, B.; HE, Z.; LI, Z. Differential responses of conventional and Bt-transgenic cotton to potassium deficiency. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 30, n. 5, p. 659-670, 2007.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C. Sugarcane leaf photosynthesis and growth characters during development of water-deficit stress. **Crop Science**, Madison, v. 53, p. 1066-1075, 2013.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C. Sugarcane response to water-deficit stress during early growth on organic and sand soils. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New York, v.5, p. 403-414, 2010.

# 4. INTERAÇÃO ÁGUA E POTÁSSIO EM CANA-DE-ÇÚCAR: UM ENFOQUE EM METABOLISMO ANTIOXIDANTE E PERFIL METABÓLICO

#### Resumo

O potássio (K) é o nutriente mais extraído pela cultura da cana-de-acúcar e que está intimamente relacionado à maioria dos processos bioquímicos que influenciam o crescimento e metabolismo e, dessa forma, contribui para a tolerância das plantas expostas a estresses ambientais, como a seca. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade do sistema protetivo antioxidante e descrever a modulação do perfil metabólico nas plantas submetidas aos tratamentos de condição hídrica e disponibilidade de K no solo. Os experimentos constaram dos genótipos de cana-deaçúcar, IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7, que foram cultivados em casa de vegetação, sendo as plantas mantidas em duas condições hídricas (controle e déficit) e dois teores de K disponíveis no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Os tratamentos foram distribuídos de forma inteiramente casualizada, utilizando-se esquema fatorial 2x2, com quatro repetições. A identificação do perfil metabólico primário foi realizada por meio da cromatografia gasosa combinada com a espectrometria de massas (GC-MS). Para as plantas mantidas em déficit hídrico houve alteração no metabolismo oxidativo, com aumento na concentração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e MDA nas folhas das plantas, de todos os genótipos. A maior disponibilidade de K no solo, para as plantas mantidas em condição de seca, contribuiu para a maior eficiência do sistema antioxidante, com maiores atividades das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) para o genótipo IACSP95-5000; ascorbato peroxidase (APX) em IACSP95-5000 e CTC14; guaiacol peroxidase (GPX) em RB975201 e CTC7. As respostas do perfil metabólico das folhas das plantas diferiram quanto aos genótipos de cana-de-açúcar, em condição de déficit hídrico e alta disponibilidade de K no solo, sendo observado acúmulo de ácidos orgânicos (ácido aconítico e ácido gulônico em IACSP95-5000; ácido málico e ácido benzoico em CTC14; ácido aspártico em RB975201 e ácido valérico em CTC7), açúcares (ribulose e hexopiranose em IACSP95-5000 e turanose em CTC14), aminoácidos (alanina em CTC14 e CTC7) e poliamina (putrescina em CTC7). Dessa forma, essa caracterização da modulação do perfil metabólico foliar contribuiu na identificação de respostas bioquímicas dos genótipos submetidos à condição de déficit hídrico e da disponibilidade de K no solo, evidenciando o papel do nutriente, como agente atenuador dos processos de estresses abióticos adversos.

Palavras-chave: Seca. Estresse oxidativo. Metabolômica. Cromatografia gasosa. Espectometria de massa.

# Abstract

Potassium (K) is the most extracted nutrient by the sugarcane culture and is closely related to most biochemical processes that influence growth and metabolism and, thus, contributes to tolerance of plants exposed to environmental stresses, like drought. Thus, the objective of this study was to evaluate the activity of the antioxidant protective system and describe the modulation in metabolic profile in plants submitted to treatments of water condition and K availability in soil. The experiments consisted of the sugarcane genotypes, IACSP95-5000, CTC14, RB975201 and CTC7, which were grown in a greenhouse, with the plants maintained in two water conditions (control and deficit) and two K levels available in the soil (3 and 6 mmolc dm<sup>-3</sup>). The treatments were distributed in a completely randomized design, using a  $2x^2$ factorial scheme, with four replications. The identification of the primary metabolic profile was performed using gas chromatography combined with mass spectrometry (GC-MS). For plants maintained in water deficit, there was a change in oxidative metabolism, with an increase in the concentration of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and MDA in the leaves of the plants, of all genotypes. The higher K availability in soil, for plants kept in dry condition, contributed to the greater efficiency of the antioxidant system, with greater activities of the enzymes catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) for the genotype IACSP95-5000; ascorbate peroxidase (APX) in IACSP95-5000 and CTC14; guaiacol peroxidase (GPX) in RB975201 and CTC7. The responses of the metabolic profile in leaves of plants differed in relation to the sugarcane genotypes, in conditions of water deficit and high K availability in soil, with accumulation of organic acids (aconitic acid and glutonic acid in IACSP95-5000; malic acid and benzoic acid in CTC14; aspartic acid in RB975201 and valeric acid in CTC7), sugars (ribulose and hexopyranose in IACSP95-5000 and turanosis in CTC14), amino acids (alanine in CTC14 and CTC7) and polyamine (putrescine in CTC7). Thus, this characterization of leaf metabolic profile modulation contributed to the identification of biochemical responses of genotypes submitted to the condition of water deficit and K availability in soil, highlighting the role of the nutrient, as an attenuating agent of the processes of adverse abiotic stresses.

Keywords: Drought. Oxidative stress. Metabolomics. Gas chromatography. Mass spectrometry.

# 4.1 Introdução

Entre os estresses abióticos, a seca é um dos problemas que mais causam adversidades na agricultura (VILELA et al., 2017), incluindo a produção de cana-de-açúcar (PRABU et al., 2011; BRUNINI; TURCO, 2018). O uso de potássio na produção agrícola pode ser um importante aliado em condições de seca, em virtude que esse elemento atua em processos fisiológicos e bioquímicos que afetam diretamente o crescimento e o metabolismo das plantas (WANG et al., 2013; AHMAD et al., 2018).

Além de ser elemento essencial para as plantas e extremamente importante para a produção da cultura de cana-de-açúcar (ROSSETO et al., 2010), o suprimento adequado de K contribui para a manutenção das plantas em condições de estresses biótico e abiótico (WANG et al., 2013; TU et al., 2019), como a seca (CAKMAK, 2005; AHMAD et al., 2018). Nesse caso, a nutrição adequada do K atua na manutenção da fixação do CO<sub>2</sub> e na partição de fotoassimilados, reduzindo o excesso de elétrons fotossintéticos de transferência e consequentemente a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (CAKMAK, 2005).

Quando as plantas estão sob distúrbios ambientais, como a seca, há aumento no nível de EROs, formado durante o metabolismo celular (KAPOOR et al., 2019), e que contribuem para a degradação oxidativa da clorofila e da peroxidação lipídica da membrana (VERMA; MISHRA, 2005; WANG et al., 2003). As EROs são formadas durante as etapas de redução de elétrons do oxigênio molecular (O<sub>2</sub>), resultando na geração de radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e hidroxil (OH<sup>•-</sup>) (GILL; TUTEJA, 2010). Os efeitos danosos das EROs são eliminados pelo sistema antioxidante enzimático e não enzimático. Os antioxidantes enzimáticos incluem superóxido dismutase (SOD) que catalisa a remoção de superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e ascorbato peroxidase (APX), glutationa peroxidase (GPOX) e catalase (CAT) que convertem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O (CUYPERS et al., 2010; LÁZARO et al., 2013). O sistema não enzimático incluiu compostos como glutationa, ascorbato, ácido ascórbico, compostos fenólicos e flavonóides, carotenóides e tocoferóis (RACCHI, 2013).

Estudos em tecnologias ômicas, dentre elas a metabolômica, podem ser de extrema importância para a compreensão das vias bioquímicas envolvidas no estresse oxidativo e no metabolismo de EROs (BARBOSA et al., 2014; JANKŮ; LUHOVÁ; PETŘIVALSKÝ, 2019), e vinculado a isso, uma visão mais ampla do papel de K como nutriente atenuante. Urano et al. (2009) verificaram o perfil de metabólitos em folhas de *Arabidopsis* cultivadas sob estresse hídrico e observaram muitos metabólitos que respondem ao estresse hídrico em plantas, como aminoácidos, rafinoses, c-amino butirato (GABA) e ácido tricarboxílico (TCA).

Do et al. (2013) relataram o efeito do estresse hídrico em cultivares de arroz e a análise do perfil metabólico indicou redução no nível de putrescina e acúmulo de espermina, sendo que essa regulação do metabolismo da poliamina apresenta um importante papel osmoprotetor.

As plantas apresentam capacidade adaptativa a estresses ambientais, como a seca, por meio da biossíntese de metabólitos e suas interações pelos processos e vias de sinalização (REGUERA; PELEG; BLUMWALD, 2012). Segundo Versules et al. (2006), a tolerância à seca é um mecanismo que permite às plantas manter o metabolismo mesmo com a redução do potencial hídrico dos tecidos, principalmente devido ao acúmulo de solutos ou osmólitos compatíveis, proteínas protetoras e capacidade antioxidante. O acúmulo de osmólitos nas plantas é um importante mecanismo adaptativo que contribui para a redução do potencial osmótico, auxiliando na manutenção do turgor (ANJUM et al., 2017), além de oferecer proteção contra danos oxidativos, diminuindo o maior acúmulo de ERO e retornando balanço redox celular (FOYER; NOCTOR, 2003; CHAVES; OLIVEIRA, 2004). O entendimento das vias metabólicas que envolvem a biossíntese de osmoprotetores como trealose, sorbitol, galactinol, frutano, poliaminas, glicina betaína e prolina são de extrema importância para a engenharia genética (REGUERA; PELEG; BLUMWALD, 2012; ANJUM et al., 2017) e a seleção de melhores clones de cana-de-acúcar adequados para estresses abióticos. Assim, os metabólitos vegetais podem determinar a expressão de um fenótipo específico e a variação desses compostos pode ser usada como um potencial biomarcador entre genótipos contrastantes para caracteres de interesse (DIOLA et al., 2013).

Portanto, conforme discutido anteriormente, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da disponibilidade hídrica (CH-40% e CH-80%) e dos teores disponíveis de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) na performance do sistema antioxidante e nos perfis de metabólitos de genótipos de cana-de-açúcar, a fim de melhor compreender a resposta biológica e os ajustes bioquímicos resultantes do suprimento de K em plantas cultivadas sob condições de estresse hídrico (e condição adequada de disponibilidade de água no solo) e verificar quais são os cultivares mais adaptados à baixa disponibilidade de água no solo, quando mais bem supridos em K.

# 4.2 Material e Métodos

## 4.2.1 Material genético

Para o estudo para avaliar o efeito do K e do suprimento de água em plântulas de canade-açúcar (*Saccharum* spp.), utilizaram-se mudas pré-brotadas (MPB) de quatro variedades de cana-de-açúcar fornecidas pelo viveiro "São José Mudas", localizado em Santa Cruz das Palmeiras, São Paulo, Brasil. A opção pelo uso de MPB foi realizada de modo a garantir um alto padrão de sanidade, vigor e maior uniformidade de plantio.

Entre as variedades selecionadas, a IACSP95-5000 é considerada responsiva aos insumos, com alta produção de biomassa e sistema radicular mais concentrado na superfície do solo (LANDELL et al., 2007), sendo também uma variedade que apresenta bons resultados em condições de déficit hídrico (MARCHIORI, 2014; SILVEIRA et al., 2017).

A CTC14 é uma variedade com alta adaptabilidade ao plantio e colheita mecanizada, com melhor potencial de produtividade em ambientes de produção favoráveis (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2018a).

A RB975201 apresenta alta sanidade, produtividade e boa brotação na colheita mecanizada. É uma variedade recomendada para plantio em ambientes com alto potencial produtivo (RIDESA, 2015).

O CTC7 possui alto teor de sacarose, precocidade, adaptabilidade ao plantio mecanizado e longo período de utilização industrial (PUI). É uma variedade que apresenta melhor performance quando alocada em regiões com boa disponibilidade hídrica (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2018b).

#### 4.2.2 Condições experimentais

Os experimentos com genótipos de cana-de-açúcar foram realizados em casa de vegetação localizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura em Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°43 'de latitude sul e 47°38' de longitude oeste), durante o período de outubro a dezembro de 2019. O estudo foi realizado com mudas pré-brotadas (60 dias após a emergência) transplantadas em vasos plásticos individuais (5 dm<sup>-3</sup>) contendo amostras de um Latossolo Distrófico Vermelho-Amarelo típico (LVAd) (EMBRAPA, 2013). A caracterização físico-química do solo, bem como a correção da fertilidade foram as mesmas das descritas no item 3.2.2.

Em relação aos tratamentos com K, manteve-se o teor original do solo do experimento (3 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>, condição média/boa), onde nenhuma dose de K foi aplicada, e outro elevado para 6 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup> (condição considerada ótima) (SPIRONELLO et al., 1997), por meio do cálculo da análise do solo.

Após o transplante das plantas, o conteúdo de água foi mantido na capacidade de campo durante 15 dias e, em seguida, os tratamentos de reposição de água (40% - déficit hídrico e 80% - condição adequada, controle) foram baseados no teor relativo de água no solo (SRWCs) e o volume de água reposto diariamente através de pesagem em balança analítica de precisão, conforme descrito no item 3.2.2.

Aos 60 DAT e plantas foram colhidas e as folhas (+3 e +2) de todos os tratamentos foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C até posteriores análises do metabolismo antioxidante e perfil dos metabólitos.

O delineamento experimental para cada genótipo foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2x2, sendo os principais fatores duas condições de disponibilidade de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) e dois regimes de abastecimento de água (controle CH-80% e déficit hídrico CH-40%), com 4 repetições, totalizando 16 unidades experimentais (uma planta em cada vaso), para cada experimento independente de genótipo.

#### 4.2.3 Metabolismo antioxidante

### 4.2.3.1 Determinação de peróxido de hidrogênio (H2O2) e malondialdeído (MDA)

A concentração de  $H_2O_2$  foi determinada nas lâminas foliares, de acordo com o método descrito por Alexieva et al., (2001), com algumas modificações. As amostras congeladas (0,2 g) foram homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (p/v) com 20% (p/p) de polivinil polipirrolidona (PVPP). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min a 4 °C e em 200 µL do sobrenadante foram adicionados 0,2 mL de 100 mmol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato de potássio (pH 7.0) e 0,8 mL de iodeto de potássio. A solução foi deixada por 1 h no escuro e em temperatura ambiente para estabilização. A absorbância foi lida a 390 nm com três réplicas independentes de cada amostra. A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi expressa em nmol g<sup>-1</sup> de massa fresca.

O MDA foi determinado seguindo o método descrito por Heath e Packer (1968), em que a peroxidação lipídica foi determinada pela estimativa do conteúdo da substância reativa do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). As amostras congeladas (0.2 g) foram homogeneizadas em 2 mL de TCA a 0,1% (p/v) com 20% (p/p) de PVPP. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min a 4 °C e em 250  $\mu$ L do sobrenadante foram adicionados 1 mL de 20% (p/v) de TCA contendo 0.5% de ácido tiobarbitúrico. A reação foi mantida em banhomaria a 95 °C por 30 min e depois no gelo (10 min). As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min e a solução deixada em temperatura ambiente durante 15 min. A absorbância foi lida a 532 e 600 nm com três réplicas independentes de cada amostra. O conteúdo de MDA foi expresso em nmol g<sup>-1</sup> de massa fresca.

# 4.2.3.2 Extração e quantificação de proteínas

As lâminas foliares (0,25 g) foram homogeneizadas com nitrogênio líquido em 100 mmol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato de potássio (pH 7.5) contendo 1 mmol L<sup>-1</sup> de ácido etileno diamina tetraacético (EDTA), 1 mmol L<sup>-1</sup> ditiotreitol (DDT) e 20 % (p/v) de PVPP (AZEVEDO et al., 1998). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 min a 4 °C e o sobrenadante foi armazenado em alíquotas a -80 °C para a análise enzimática.

A concentração total de proteínas solúveis foi determinada pelo método descrito por Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão e reagente de Bradford. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 595 nm.

# 4.2.3.3 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977) e Cembrawska-Lech et al. (2015). A reação foi realizada em uma caixa sob iluminação de lâmpada fluorescente a 25 °C. As amostras (50  $\mu$ L) foram adicionadas em 5 mL de um meio de reação contendo 50 nmol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato de potássio (pH 7.8), 13 nmol L<sup>-1</sup> metionina, 75 nmol L<sup>-1</sup> NBT, 0,1 nmol L<sup>-1</sup> EDTA e 2  $\mu$ mol de L<sup>-1</sup> de riboflavina. Os tubos foram colocados dentro da caixa e mantidos sob iluminação por 15 minutos para formar a formazana azul, composto produzido pela reação fotoelétrica NBT. As leituras foram feitas no espectrofotômetro a 560 nm e o conteúdo de SOD expresso como U SOD/mg de proteína.

# 4.2.3.4 Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi realizada conforme descrito por Kraus, McKersie e Fletcher (1995), com modificações de Azevedo et al. (1998). O ensaio foi realizado a 25 °C e a reação foi iniciada pela adição de 25  $\mu$ L de extrato vegetal com 1 mL de um meio de reação contendo 30 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 100 mmol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato de potássio (pH 7.5). A atividade enzimática foi determinada seguindo a decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A absorbância foi lida a 240 nm durante 1 min e os resultados expressos como  $\mu$ mol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

#### 4.2.3.5 Ascorbato Peroxidase (APX)

A atividade de APX foi determinada como descrito por Nakano e Asada (1981). O ensaio foi iniciado em meio de reação com 10  $\mu$ L de extrato da amostra e 1 mL de uma mistura contendo 80 mmol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato de potássio (pH 7.0), 5 mmol L<sup>-1</sup> de ascorbato, 1 mmol L<sup>-1</sup> de EDTA e 1 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A absorbância foi lida a 290 nm durante 1 min. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção de 2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e os resultados expressos como  $\mu$ mol ascorbato min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

## 4.2.3.6 Guaiacol Peroxidase (GPOX)

A atividade da GPX foi medida através do método de Matsuno e Uritani (1972). A reação iniciou-se em um meio contendo 790  $\mu$ L de tampão fosfato-citrato (fosfato de sódio dibásico 0,2 mol L<sup>-1</sup> e 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de ácido cítrico, pH 5,0, 10  $\mu$ L de extrato de proteína e 50  $\mu$ L de guaiacol (0,2%), seguido de a adição de 50  $\mu$ L e agitação em vórtice. A mistura foi incubada a 30 °C por 15 min e a reação foi parada em um banho de água gelada com adição de 50 mL de solução de metabissulfeto de sódio (2%). Após 10 min, a absorbância foi lida a 450 nm e os resultados expressos em  $\mu$ mol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

## 4.2.4 Perfil metabólico

## 4.2.4.1 Extração de metabólitos e derivatização para GC-MS

Metabólitos de lâminas de folhas de plântulas de cana-de-açúcar foram extraídos de 150 mg de material vegetal macerado, de acordo com o método proposto por Hoffman et al. (2010), com algumas modificações. Foram realizadas duas réplicas independentes de cada amostra do experimento.

As amostras maceradas foram agitadas em moinho de bolas ajustado à 30 Hz.s<sup>-1</sup>/3 min, com esferas magnéticas de tungstênio. Em cada amostra foi adicionada 1 mL de solução extratora de metanol:clorofórmio:água (3:1:1) contendo padrões internos de referência  $(1,2,3,4^{-13}C_4)$ -ácido palmítico, (<sup>2</sup>H<sub>4</sub>)-ácido succinico e (1, 2, 3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>)- ácido mirístico].

Seguidamente tubos foram agitados em vortex por 30 s, submetidos à sonificação em banho de gelo a 60 Hz.s<sup>-1</sup> por 30 min e centrifugados a 16.000 *g*, por 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado (Millex®, 0,22  $\mu$ M) e uma alíquota de 100  $\mu$ L foi transferida para um novo *vial*. Seguidamente as amostras foram liofilizadasos.

As amostras foram derivatizadas com 30  $\mu$ L de metoxiamina (15mg mL<sup>-1</sup>) em piridina por 16h em temperatura ambiente. Após, a sililação foi realizada pela adição de 30  $\mu$ L de MSTFA (n-metil trimetilsilil trifluoroacetamina) com 1% de TMCS (trimetilclorisilano). As amostras foram mantidas por 1 hora em temperatura ambiente. Subsequentemente, foram adicionados 30  $\mu$ L de Heptano, com 15 ng/g de metil-esterato.

## 4.2.4.2 Análise por GC-MS

As amostras foram analisadas de acordo com o método descrito por Gullberg et al. (2004), utilizando cromatografia de espectrômetria de massa (GC-MS). Para esta etapa, foram utilizadas amostras controle (brancos) e uma série de *n*-alcanos ( $C_{12} - C_{40}$ ), que permitiu o cálculo dos índices de retenção (SCHAUER et al., 2005).

Após a derivação, as amostras foram injetadas em um cromatógrafo gasoso 7890A (*Agilent Technologies*, Santa Clara, EUA) acoplado a um processador automático Comb-XT (*Leap Technologies*, Carboro, EUA). A temperatura do injetor foi de 280°C e a taxa de fluxo de purga do septoe 20 mL min<sup>-1</sup> por um período de 60 s. O fluxo de gás de hélio da coluna foi de 1 mL min<sup>-1</sup> e a temperatura da coluna foi mantida em 80 °C por 2 min e aumentada em 15°C min<sup>-1</sup> até 305 °C, e mantida nessa temperatura por 10 min.

O efluente da coluna foi inserido na fonte de ionização de um GCxGC/TOF MS (*Pegasus 4D, Leco Corp.*, St. Joseph, EUA) equipado com duas colunas de sílica fundida. A dimensão da primeira coluna (*Agilent* DB-5) tinha 20 m de comprimento (filme interno de 0,18 mm de diâmetro x 0,18  $\mu$ m de filme) e a segunda coluna de 0,96 m (filme RXT-170,10 mm de diâmetro interno x 0.10  $\mu$ m filme). A temperatura da linha de transferência e a fonte de íons foram de 280 e 250°C, respectivamente. Os íons foram gerados por um feixe de elétrons de 70 eV em uma corrente de ionização de 2,0 mA e 10 espectros<sup>-1</sup> e adquiridos em uma faixa de massa de m/z 45-800.

#### 4.2.4.3 Processamento de dados e identificação de metabólitos

O software *Chroma* TOF 2.12 (*Leco Corporation*) foi usado para executar a correção da linha de base e exportar todos os arquivos MS no formato NetCDF. A detecção de pico, o alinhamento dos tempos de retenção e a pesquisa na biblioteca foram realizadas através do pacote *TargetSearch* (CUADROS-INOSTROZA et al., 2009).

Os metabólitos foram identificados pelos índices de retenção, espectros com similaridade (escore) maior que 600 e metabólitos com pelo menos três fragmentos (contagem de massa), que foram confrontados com os compostos da biblioteca de banco de dados GMD (*The Golm Metabolome Database*), mantida pelo Instituto Max Planck em Golm, Alemanha (KOPKA et al., 2005). Os dados brutos das intensidades de metabólitos foram normalizados pelos valores de Cromatografia de Íon Total (TIC). Antes de gerar a planilha final para a performance das análises estatísticas foram excluídos os metabólitos que provavelmente pertencem a coluna, como siloxano e derivados.

O mapeamento das vias metabólicas nas quais os compostos identificados participam foram obtidas por meio do KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome*) a fim de elucidar o entendimento das funções dos sistemas biológicos com informações em nível molecular.

# 4.2.5 Análise estatística

Os resultados do sistema antioxidante foram submetidos à análise estatística através do programa estatístico R Software® versão 3.5.1 (R Development Core Team, 2015). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F (P <0,05) e seguidos pelo teste de médias de Tukey, quando foram detectadas diferenças. O regime hídrico e o suprimento de K foram considerados fatores nos experimentos com os diferentes genótipos. A distribuição normal e a homogeneidade das variâncias foram examinadas pelos testes Shapiro - Wilk W e Bartlett, respectivamente.

A análise estatística multivariada dos metabólitos primários foi realizada através da plataforma MetaboAnalyst versão 3.0 (XIA et al., 2015), incluindo ajustes de transformação logarítmica e *pareto scalling*. A *two-way ANOVA* foi utilizada para identificar as alterações metabólicas estatisticamente significativas (p<0,05) e decompor as variações metabólicas derivadas do suprimento hídrico, teor de K no solo e sua interação. A análise simultânea de componentes (ASCA) foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Xia e Wishart (2016) e foi aplicada para analisar a dinâmica dos metabólitos observados associados à condição hídrica (CH), teor de K no solo e seus padrões de interação para todos os genótipos avaliados (SMILDE et al., 2005).

# 4.3 Resultados

#### 4.3.1 Avaliação do sistema antioxidante

## 4.3.1.1 Peróxido de hidrogênio (H2O2) e da concentração de malondialdeído (MDA)

A Tabela 1 apresenta a análise de variância para as concentrações de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e malondialdeído (MDA) dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) estudados.

	IACSP95-5000	CTC14	<b>RB975201</b>	CTC7	
ANUVA	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>				
СН	0,00000*	0,00140*	0,00020*	0,001206*	
Κ	0,01350*	ns	0,00232*	ns	
CH*K	0,06591*	ns	ns 0,004550*		
CV (%)	7,3	9.0	9,3	7,7	
	MDA				
СН	0,00007*	0,00539*	0,000338*	0,04946*	
Κ	ns	ns	0,01139*	0,00266*	
CH*K	0,00150*	ns	0,00260*	ns	
CV (%)	19,3	21,4	16,5	9,3	

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para as concentrações de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O2) e malondialdeído (MDA) de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com a condição hídrica (CH) e o teor de K disponível no solo. \*p<0,05; ns – não significativo</p>

Os resultados das concentrações de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e malondialdeído (MDA) para todos os genótipos de cana-de-açúcar submetidos a diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teores de K disponível no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, teor médio e alto, respectivamente) estão apresentados na Figura 1.

As plantas cultivadas em déficit hídrico (CH-40%) apresentaram aumento no acúmulo de  $H_2O_2$  e MDA, sendo que para os genótipos IACSP95-5000 e RB975201 esse efeito foi menos pronunciado quando houve incremento da disponibilidade de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) (Figura 5). Para os genótipos CTC14 e CTC7, cultivados no tratamento CH-40% com K disponível em 3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, também foi observado aumento de  $H_2O_2$  e MDA, porém sem interação significativa CH x K, somente efeitos independentes de CH e K (Tabela 1). Dessa forma, em condição de déficit hídrico e com o aumento do teor de K disponível no solo (3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), o genótipo IACSP95-5000 apresentou redução de 7% e 19% nas concentrações de  $H_2O_2$  e MDA, respectivamente, enquanto para RB975201 essas reduções foram de 20% e 29%, respectivamente.

Figura 1 - Concentrações de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e malondialdeído (MDA) nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e suprimento de K no solo (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4).</p>



#### 4.3.1.2 Sistema protetivo antioxidante

A Tabela 2 apresenta a análise de variância para o sistema protetivo antioxidante avaliado nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar, composto pelas enzimas catalase (CAT, EC 1.11.1.6), superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e guaiacol peroxidase (GPOX, 1.11.1.7).

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para a atividade da Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APX) e Guaiacol Peroxidase (GPOX) de cada genótipo de cana-de-açúcar, de acordo com a condição hídrica (CH) e o teor de K disponível no solo. \*p<0,05; ns – não significativo.</p>

	IACSP95-5000	CTC14	<b>RB975201</b>	CTC7		
ANUVA	САТ					
СН	0,00016*	0,000002*	0,000030*	0,006297*		
Κ	ns	ns	ns	ns		
CH*K	0,03362*	ns	ns	ns		
CV (%)	12,2	8,7	9,13	20,2		
		S	OD			
СН	0,000532*	0,037001*	0,004467*	0,008588*		
Κ	0,01387*	0,003630*	ns	0,00011*		
CH*K	0,000164*	ns	ns	ns		
CV (%)	10,3	16.0	13,9	11,3		
	APX					
СН	0,00275*	ns	0,016543	0,03057*		
Κ	ns	0,00330*	ns	ns		
CH*K	0,01142*	0,00017*	ns	0,01497*		
CV (%)	17,8	7,2	13,4	11,9		
	GPX					
СН	0,00390*	ns	ns	0,00066*		
Κ	ns	0,00628*	ns	ns		
CH*K	ns	ns	0,01802*	0,00025*		
CV (%)	24,1	13,1	11.0	11,9		

A Figura 2 apresenta os resultados das atividades enzimáticas (CAT, SOD, APX e GPOX) do sistema protetivo antioxidante avaliado para todos os genótipos de cana-de-açúcar submetidos a diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teores de K disponível no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, teor médio e alto, respectivamente). O sistema protetivo antioxidante avaliado nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar, composto pelas enzimas CAT, SOD, APX e GPOX, apresentou de modo geral, aumento de atividade em condição de déficit hídrico (CH-40%) para todos os genótipos avaliados. O aumento das atividades dessas enzimas de proteção antioxidativa revelou que as plantas foram efetivas na atuação sobre as espécies reativas do oxigênio (EROs) oriundas do estresse hídrico à seca, indicados pelos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA observados.

A CAT e a SOD, em condição de déficit hídrico (CH-40%), apresentaram para todos os genótipos, incremento com o aumento da disponibilidade de K no solo (3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), porém apenas em IACSP95-5000 houve efeito significativo de interação CH x K, em que esses incrementos corresponderam a 32% para CAT e 40% para SOD (Figura 2). Esta observação

sugere que o aumento da nutrição em K modulou a atuação da atividade dessas enzimas em IACSP95-5000. Para os outros genótipos foram observados efeitos independentes, sendo em CTC14 efeito de CH (CAT) e CH e K (SOD), em RB975201 apenas efeito de CH para CAT e SOD e em CTC7 efeitos isolados de CH (CAT) e CH e K (SOD) (Tabela 2).

Para APX, quando as plantas foram mantidas em condição de déficit hídrico, houve aumento da atividade dessa enzima com o aumento do teor de K no solo (de 3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) para IACSP95-5000 e CTC14, sendo esses aumentos de 30% e 16%, respectivamente (Figura 2). Em CTC 7 houve efeito de interação CH x K, porém, sem diferença significativa da atividade da APX entre os teores de K no solo (Tabela 2).

A atividade da GPOX, quando as plantas foram mantidas em CH-40%, aumentou significativamente com o aumento do teor de K no solo (3 para 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) para os genótipos CTC7 e RB975201, sendo esses incrementos de 12% e 35%, respectivamente. Os genótipos IACSP95-5000 e CTC7 apresentaram efeitos independentes de CH e K, respectivamente.

Figura 2 - Atividade da Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APX) e Guaiacol Peroxidase (GPOX) nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7) sob diferentes condições hídricas (controle CH-80% e déficit CH-40%) e suprimento de K no solo (3 a 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o regime hídrico (dentro da mesma dose); letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (P <0,05) entre o teor de K (dentro da mesma condição hídrica). As barras de erro indicam o erro padrão da média (n=4)





# 4.3.1 Perfil metabólico

Um total de 216 metabólitos foi detectado pelo GC-TOF/MS em folhas de plântulas de cana-de-açúcar para todos os genótipos estudados no experimento e, dentre esses 107 classificados como desconhecidos. O genótipo IACSP95-5000 apresentou um total de

197 metabólitos (96 desconhecidos), CTC14 205 metabólitos (102 desconhecidos), RB975201184 metabólitos (92 desconhecidos) e CTC7 189 metabólitos (91 desconhecidos).

A resposta do perfil metabólico das folhas coletadas em plantas mantidas nos tratamentos de condição hídrica e teores de K no solo e suas interações foi analisada individualmente, a partir de cada genótipo avaliado. O *top* 50 metabólitos estatisticamente significativos (p<0,05) está apresentado nas Tabelas 3, 4, 5 e 6. Os metabólitos identificados foram classificados em diferentes categorias, incluindo: ácidos orgânicos; aminoácidos, açúcares, nucleosídeos, nucleotídeos, polifenois, fenóis, hormônios e entre outros.

Os perfis detalhados de abundância do *top* 50 metabólitos significativos podem ser visualizados com base nos *Heat maps* dos diferentes genótipos (Figura 3). De modo geral os *Heat maps* apresentaram variação de intensidade entre os tratamentos estudados. Para os genótipos IACSP95-5000, CTC14 e RB975201 (Figura 1A, 1B e 1C), os metabólitos presentes em condição hídrica controle (CH-80%) e médio teor de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) exibiram tendência semelhante que aqueles presentes em condição hídrica déficit (CH-40%) e alto teor de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). Para CTC7 os metabólitos presentes em condição hídrica controle (CH-80%) e alto teor de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Metabólitos	Classificação	valor p (CH)	valor p (K)	valor p (Interação)
Fosfoserina	Outros	0,000000	0,0000000	0,0000000
Ribulose	Açúcar	0,128500	0,0491210	0,000000
Benzeno, hexacloro-	Nucleotídeo	0,000000	0,000000	0,000015
Androstano-17-one, 3a-hidroxi-	Hormônio	0,878460	0,582790	0,000045
Lactulose	Açúcar	0,285410	0,269740	0,000089
Inositol-2-fosfato	Outros	0,256760	0,158900	0,000520
Inositol-1-fosfato	Outros	0,355500	0,228360	0,000524
Mannose-6-fosfato	Açúcar	0,404020	0,263570	0,000524
Citidina	Nucleosídeo	0,425580	0,280960	0,000524
Androstano-4-en-3,17-dione	Hormônio	0,453380	0,300570	0,000524
Ácido málico	Ácido orgânico	0,786370	0,969030	0,000768
Corticosterona	Hormônio	0,000287	0,066377	0,000862
Turanose	Açúcar	0,805240	0,798780	0,000949
Palatinose	Açúcar	0,05012	0,000328	0,001814
Biotina	Outros	0,818660	0,812630	0,002423
Benzeno-1,2,4-triol	Nucleotídeo	0,931490	0,929170	0,003541
Secologanin	Outros	0,731020	0,924570	0,006282
Trealose	Açúcar	0,002765	0,002082	0,011694
Ácido tridecanóico	Ácido orgânico	0,002805	0,002113	0,011694
Ácido tetracosanóico	Ácido orgânico	0,231250	0,000128	0,011694
β-D-Galactopiranosideo	Outros	0,265300	0,263000	0,012169
Lumichrome	Outros	0.006838	0.005364	0.015906
Ácido fosfórico	Outros	0.006984	0.005484	0.015953
Ácido piroglutâmico	Aminoacido	0.007722	0.006092	0.017296
Estradiol	Hormônio	0.007793	0.006149	0.017296
Ácido lixónico	Ácido orgânico	0.055036	0.001325	0.020346
Ácido aconítico	Ácido orgânico	0.000050	0.000000	0.022292
Monooleovlglicerol	Outros	0.260060	0.109830	0.037160
Ácido aspártico	Ácido orgânico	0.024135	0.016945	0.039786
Xilose	Acúcar	0.052859	0.573240	0.048762
Galactose	Acúcar	0.751160	0.147040	0.048762
Resveratrol, trans	Polifenol	0.016559	0.013546	0.049021
Ácido itacônico	Ácido orgânico	0.016594	0.013576	0.049021
Galactosamina, N-acetil-	Acúcar	0.016746	0.013706	0.049021
Melibiose	Acúcar	0.169140	0.413110	0.049021
Galactinol	Acúcar	0.420280	0.022037	0.049021
Eosfato de diidroxiacetona	Outros	0.017099	0.014010	0.049296
Sinefrina	Alcalóide	0.002789	0.000388	0.996750
Ácido gulônico-1 4-lactona	Ácido orgânico	0.000128	0.040414	0,097840
Ácido arabinobentulosonico enol	Ácido orgânico	0,000001	0.070439	0,517680
Tetracosane n-	Outros	0.001204	0.137540	0,916310
Hexoniranose (similar)	Acúcar	0,000000	0.266640	0 398020
Ácido aconitico cis-	Ácido orgânico	0,000404	0364140	0,590020
Ácido succinico	Ácido orgânico	0.000121	0.617270	0.743240
Sorbitol	Quitros	0.000000	0.995250	0.996750
Ribulose (similar)	Acúcar	0,819770	0,000344	0.821720
Ribulose (similar)	Acúcar	0,819770	0,000344	0.821720
$\hat{\Delta}$ cido aspártico (similar)	Ácido orgânico	0.105560	0,000344	0,021720
Lactose a	Acúcar	0,004202	0,001220	0.181030
Isoleucina	Aminoácido	0.094673	0.004474	0.122920

Tabela 3 – Resultados do *two-way ANOVA* de acordo com a condição hídrica (CH) e o conteúdo de K no solo (K) para o *top* 50 metabólitos do genótipo IACSP95-5000.

módulo de análise *two-factor* no *MetaboAnalyst* foi usado para calcular os scores de significância da *two-way* ANOVA (valor p) mostrados na tabela. Significativo p<0,05.

Tabela 4 – Resultados do *two-way ANOVA* de acordo com a condição hídrica (CH) e o conteúdo de K no solo (K) para o top 50 metabólitos do genótipo CTC14

Metabólitos	Classificação	valor p (CH)	valor p (K)	valor p (Interação)
Galactose	Açúcar	0,000000	0,000000	0,000000
Sacarose	Açúcar	0,042383	0,042383	0,000000
Benzeno-1,2,4-triol	Nucleotídeo	0,009494	0,021690	0,000000
Turanose	Açúcar	0,584130	0,584130	0,000000
Ácido lixónico	Ácido orgânico	0,000158	0,000064	0,000002
Ácido gulônico-1,4-lactona	Ácido orgânico	0,000000	0,000000	0,000002
Ácido málico	Ácido orgânico	0,000000	0,000000	0,000003
Ácido ribônico-1,4-lactona	Ácido orgânico	0,0000002	0,000000	0,000003
Lumichrome	Outros	0,937240	0,937240	0,000009
Lactose	Açúcar	0,826340	0,826340	0,000009
Ácido fosfórico monometil ester	Outros	0,047279	0,047279	0,000011
Ribulose	Açúcar	0,138550	0,138550	0,000024
Ácico metilfurancarboxilico (similar)	Ácido orgânico	0,661990	0,002005	0,000045
Lactulose	Açúcar	0,590740	0,590740	0,000053
Ácido iminodiacético	Aminoácido	0,545730	0,545730	0,000580
Resveratrol, trans	Polifenol	0,000087	0,000087	0,000709
Ácido tridecanóico	Ácido orgânico	0,000091	0,000091	0,000712
Coniferilaldeido, trans-	Hormônio	0,000098	0,000098	0,000738
Androstan-17-one, 3a-hidroxi-	Outros	0,000439	0,038456	0,000765
Alanina	Aminoácido	0,534820	0,534820	0,001356
Benzeno, hexachloro-	Nucleotídeo	0,556030	0,556030	0,001420
Ácido benzóico	Ácido orgânico	0,783280	0,783280	0,001420
Frutose derivado (similar)	Açúcar	0,673820	0,673820	0,001420
Piridina, 3-hidroxi-	Nucleotídeo	0,205040	0,033840	0,001986
Ácido pré-fenólico	Ácido orgânico	0,000073	0,001764	0,004565
Tetracosane, n-	Outros	0,0045532	0,096493	0,005157
Ácido cinâmico acid, 3-metoxi-, cis-	Ácido orgânico	0,058864	0,010697	0,007998
Ácido aspártico	Ácido orgânico	0,000126	0,109800	0,008482
Androst-5-en-17-one, 3beta-hidroxi-	Hormônio	0,001975	0,001975	0,008595
Ácido benzóico, 4-hydroxy-	Ácido orgânico	0,109120	0,199430	0,013471
Ácido succinico	Ácido orgânico	0,043391	0,184500	0,024345
Ácido fosfórico	Outros	0,010524	0,928580	0,028350
Ácido benzóico, 3-amino-2,3-diidro-	Ácido orgânico	0,013654	0,013654	0,042147
Galactinol	Açucar	0,014646	0,014646	0,043193
Ácido itacônico	Ácido orgânico	0,353850	0,026120	0,043193
Estradiol, 17alpha-	Hormônio	0,000000	0,474540	0,562700
Docosan-1-ol, n-	Outros	0,000053	0,228590	0,651550
Miricetina	Flavonóide	0,000205	0,626570	0,684910
Ácido fumárico, 2-metil-	Ácido orgânico	0,001338	0,836760	0,857890
Ácido piroglutâmico	Aminoácido	0,005861	0,101120	0,062768
Nonano-1-ol, n-	Outros	0,010145	0,125830	0,058288
Ácido octadecatrienóico	Ácido orgânico	0,113240	0,007195	0,175920
Piridina, 2,3-diidroxi-	Nucleotídeo	0,267910	0,000395	0,380320
Galactosamina, N-acetil-	Açúcar	0,292650	0,005539	0,058784
Frutose	Açúcar	0,352880	0,008484	0,523640
Corticosteron	Hormônio	0,569770	0,000204	0,638810
Galactopiranosideo, 1-O-metil-, α-	Outros	0,723890	0,000215	0,773420
Ácido glicérico	Ácido orgânico	0,743040	0,003924	0,381140
Ácido aconitico, trans-	Ácido orgânico	0,957470	0,000013	0,967000
Homoserina lactona, N-tetradecanol-	Aminoácido	0,985970	0,000858	0,990850

O módulo de análise *two-factor* no *MetaboAnalyst* foi usado para calcular os scores de significância da *two-way* ANOVA (valor p) mostrados na tabela. Significativo p<0,05.

Metabólitos	Classificação	valor p (CH)	valor p (K)	valor p (Interação)
Ácido neurâmico	Acúcar	0.000000	0,000000	0,000000
Ácido gulônico-1,4-lactona	Ácido orgânico	0,000001	0,000004	0,000047
Ácido iminodiacético, N-(2-hidroxietil)-	Aminoácido	0.000001	0,000004	0.000047
Androstan-17-one, 3a-hidroxi-	Hormônio	0.000000	0,000004	0.000064
Ácido málico	Ácido orgânico	0.147440	0.264350	0.000288
Miricetina	Flavonóide	0.702450	0.964050	0.000419
Ácido arabinoheptulosonico	Ácido orgânico	0.001022	0.000021	0.002036
Ácido aspártico	Ácido orgânico	0,000000	0.001272	0.002446
Citidina	Nucleosídeo	0,000243	0,000112	0.002592
Lumichrome	Outros	0,994700	0,770220	0,002593
Coniferilaldeido trans-	Outros	0,000305	0,000618	0.002781
Trealose	Acúcar	0.000311	0.000628	0.002781
Ácido fumárico 2-metil-	Á cido orgânico	0,000318	0,000641	0,002781
Serina O fosfo-	Aminoácido	0,000318	0,000663	0,002781
Lactulose	Animoaetdo	0,000330	0,000684	0,002781
Á cido aconítico	Ácido orgânico	0,000341	0,000829	0,002781
Á aida Hinýriaa	Á aido orgânico	0,000421	0,000829	0,003175
Á aida fasfárian	Acido organico	0,210000	0,038200	0,003203
Á side sussimise	Á aida araôniaa	0,000338	0,921030	0,005270
Actuo succinico	Acido organico	0,974490	0,777430	0,005205
Galactopiranosii-(1,4)-D-galactopiranoside	Outros	0,008576	0,027260	0,015177
Nonacosane, n-	Outros	0,125090	0,018213	0,019541
MonooleoyIglicerol	Outros	0,003820	0,002209	0,020309
Homoserine lactone, N-tetradecanol-	Aminoacido	0,003927	0,002276	0,020309
Pentacosane, n-	Outros	0,003847	0,002226	0,020309
Inositol-2-fostato, myo-	Outros	0,000172	0,294450	0,020749
	Acido orgânico	0,0047/02	0,002770	0,022398
Dopamina	Outros	0,739800	0,297900	0,024078
Corticosteron	Hormônio	0,005637	0,009007	0,024292
Piridina, 3-hidroxi-	Nucleotídeo	0,007770	0,001372	0,034658
Lactose	Açúcar	0,098772	0,003974	0,039742
Turanose	Açúcar	0,034524	0,134050	0,047060
Acico metilfurancarboxilico (similar)	Acido orgânico	0,045819	0,512500	0,048281
Nonano-1-ol, n-	Outros	0,000407	0,015822	0,346110
Ácido octadecanoico	Ácido orgânico	0,006558	0,007170	0,189470
Acido octadecanoico, 9-(Z)-	Ácido orgânico	0,016776	0,021537	0,107790
Succinico semialdeido	Ácido orgânico	0,021050	0,014305	0,065193
Ácido aconitico, trans-	Ácido orgânico	0,021611	0,014724	0,065193
Frutose derivado (similar)	Açúcar	0,021980	0,015001	0,065220
Melibiose	Açúcar	0,030427	0,018203	0,923580
Ácido benzóico, 4-hidroxi-	Ácido orgânico	0,047350	0,001975	0,335970
Mannose-6-fosfato	Açúcar	0,000021	0,339370	0,562930
Timidina	Nucleosídeo	0,000054	0,801610	0,585120
Resveratrol, trans	Polifenol	0,000077	0,275930	0,452410
Lactulose	Açúcar	0,000091	0,372420	0,541170
Biotina	Outros	0,000096	0,350980	0,526120
Uridina	Nucleosídeo	0,000193	0,74204	0,336660
Fosfato diidroxiacetona	Outros	0,000227	0,818970	0,877540
Galactopiranosideo, 1-O-metil-, α-	Outros	0,001790	0,890060	0,917400
Tricosane, n-	Outros	0,002747	0,057235	0,455540
Ácido piroglutâmico	Aminoácido	0,167450	0,000142	0,298950

Tabela 5 – Resultados do *two-way ANOVA* de acordo com a condição hídrica (CH) e o conteúdo de K no solo (K) para o top 50 metabólitos do genótipo RB975201

O módulo de análise *two-factor* no *MetaboAnalyst* foi usado para calcular os scores de significância da two-way ANOVA (valor p) mostrados na tabela. Significativo p<0,05.

106

Tabela 6 – Resultados do two-way ANOVA de acordo com a condição hídrica (CH) e o conteúdo de K
no solo (K) para o top 50 metabólitos do genótipo CTC7

Metabólitos	Classificação	valor p (CH)	valor p (K)	valor p (Interação)
Ácido lixónico	Ácido orgânico	0.000000	0.000000	0.000000
Galactose	Açúcar	0.000000	0,000000	0,000000
Ácido valerico, 5-amino-	Ácido orgânico	0,000000	0,0000000	0,000000
Ribulose	Açúcar	0,222940	0,845750	0,000012
Ácido gulônico-1,4-lactona	Ácido orgânico	0,000000	0,000003	0,000027
Triacontane, n-	Outros	0,000789	0,241720	0,000034
Nonacosane, n-	Outros	0,000026	0,016542	0,000043
Piridina, 2,3-diidroxi-	Nucleotídeo	0,066338	0,000022	0,000049
Alanina	Aminoácido	0,000007	0,000002	0,000113
Ácido iminodiacético, N-(2-hidroxietil)-	Aminoácido	0,000001	0,000028	0,000130
Putrescina	Outros	0,002628	0,042793	0,000755
Ácido fenoxiacético, 4-hidroximetil-3-metoxi-	Ácido orgânico	0,012744	0,029749	0,001031
Ácido pré-fenólico	Ácido orgânico	0,005273	0,000003	0,001779
Galactopiranosideo, 1-O-metil-, a-	Outros	0,000240	0,000104	0,002112
Hexopiranose (similar)	Açúcar	0,003564	0,110330	0,002112
Monooleoylglicerol	Outros	0,330750	0,729400	0,003202
Ácido fosfórico	Outros	0,330820	0,296890	0,003566
Ácido Hipúrico	Ácido orgânico	0,000036	0,000000	0,005194
Corticosteron	Hormônio	0,896030	0,888370	0,005828
Frutose derivado (similar)	Açúcar	0,748790	0,847920	0,010684
Tetracosane, n-	Outros	0,873950	0,571920	0,014156
Lactulose	Açúcar	0,003982	0,002219	0,018808
Ácido succinico	Ácido orgânico	0,560650	0,002956	0,018808
Ácido arabinoheptulosonico	Ácido orgânico	0,000000	0,000013	0,018944
Ácido benzóico, 3-amino-2,3-diidro-	Ácido orgânico	0,001418	0,007929	0,018944
Ácido tridecanóico	Ácido orgânico	0,004867	0,002765	0,020665
Ácico metilfurancarboxilico (similar)	Ácido orgânico	0,014092	0,057061	0,033680
Benzeno-1,2,4-triol	Nucleotídeo	0,022039	0,014619	0,033680
Coniferilaldeido, trans-	Outros	0,022059	0,014633	0,033680
Ribulose (similar)	Açúcar	0,927870	0,308790	0,034628
Galactosamina, N-acetil-	Açúcar	0,687930	0,038711	0,035859
Piridina, 3-hidroxi-	Nucleotídeo	0,001052	0,040206	0,079816
Fosfato diidroxiacetona	Outros	0,007570	0,000410	0,795690
Putrescina, N-acetil-	Diamina	0,012086	0,000674	0,107470
Homoserina lactona, N-tetradecanol-	Aminoácido	0,021522	0,01424	0,066924
Lactose	Açúcar	0,000000	0,086377	0,079816
Hexadec-9-enal	Outros	0,000000	0,15477	0,656860
Ácido aconitico, trans-	Ácido orgânico	0,000036	0,971600	0,974510
Digitoxose	Açúcar	0,000046	0,476760	0,092418
Ácido benzóico	Ácido orgânico	0,000541	0,663220	0,777770
Ácido benzóico, 4-hidroxi-	Ácido orgânico	0,004161	0,729960	0,890800
Ácido aspártico (similar)	Aminoácido	0,004316	0,516450	0,422790
Ácido docosenoico	Ácido orgânico	0,007841	0,145400	0,263450
Uridina	Nucleosídeo	0,008359	0,554280	0,500390
Trealose	Açúcar	0,011847	0,174200	0,244550
Acido piroglutâmico	Aminoácido	0,013332	0,987520	0,054363
Galactitol	Açúcar	0,056772	0,008238	0,131870
Androstan-17-one	Hormônio	0,110430	0,002920	0,206590
Sorbitol	Açúcar	0,138730	0,000000	0,506050
β-D-Galactopiranosideo	Outros	0,257050	0,000000	0,266910

O módulo de análise *two-factor* no *MetaboAnalyst* foi usado para calcular os scores de significância da *two-way* ANOVA (valor p) mostrados na tabela. Significativo p<0,05.
Figura 3 - *Heat maps* dos genótipos IACSP95-5000 (A), CTC14 (B), RB975201 (C) e CTC7 (D), ilustrando o top 50 metabólitos nos tratamentos de condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teores de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>, médio e alto teor, respectivamente). As cores vermelha e azul representam o aumento e diminuição da intensidade dos metabólitos através da escala de cores, respectivamente. Os *Heat maps* foram gerados com base no uso de euclidiana e *ward.d* para medição de distância e algoritmo de agrupamento, respectivamente





A análise *two-way ANOVA* para o genótipo IACSP 95-5000 revelou que a abundância de metabólitos que foram afetados principalmente pelo suprimento hídrico, teor de K no solo e suas interações foram 18, 17 e 37, respectivamente (Figura 4A1). Para os outros genótipos esses valores foram: 22, 23 e 36 (CTC14 - Figura 4B1), 34, 38 e 32 (RB975201 - Figura 4C1) e 33, 25 e 34 (CTC7 - Figura 4D1).

A análise multivariada ASCA foi aplicada para analisar a dinâmica dos metabólitos observados para os efeitos de condição hídrica (CH), teor de K e seus padrões de interação para todos os genótipos avaliados. A análise ASCA foi validada pelo método de permutação (p<0,05) e, dessa forma, indicou que o modelo aplicado foi adequado para todos os genótipos avaliados. Os principais padrões associados aos fatores CH, teor de K e suas interações mostraram graficamente a relação das variáveis (metabólitos) (Figura 4). Os gráficos de *leverage*/erro de predição ao quadrado (*SPE*) foram realizados para correlacionar as características metabólicas com os fatores experimentais. A *leverage* seleciona os metabólitos bem modelados ao grupo e avalia a importância do metabólito para o modelo, enquanto a *SPE* testa a adequação do modelo a metabólitos específicos e, dessa forma seleciona os *outliers*. Metabólitos com alta-*leverage SPE*s e que contribuem significativamente para o modelo, foram escolhidos como metabólitos bem modelados. As variáveis bem modeladas seguiram as tendências do grupo de metabólitos enquanto que os *outliers* são àqueles metabólitos com alterações relevantes, mas diferentes do perfil principal.

Figura 4 - Resultados da *two-way* ANOVA e ASCA para os genótipos IACSP95-5000 (A), CTC14 (B), RB975201 (C) e CTC7 (D). [1] Diagrama de Venn dos metabólitos significativamente diferenciados que respondem aos fatores de condição hídrica (CH), teor de K ou interação CH-K; [2] Gráficos de dispersão (*Leverage/SPE*) ASCA para CH, K e suas interações. Os metabólitos na região vermelha têm altas cargas que seguem os padrões e os metabólitos na região azul têm padrões de expressão diferentes dos principais





A Tabela 7 apresenta os metabólitos bem modelados pela *leverage*/erro de predição ao quadrado (*SPE*), para os tratamentos de condição hídrica (CH), teor de K no solo e interação CH x K para todos os genótipos avaliados e a Figura 5 apresenta alguns desses metabólitos modelados que apresentaram destaque nos tratamentos, e a abundância correspondente em função da condição hídrica (controle CH-80% e déficit CH-40%) e teor de K disponível no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, médio e alto teor, respectivamente) nos genótipos.

Para IACSP95-5000, dentre os 7 metabólitos bem modelados na interação CH x K observou-se que ribulose, hexapiranose, ácido aconítico e o ácido gulônico apresentaram abundância quando as plantas foram mantidas em condição de déficit hídrico (CH-40%) com o aumento da disponibilidade de K no solo. De modo geral, pode-se destacar que em condição de déficit hídrico, a influência do maior teor de K no solo sobre esse perfil de metabólitos foi verificado em IACSP95-5000 (Figura 5A).

Para CTC14, dentre os 10 metabólitos modelados na interação CH x K, tiveram destaque a turanose, que apresentou abundância quando as plantas foram mantidas em déficit hídrico e maior disponibidade de K no solo. A alanina e ácido benzóico apresentaram padrões semelhantes quando as plantas foram mantidas em condição hídrica controle (CH-80%) e disponibilidade média de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), e quando as mantidas em déficit (40%) e disponibilidade alta de K no solo (6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). O ácido málico foi abundante quando as plantas foram mantidas em CH-40% e alta disponibilidade de K no solo (Figura 5B).

RB975201, apresentou 4 metabólitos bem modelados na interação CH x K. A miricetina apresentou abundância quando as plantas foram mantidas em CH-40% e disponibilidade média de K no solo (3 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>). O androstano e o ácido aspártico seguiram o mesmo padrão de abundância nas plantas mantidas sob condição de déficit hídrico, em disponibilidade média e alta de K.  $\alpha$ -D-galactopiranosil apresentou abundância quando as plantas foram mantidas em condição déficit hídrico e aumento da disponibilidade de K no solo (Figura 5C).

Em CTC7, dentre os 9 metabólitos modelados baseados na interação CH x K, a piridina foi abundante quando as plantas foram mantidas sob déficit hídrico e com o sob média e alta disponibilidade de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, respectivamente). Ácido valérico e alanina apresentaram padrão de semelhança, com abundância nas plantas cultivadas em déficit hídrico (CH-40%) e maior disponibilidade de K no solo. A putrescina apresentou abundância quando as plantas foram mantidas sob déficit hídrico, com maior abundância na disponibilidade de 3 mmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup> de K no solo (Figura 5D).

Tabela 7 - Metabólitos bem modelados para os tratamentos de condição hídrica (CH), teor de potássio no solo (K) e interação CH x K, para os genótipos IACSP95-5000, CCT14, RB975201 e CTC 7, de acordo com o valor de *leverage* e EPQ

Metabólito	Leverage	EPQ	p<0.05
	IACSP95-5000		
Acido succínico	0.0430522	0.0124078	CH
Corticosterona	0.0374408	0.0107906	CH
Benzeno	0.0365140	0.0105235	CH
Ácido aconítico	0.0357083	0.0102913	CH
Fosfoserina	0.0320884	0.0092480	CH
Sinetina	0.0259983	0.0074928	CH
Adenosina	0.0249498	0.0071907	CH
Ácido lixonico	0.0377822	0.0105397	K
Benzeno	0.0377240	0.0105235	K
Palatinose	0.0340489	0.0094983	K
Fosfoserina	0.0331518	0.0092480	K
Isoleucina	0.0301265	0.0084041	K
Ácido Iminodiacético	0.0284759	0.0079436	K
Ácido fumárico	0.0250845	0.0069976	K
Ribulose	0.0687128	0.0343556	CH x K
Ácido Quionico	0.0636241	0.0060712	CH x K
Ácido aconítico	0.0625852	0.0160296	CH x K
Fosfoserina	0.0618056	0.0092742	CH x K
Hexopiranose	0.0601025	0.0263380	CH x K
Androstan	0.0467772	0.0259290	CH x K
Lactulose	0.0446045	0.0259935	CH x K

	CTC14		
Miricetina	0.0604491	1.57772E-30	
Ácido Málico	0.0438687	1.57772E-30	
Ácido Fumarico	0.0412284	1.57772E-30	
Ácido Gulonico	0.0400792	1.57772E-30	
Galactose	0.0398724	1.57772E-30	
Ácido Ribonico	0.0375824	1.57772E-30	
Androstan	0.0353050	7.88861E-31	
Coniferilaldeido	0.0330929	1.57772E-30	
Ácido Piroglutamico	0.0311347	9 86076E-30	
Resveratrol	0.0284232	1 57772E-30	
Á sida fasfárias	0.0284232	1.37772E-30	
	0.0285529	1.9/215E-31	
Acido Tridecanoico	0.0281822	1.97215E-31	
Acido lixonico	0.0278853	9.86076E-30	
Ácido aconítico	0.0269325	3.94430E-31	
Fosfato de dihidroxiacetona	0.0254786	7.88861E-31	
Homoserina Lactona	0.0379628	1.57772E-30	
Ácido Málico	0.0345496	1.57772E-30	
Ácido Quionico	0.0315650	1 57772E-30	
Galactose	0.0314022	1.57772E-30	
Á sida Dihaniaa	0.0305087	1.57772E-30	
	0.0295987	1.37772E-30	
Piridina	0.0285284	1.5///2E-30	
Acido lixonico	0.0262356	1.57772E-30	
Coniferilaldeido	0.0260629	1.57772E-30	
Turanose	0.0950109	2.76101E-30	CI
Ácido metilfurancarboxilico	0.0806695	2.76101E-30	CI
Ácido Iminodiacético	0.0640676	1.57772E-30	C
Lumichrome	0.0619515	1 18328E-30	C
Á cido livonico	0.0602516	1.18328E 30	CI
	0.0002510	1.16526E-30	
Alanina	0.0565445	2.30058E-30	C
Acido malico	0.0561050	7.88861E-31	CI
Benzeno	0.0525569	7.88861E-31	Cl
Frutose	0.0512013	7.88861E-31	Cl
Ácido Benzoico	0.0489476	7.88861E-31	C
	RB 97 5201		
Galactopiranosideo	0.0374173	0.0425762	
Ácido fosfórico	0.0342265	0.0389455	
Ácido Gulonico	0.0296272	0.0337121	
Ácido neuraminico	0.0287644	0.0327303	
Ribulose	0.0804352	1 47911E-30	
Metanefrina	0.0631497	1.47911E 30	
	0.0031497	1.47911E-30	
Acido aspartico	0.0535526	1.4/911E-30	
Sorbitol	0.0480268	1.47911E-30	
Galactose	0.0470988	1.47911E-30	
Ácido Piroglutamico	0.0465979	1.47911E-30	
Prostagladina	0.0430864	1.47911E-30	
Piridina	0.0288096	1.47911E-30	
Androstan	0.0115462	2.6131E-30	C
Mircetina	0.0113770	2 12006E 30	C
Ácido aspártico	0.0113770	1 5654E 20	
Calastaninana.	0.001/021	1.004605 20	
Galactopiranosideo	0.0586140	1.08468E-30	C
Á sido hongoiso	0.02(010)	0.0222994	
ACIDO DELIZOICO	0.0360186	0.0332884	
Á aida valarias		0.0325930	
Ácido valerico	0.0352661		
Ácido valerico Piridina	0.0352661 0.0348091	0.0321705	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico	0.0352661 0.0348091 0.0260033	0.0321705 0.0240323	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574	0.0321705 0.0240323 0.0343678	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0304271	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358920	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0325930	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0334827 0.0307944 0.0299112	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconítico Ácido succinico Putrescina Piridina	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0247265 0.0217056 0.0557791	C
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconítico Putrescina Piridina Ácido valerico	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.083105	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0247265 0.0217056 0.0257791 0.0333451	CI
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina	$\begin{array}{c} 0.0352661\\ 0.0348091\\ 0.0260033\\ 0.041574\\ 0.0398968\\ 0.0398968\\ 0.0394271\\ 0.0358930\\ 0.0358629\\ 0.0334827\\ 0.0307944\\ 0.0299112\\ 0.0262568\\ 0.095783\\ 0.0893105\\ 0.095783\\ 0.0893105\\ 0.0928478\end{array}$	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0557791 0.0333451 0.1164720	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.0893105 0.0828478 0.0828478	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0257791 0.0333451 0.1164700	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina Ribulose	$\begin{array}{c} 0.0352661\\ 0.0348091\\ 0.0260033\\ 0.041574\\ 0.0398968\\ 0.0394271\\ 0.0358930\\ 0.0358930\\ 0.0358629\\ 0.0334827\\ 0.0307944\\ 0.0299112\\ 0.0262568\\ 0.095783\\ 0.0893105\\ 0.0828478\\ 0.0759697\\ \end{array}$	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.02967689 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0257791 0.0333451 0.1164700 0.0896295	CI CI CI CI
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconítico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina Ribulose Hexapiranose	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.0893105 0.0828478 0.0759697 0.0728478	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0557791 0.0333451 0.1164700 0.0896295 0.1194290	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina Ribulose Hexapiranose Protaglandina	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.0893105 0.0828478 0.0759697 0.0728478 0.0669013	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0557791 0.0333451 0.1164700 0.0896295 0.1194290 0.0983430	CI CI CI CI CI CI CI
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina Ribulose Hexapiranose Protaglandina Fosfato de dihidroxiacetona	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0398968 0.03989271 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.0893105 0.0828478 0.0759697 0.0728478 0.0669013 0.0621600	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0557791 0.0333451 0.1164700 0.0896295 0.1194290 0.0983430 0.0004726	
Ácido valerico Piridina Ácido arabinoheptulonosico Fosfato de dihidroxiacetona Ácido lixonico Ácido valerico Ácido Gulonico Galactose Piridina Ácido aconitico Ácido succinico Putrescina Piridina Ácido valerico Putrescina Ribulose Hexapiranose Protaglandina Fosfato de dihidroxiacetona Galactopiranosideo	0.0352661 0.0348091 0.0260033 0.041574 0.0398968 0.0394271 0.0358930 0.0358629 0.0334827 0.0307944 0.0299112 0.0262568 0.095783 0.0893105 0.0828478 0.0759697 0.0759697 0.0728478 0.06621600 0.0572260	0.0321705 0.0240323 0.0343678 0.0329813 0.0325930 0.0296714 0.0296466 0.0276789 0.0254566 0.0247265 0.0217056 0.0257791 0.0333451 0.1164700 0.0896295 0.1194290 0.0983430 0.0004726 0.0213660	

Figura 5 - Representação dos *box plots* da abundância dos metabólitos modelados e normalizados pelo *leverage*/ EPQ para a interação CH x K (condição hídrica x potássio) para os genótipos IACSP95-5000 (A), CTC14 (B), RB975201 (C) e CTC7 (D). A linha sólida indica mediana





## 4.3.1.1 Análise das vias metabólicas

Para melhor elucidar as funções biológicas dos metabólitos identificados, foi realizada uma análise das rotas metabólicas usando o *MetaboAnalyst* e posteriormente o KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome*). Dessa forma, foram identificadas rotas metabólicas envolvendo a participação de metabólitos observados e destacados na interação significativa CH x K e, principalmente em déficit hídrico, modelada pelo *leverage/SPE*.

Para os diferentes genótipos de cana-de-açúcar estudados, foram observados metabólitos nas folhas relacionados a importantes rotas/metabolismos da planta, como do ciclo do ácido tricarboxílico (*TCA*) (ácido aconítico - IACSP95-5000 e ácido málico – CTC14) e ciclo do metabolismo da alanina, aspartato e glutamato (alanina - CTC14 e CTC7 e ácido aspártico – RB975201) (Figura 6).

Figura 6 - Rotas metabólicas do ciclo do ácido tricarboxílico (*TCA*) e do metabolismo da alanina, aspartato e glutamato envolvendo os diferentes metabólitos encontrados nos genótipos de cana-de-açúcar (ácido aconítico - IACSP95-5000 e ácido málico – CTC14) e ciclo do metabolismo da alanina, aspartato e glutamato (alanina - CTC14 e CTC7 e ácido aspártico – RB975201). Adaptado de KEGG.



## 4.4 Discussão

A seca afeta os processos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, resultando em crescimento e desenvolvimento alterados (KHAN et al., 2019). O capítulo anterior demonstrou que os diferentes teores de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) poderiam desempenhar um papel na redução do estresse hídrico em cana-de-açúcar, porém essa resposta variou entre os genótipos avaliados (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7), sendo observadas algumas respostas fisiológicas quanto ao efeito do incremento do teor de K no solo no alívio do estresse a seca.

Com relação ao metabolismo antioxidante estudado, o déficit hídrico induziu a modificação do metabolismo oxidativo nas plantas de cana-de-açúcar do experimento e, dessa forma, aumentou as concentrações de  $H_2O_2$  e MDA nas folhas de todos os genótipos estudados, porém apenas IACSP95-500 e RB975201 apresentaram interação significativa CH x K (Tabela 6). Essa resposta também foi observada por Cia et al. (2012) ao estudarem 4 variedades de cana-de-açúcar expostas ao déficit hídrico, com aumento mais acentuado de  $H_2O_2$  e MDA 20 dias após a supressão da água. A deficiência hídrica severa conduz a um aumento da formação de espécies reativas do oxigênio (EROs) (CAKMAK, 2005), e entra elas o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). As EROs contribuem para a degradação oxidativa da clorofila e membranas (WANG et al., 2013), além de serem substâncias com grande reatividade e que podem interagir com grande parte das moléculas biológicas (SAED-MOUCHESHI et al., 2014). Dentro desse contexto, a peroxidação lipídica é comumente usada como um indicador de estresse oxidativo, sendo caracterizada pelo ataque das EROs aos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, que podem afetar a integridade e a funcionalidade das células (GRATÃO et al., 2005).

As mudanças observadas no metabolismo antioxidante dos genótipos em condição de déficit hídrico, sugerem que o incremento de K no solo diminuiu a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar, evidenciando assim um aumento nas respostas antioxidantes das folhas das plantas para evitar danos oxidativos induzidos pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sob déficit hídrico, sendo que essas observações podem estar relacionadas ao status da água da planta, pois o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode inibir a atividade da aquaporina e com isso reduzir o transporte de água (LIU et al., 2015), sendo que a aquaporina possui uma estreita relação com o canal transportador de K (KANAI et al., 2011).

O estresse hídrico à seca sofrido pelas plantas induziu uma resposta protetiva enzimática, sendo que essa resposta variou em função do teor de K no solo e dos genótipos estudados. As atividades enzimáticas estão relacionadas ao metabolismo das plantas em tolerar o dano oxidativo (TÜRKAN et al., 2015; ), causado, por exemplo, pelo déficit hídrico, como do presente estudo. A SOD desempenha um papel importante em processos redox nas plantas e é considerada a primeira linha de defesa contra as EROs, participando da modulação do nível de  $H_2O_2$  (MITTLER, 2002). A CAT está associada com a detoxificação de processos como a fotorrespiração e a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos (HELDT; HELDT, 2005). Estudos reportam que o aumento na atividade dessas enzimas constitui uma importante estrutura de defesa da planta contra o estresse oxidativo, sendo observado que essa maior atividade pode estar

relacionada com o aumento da tolerância ao estresse abiótico (GRATÃO et al., 2005), e o teor disponível de K para as plantas pode contribuir com esse efeito de defesa.

As folhas do genótipo IACSP95-5000 apresentaram aumento das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA, bem como a maior atividade de CAT (Figura 2), o que sugere um aumento controlado dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à medida que a atividade da CAT aumentou, sendo essa uma enzima importante envolvida nessa degradação, como também reportado por Marcos et al. (2018). O aumento da atividade da CAT em déficit hídrico foi ainda mais pronunciado quando as plantas foram supridas com 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K no solo. Esse mesmo comportamento de IACSP95-5000 também foi observado na atividade da APX, ou seja, em condição de déficit hídrico, houve um aumento dessa oxidase no maior teor de K no solo. A CAT e a APX estão interligadas dentro do sistema protetivo antioxidante de forma que a APX pode eliminar o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inacessível a CAT (FOYER; NOCTOR, 2011) e, dessa forma degradar as EROs durante o déficit hídrico. Dentro desse contexto, a manutenção do nível adequado de K na planta tornase importante para reduzir os danos das EROs pelo estresse hídrico a seca. CTC14 e CTC7 também apresentaram aumento da atividade da APX em déficit hídrico para o maior teor de K no solo, porém não foram observadas respostas quanto à atividade da CAT para esses genótipos. A atividade de GPOX também aumentou com o déficit hídrico no solo, sendo que o genótipo CTC7 respondeu em função do aumento do teor de K. A principal função da GPOX é produzir compostos oxidados e, que dessa forma, utilizam H2O2 como substrato (ASADA, 1999), reduzindo as EROs.

Com relação ao perfil metabólico avaliado nas folhas dos genótipos de cana-de-açúcar, os principais metabólitos observados foram aqueles que apresentaram acúmulo significativo na interação CH x K, principalmente sob déficit hídrico e, dessa forma, são considerados metabólitos essenciais na avaliação dessa interação e estão correlacionados com possíveis vias bioquímicas para uma melhor compreensão dos mecanismos de tolerância e disponibilidade adequada de K em função de mitigar os efeitos do déficit hídrico em cana-de-açúcar. Os perfis metabólicos encontrados para os diferentes genótipos avaliados diferiram bastante entre si.

O metabolismo das plantas é reajustado em condições de estresse de seca através do acúmulo de osmólitos ou solutos compatíveis (SLAMA et al., 2015), que podem se acumular em altas concentrações na célula sem inibir o metabolismo celular, como os açúcares solúveis e álcoois de açúcar (glicose, sacarose e manitol), alguns oligossacarídeos (rafinose, estaquiose e verbascose), aminoácidos e poliaminas (JORGE; ANTONIO, 2018). Em relação aos genótipos estudados, para a interação CH x K, em condição de déficit hídrico e com o aumento da disponibilidade de K no solo, IACSP95-5000 apresentou abundância dos açúcares solúveis

ribulose e hexopiranose e CTC14 de turanose. CTC14 e CTC7 apresentaram abundância do aminoácido alanina, enquanto que em CTC7 a putrescina (poliamina) também foi verificada (Figura 3).

Guo et al. (2018) observaram 58 metabólitos em respostas ao déficit hídrico em mudas de trigo e verificaram que o metaboloma do trigo foi dominado por açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, sendo que esse perfil metabólico identificado responsável por desempenhar papel importante no aumento da tolerância da planta. Segundo Babita et al. (2010), os açúcares contribuem notavelmente para o ajustamento osmótico das plantas. Os açúcares solúveis não apenas atuam como recursos metabólicos e constituintes estruturais das células, mas também funcionam como sinais, regulando muitos processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas sob condições de déficit hídrico (PRADO et al., 2000), sendo que um aumento nas concentrações de açúcar nas folhas também pode ativar a expressão de genes relacionados às atividades fotossintéticas nas plantas (OOSTEN; BESFORD, 1995).

Com relação à presença de alanina no perfil de metabólitos encontrados para os genótipos CTC14 e CTC7, a biossíntese e a via metabólica de aminoácidos aromáticos, pode ter sido regulada pelo maior teor de K no solo em condições de déficit hídrico. Essa é uma via de alto fluxo, e estima-se que mais de 30% de todo o carbono fixado na fotossíntese seja direcionado por essa via (TZIN; GALILI, 2010). O aumento do nível de aminoácidos é demonstrado no aumento da flexibilidade do estresse nas plantas, induzindo numerosos mecanismos fisiológicos, incluindo a desintoxicação de espécies reativas do oxigênio, ajuste do estresse osmótico e manutenção dos níveis de pH intracelular (KRASENSKY; JONAK, 2012).

As principais poliaminas, triamina espermidina, espermina tetraamina e putrescina, são normalmente encontradas no aparato fotossintético de plantas superiores e estão relacionadas ao crescimento e as respostas das plantas frente aos estresses ambientais (HAMDANI; YAAKOUBI; CARPENTIER, 2011). Em CTC7, sob condição de estresse hídrico, foi observada abundância da putrescina nos diferentes teores de K no solo (3 e 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) (Figura 3). Quando as plantas enfrentam alguma situação de estresse, elas acumulam poliaminas em uma concentração mais alta (LIU et al., 2000). Dessa forma, o acúmulo de putrescina atua como um mecanismo interno de compensação para manter o pH a um valor fisiologicamente adequado (MALAVOLTA, 2006), o qual é controlado fisiologicamente pelo K e mantido por volta de 7,2. As poliaminas, como espermidina, espermina, cadaverina e putrescina, têm interações significativas com o K em nível celular e regulam o canal K<sup>+</sup> da membrana

plasmática das células guarda, modulando a regulação estomática e, dessa forma bloqueiam a abertura e o fechamento dos estômatos, (LIU et al., 2000). Dessa forma, tem-se uma estreita ligação entre estresses ambientais, como a seca, nutricionais, a regulação estomática e o nível de poliamina (SANTOS et al., 2017).

Os ácidos orgânicos atuam como intermediários no ciclo energético e também desempenham um papel na adaptação das plantas à deficiência de nutrientes e a outros estresses abióticos (KANG et al., 2019). O perfil metabólico de ácidos orgânicos variou sob condição de déficit hídrico e teor de K no solo (Figura 3), IACSP95-5000 apresentou abundância de ácido aconítico e ácido gulônico, CTC14 ácido málico e ácido benzoico, RB975201 ácido aspártico e CTCT7 ácido valérico. O ácido málico está envolvido em muitos aspectos do metabolismo, sinalização, nutrição e resistência ao estresse abiótico em plantas (SCHULZE et al., 2002), sendo que seu acúmulo em estresse hídrico também foi relatado em videira (CRAMER et al., 2007) e batata (MANE et al., 2008). Levi et al. (2011) observaram que o acúmulo de alguns ácidos orgânicos, incluindo o ácido málico, poderia contribuir para a maior capacidade de alguns genótipos de algodão em gerenciar o estresse da seca.

Dentro desse contexto, o ácido aconítico e ácido málico estão entre os principais intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (*TCA*) (Figura 4), que está envolvido no metabolismo energético para impulsionar a biossíntese de ATP nas plantas (SWEETLOVE et al., 2010). Assim, o incremento de ácidos orgânicos no perfil metabólico dos genótipos sob condição de déficit hídrico, pode sugerir um suporte do teor de K no solo na manutenção das demandas do metabolismo energético causado pelo estresse à seca. No metabolismo das plantas, os açúcares transformados na via do *TCA* são utilizados para a biossíntese de aminoácidos e ácidos orgânicos e também dos compostos produzidos no metabolismo secundário (HELDT, 2005).

## 4.5 Conclusões

O déficit hídrico promoveu alterações no metabolismo oxidativo dos genótipos de canade-açúcar. A interação déficit hídrico e disponibilidade de potássio no solo, modulou as respostas do sistema enzimático antioxidante das plantas, de forma que foi observado aumento nas atividades das enzimas do metabolismo protetivo antioxidativo com o incremento na disponibilidade de K no solo. A caracterização do metaboloma foliar variou entre os diferentes genótipos estudados (IACSP95-5000, CTC14, RB975201 e CTC7), sendo verificado que o incremento do K no solo em plantas submetidas ao déficit hídrico mostrou-se influente sobre o perfil metabólico das mesmas, sendo observado acúmulo de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e poliamina, que também estão relacionados com as vias bioquímicas dos mecanismos de ajustes fisiológicos frente ao estresse hídrico à seca.

## Referências

AHMAD, Z.; ANJUM, S.; WARAICH, E.A.; AYUB, M.A.; AHMAD, T.; TARIQ, R.M.S.; AHMAD, R.; IQBAL, M.A. Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress – a review. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 41, n. 1, p. 1-10, 2018.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultravioleta radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 24, p. 1337-1344, 2001.

ANJUM, S.A.; ASHRA, F.U.; TANVEER, M.; KHAN I.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; ZOHAIB, A.; ABBAS, F.; SALEEM, M.F.; ALI, I.; WANG, L.C. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. 69, p. 1-12, 2017.

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.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, p. 280-292, 1998.

BABITA, M.; MAHESWARI, M.; RAO, L.M.; SHANKERB, A.K.; RAO, G.D. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 69, p. 243–249, 2010.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMAR, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRUNINI, R.G.; TURCO, J.E.P. Water stress index on sugarcane in different developmental phases. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 2, p. 204-215, 2018.

CAKMAK, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stress in plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 168, p. 521-530, 2005.

CEMBROWSKA-LECH, D.; KOPROWSKI, M.; KEPCZYNKI, J. Germination induction of dormant *Avena fatua caryopses* by KAR1 and GA3 involving the control of reactive oxygen species ( $H_2O_2$  and  $O_2^{-}$ ) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase and catalase) both in the embryo and the aleurone layers. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 176, p. 169-179, 2015.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA - CTC. **Bula Técnica Variedades**: CTC14. São Paulo: CTC14. 2018a. 4 p.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA - CTC. **Bula Técnica Variedades**: CTC14. São Paulo: CTC7. 2018b. 4 p.

CERNUSAK, L.A.; UBIERNA, N.; WINTER, K.; HOLTUM, J.A.M.; MARSHALL, J.D.; FARQUHAR, G.D. Environmental and physiological determinants of carbon isotope discrimination in terrestrial plants. **New Phytologist**, London, v. 200, p. 950-965, 2013.

CHAVES, M.M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 407, p. 2365–2384, 2004.

CIA, M.AC.; GUIMARÃES, A.C.R.; MEDICI, L.; CHABREGAS, S.M.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 171, n. 3, p. 451-463, 2012.

COPLEN, T.B. Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, West Sussex, v. 25, p. 2538-2560, 2011.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for massspectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 12, p. 133-149, 1957.

CRAMER, G.R.; ERGUL, A.; GRIMPLET, J.; TILLETT, R.L.; TATTERSALL, E.A.R.; BOHLMAN, M.C.; VINCENT, D.; SONDEREGGER, J.; EVANS, J.; OSBORNE, C.; QUILICI, D.; SCHLAUCH, K.A.; SCHOOLEY, D.A.; CUSHMAN, J.C. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. **Functional & Integrative Genomics**, Berlin, v.7, p. 111–134, 2007.

CUADROZ-INOSTROZA, A.; CALDANA, C.; REDESTIG, H.; KUSANO, M.; LISEC, J.; CORTÉS, H.P.; WILLMITZER, L.; HANNAH, M.A. TargetSearch - a Bioconductor package for the eficiente preprocessing of GC-MS metabolite profiling data. **BMC-Bioinformatics**, London, v. 10, n. 428, p.1-12, 2009.

CUYPERS, A.; PLUSQUIN, M.; REMANS, T.; JOZEFCZAK, M.; KEUNEN, E.; GIELEN, H.; OPDENAKKER, K.; NAIR, A.R.; MUNTERS, E.; ARTOIS, T.J.; NAWROT, T.; VANGRONSVELD, J.; SMEETS, K. Cadmium stress: an oxidative challenge. **Biometals**, Dordrecht, v. 23, p. 927-940, 2010.

DAMATTA, F.M.; MAESTRI, M.; MOSQUIM, P.R.; BARROS, R.S. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. **Plant** Science, Shannon, CO, v. 128, n. 1, p. 43-50, 1997.

DIOLA, V.; DALOSO, D.M.; ANTUNES, W.C. Metabolômica. In: BORÉM, A.; FRITSCHE-NETO, R. (Ed.). Ômicas 360<sup>o</sup>: Aplicações e estratégias para melhoramento de plantas. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora LTDA, 2013. cap. 8, p. 181-208.

DO, P.T.; DEGENKOLBE, T.; ERBAN, A.; HEYER, A. G.; KOPKA, J.; KÖHL, K.I.; HINCHA, D.K.; ZUTHER, E. Dissecting rice polyamine metabolism under controlled long-term drought stress. **PLoS ONE,** São Francisco, v. 8, n. 4, p. 1-14, 2013.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p. (Documentos, 132).

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 342 p.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K. T. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FARQUHAR, G.D.; RICHARDS, R.A. Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes. **Australian Journal Plant Physiology**, Collingwood, v. 11, p. 539–552, 1984.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v. 33, p. 317-345, 1982.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Ascorbate and Glutathione: The Heart of the Redox Hub. **Plant Physiology**, Rockville, v. 55, n. 1, p. 2-18, 2011.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 119, p. 355-364, 2003.

GEE, G.W.; OR, D. Particle-size analysis. In: DANE, J.H.; TOOP, G.C. (Ed.). **Methods of soil analysis:** physical methods. Madison: Soil Science Society of America, 2002. p. 255-293. (Book Series, 5).

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p. 909-930, 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**, Clayton, v. 32, p. 481-494, 2005.

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

GULLBERG, J.; JONSSON, P.; NORDSTRÖM, A.; SJÖSTRÖM, M.; MORITZ, T. Design of experiments: an eficient strategy to identify factors in Xuencing extraction and derivatization of *Arabidopsis thaliana* samples in metabolomic studies with gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 331, p. 283-295, 2004.

GUO, R.; SHI, L.; JIAO, Y.; LI, M.; ZHONG, X.; GU, F.; LIU, Q.; XIA, X.; LI, H. Metabolic responses to drought stress in the tissues of drought-tolerant and drought-sensitive wheat genotype seedlings. **AoB Plants**, Oxford, v. 10, n. 2, ply016, 2018. doi: 10.1093/aobpla/ply016.

HAMDANI, S.; YAAKOUBI, H.; CARPENTIER, R. Polyamines interaction with thylakoid proteins during stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, Amsterdam, v. 104, p. 314–319, 2011.

HAMILTON, S.K.; HUSSAIN, M.Z.; BHARDWAJ, A.K.; BASSO, B.; ROBERTSON, G.P. Comparative water use by maize, perennial crops, restored prairie, and poplar trees in the US Midwest. **Environmental Research Letters**, Bristol, v.10, p. 1-8, 2015.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, San Diego, v. 125, p. 189-198, 1968.

HELDT, H.W. Plant Biochemistry. 3. ed. San Diego: Elsevier, 2005. 258 p.

HELDT, H.W.; HELDT, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. In: HELDT, H.W. **Plant biochemistry.** San Diego: Academic, 2005. p. 435-454.

HENDERSON, S.A.; CAEMMERER, S.V.; FARQUHAR, G.D. Short-term measurements of carbon isotope discrimination in several  $C_4$  species. Australian Journal of Plant Physiology, Victoria, v. 19, p. 263-285, 1992.

HOFFMAN, D.E.; JONSSON, P.; BYLESJÖ, M.; TRYGG, J.; ANTTI, H.; ERIKSSON, M.E.; MORITZ, T. Changes in diurnal patterns within the Populus transcriptome and metabolome in response to photoperiod variation. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v. 33, n. 8, p. 1298-1313, 2010.

JANKŮ, M.; LUHOVÁ, L.; PETŘIVALSKÝ, M. On the Origin and Fate of Reactive Oxygen Species in Plant Cell Compartments. **Antioxidants**, Basel, v. 8, n. 4, p. 1-15, 2019.

JORGE, T.F.; ANTONIO, C. Plant Metabolomics in a Changing World: Metabolite Responses to Abiotic Stress Combinations. In: VIOLETA, A. (Ed.). **Plant, abiotic stress and responses to climate change**. London: IntechOpen, 2018. cap. 6, p. 111-132.

KANAI, S.; MOGHAIEB, R.E.; EL-SHEMY, H.A.; PANIGRAHI, R.; MOHAPATRA, P.K.; ITO, J.; NGUYEN, N.T.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Potassium deficiency affects water status and photosynthetic rate of the vegetative sink in green house tomato prior to its effects on source activity. **Plant Science**, Shannon, CO, v. 180, n. 2, p. 368-74, 2011.

KANG, Z.; BABAR, M.A.; KHAN, N.; GUO, J.; KHAN, J.; ISLAM, S.; SHRESTHA, S.; SHAHI, D. Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in post-anthesis drought tolerance in wheat. **PLoSONE**, San Francisco, v. 14, n. 3, e0213502, 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0213502.

KAPOOR, A.D.; SINGH, S.; KUMARE, V.; ROMERO, R.; PRASAD, R.; SINGH, J. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). **Plant Gene**, Amsterdam, v. 19, 2019. doi: 10.1016/j.plgene.2019.100182.

KHAN, N.; BANO, A.; RAHMAN, M.A.; GUO, J.; KANG, Z.; BABAR, MD.A. Comparative Physiological and Metabolic Analysis Reveals a Complex Mechanism Involved in Drought Tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Induced by PGPR and PGRs. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 2097, p. 1-19, 2019.

KOPKA, J.; SCHAUER, N.; KRUEGER, S.; BIRKEMEYER, C.; USADEL, B.; BERGMULLER, E.; DORMANN, P.; WECKWERTH, W.; GIBON, Y.; STITT, M. Gmd@csb.Db: the Golm Metabolome Database. **Bioinformatics**, Oxford, v. 21, n. 8, p. 1635–1638, 2005.

KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 4, p. 1593–1608, 2012.

KRAUS, T.E.; McKERSIE, B.D.; FLETCHER, R.A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 145, p. 570-576, 1995.

LANDELL, M.G.A.; CAMPANA, M.P.; FIGUEIREDO, P.; XAVIER, M.A.; VASCONCELOS, A.C.M.; BIDOIA, M.A.P.; SILVA, D.N.; DOS ANJOS, I.A.; PRADO, H.; PINTO, L.R.; SOUZA, S.C.D.; SCARPARI, M.S.; ROSA JUNIOR, V.E.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; AZANIA, C.A.M.; PERECIN, D.; ROSSETO, R.; SILVA, M.A.; MARTINS, A.L.M.; CAVICHIOLI, J.C.; VEIGA FILHO, A.A.; MENDONÇA, J.R.; DIAS, F.L.F.; GARCIA, J.C. Variedades de cana-de-açúcar para o centro-sul do Brasil: 16<sup>a</sup> liberação do programa cana IAC (1959-2007). Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 37 p.

LÁZARO, J.J.; JIMÉNEZ, A.; CAMEJO, D.; IGLESIAS-BAENA, I.; MARTÍ MDEL, C.; LÁZARO-PAYO, A.; BARRANCO-MEDINA, S.; SEVILLA, F. Dissecting the integrative antioxidant and redox systems in plant mitochondria. Effect of stress and S-nitrosylation. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, n. 460, p. 1-20, 2013.

LEAL, D. P. V.; COELHO, R. D.; BARBOSA, F. DA S.; FRAGA-JÚNIOR, E. F. F.; MAURI, R.; SANTOS, L. DA S. Water productivity for sugar and biomass of sugarcane varieties. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 9, p. 618-622, 2017.

LEVI, A.; PATERSON, A.H.; CAKMAK, I.; SARANGA, Y. Metabolite and mineral analyses of cotton near-isogenic lines introgressed with QTLs for productivity and drought-related traits. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 141, n. 3, p. 265-275, 2011.

LIU, K.; FU, H.; BEI, Q.; LUAN, S. Inward potassium channel in guard cells As a target for polyamine regulation of stomatal movements. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 124, p. 1315–1325, 2000.

LIU, P.; YIN, L.; WANG, S.; ZHANG, M.; DENG, X.; ZHANG, S.; TANAKA. Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt-induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. Environmental and Experimental Botany, Oxford, v. 111, p. 42–51, 2015.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 201 p.

MANE, S.P.; ROBINET, C.V.; ULANO, A.; SCHAFLEITNER, R.; TINCOPA, L.; GAUDIN, A.; NOMBERTO, G.; ALVARADO, C.; SOLIS, C.; BOLIVAR, L.A.; BLAS, R.; ORTEGA, O.; SOLIS, J.; PANTA, A.; RIVERA, C.; SAMOLSKI, I.; CARBAJULCA, D.H.; BONIERBALE, M.; PATI, A.; HEATH, L.S.; BOHNERT, H.J.; GRENE, R. Molecular and physiological adaptation to prolonged drought stress in the leaves of two Andean potato genotypes. **Functional & Integrative Genomics**, Berlin, v.35, p.669–688, 2008.

MARCHIORI, P.E.R. **Fisiologia de cana-de-açúcar sob déficit hídrico: Plasticidade fenotípica, transporte de água, metabolismo antioxidante e fotossíntese**. 2014. 84 p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas, 2014.

MARCOS, F.C.C; SILVEIRA, N.M.; MOKOCHINSKI, J.B; SAWAYA, A.C.H.F.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, E.C.M; SOUZA, G.M.; LANDELL, M.G.A.; RIBEIRO, R.V. Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit, **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 223, p. 9-18, 2018.

MARSCHNER, P. Mineral nutrition of higher plants. 3. ed. New York: Elsevier, 2012. 651 p.

MARTIN, B.; THORSTENSON, Y. R. Stable Isotope Composition (delta <sup>13</sup>C), Water Use Efficiency, and Biomass Productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, and the F1 Hybrid. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 88, p. 213-217, 1988.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 13, p. 1091-1101, 1972.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, p. 405-410, 2002.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-especific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, p. 867-880, 1981.

O'LEARY, M. H. Carbon Isotopes in Photosynthesis. **BioScience**, Oxford, v. 38, p. 328-336, 1988.

OOSTEN, J. J.; BESFORD, R.T. Some relationships between the gas exchange, biochemistry and molecular biology of photosynthesis during leaf development of tomato plants after transfer to different carbon dioxide concentrations. **Plant, Cell & Environment,** Oxford, v. 18, n. 11, p. 1253–1266, 1995.

OSMOND, C.B.; BJÖRKMAN, O.; ANDERSON, D.J. **Physiological processes in plant** ecology. New York: Springer-Verlag, 1980.

PARK, R.; EPSTEIN S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis, Geochimica et Cosmochimica Acta, New York, v. 21, p. 110-126, 1960.

PRABU, G.; KAWAR, P. G.; PAGARIYA, M.C.; PRASAD, D.T. Identification of waterdeficit stress-upregulated genes in sugarcane. **Plant Molecular Biology Reporter**, New York, v. 29, p. 291-304, 2011.

PRADO, F. E.; BOERO, C.; GALLARDO, M.; GONZALEZ, J.A. Effect of NaCl on germination, growth, and soluble sugar content in Chenopodium quinoa Willd. seeds. **Botanical bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 41, p. 27-34, 2000.

RACCHI, M. L. Antioxidant Defenses in Plants with Attention to Prunus and *Citrus* spp. **Antioxidants**, Basel, v. 2, n. 4, p. 340-369, 2013.

RAIJ, B.V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.

REDE INTERUNIVERSITÁRIA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SETOR SUCROENERGÉTICO - RIDESA. Liberação nacional de variedades RB de cana-deaçúcar. Curitiba: Graciosa, 2015. 71 p.

REGUERA, M.; PELEG, Z.; BLUMWALD, E. Targeting metabolic pathways for genetic engineering abiotic stress-tolerance in crops. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1819, p. 186–194, 2012.

ROSSETO, R.; DIAS, F.L.F; VITTI, A.C.; TAVARES, S. Potássio. In: DINARDO-MIRANDA, L.L; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A (Ed.). **Cana-de-açúcar.** Campinas: Instituto Agronômico, 2010. cap. 12, p. 289-311. SAED-MOUCHESHI, A.; PESSARAKLI, M.; SHEKOOFA, A. Reactive Oxygen Species (ROS) Generation and Detoxifying in Plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 37, n. 10, p. 1573-1585, 2014.

SANTOS, E.F.; MACEDO, F.G.; ZANCHIM, B.J.; LIMA, G.P.P.; LAVRES, J. Prognosis of physiological disorders in physic nut to N, P, and K deficiency during initial growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 115, p. 249-258, 2017.

SCHAUER, N.; STEINHAUSER, D.; STRELKOV, S.; SCHOMBURG, D.; ALLISON, G.; MORITZ, T.; LUNDGREN, K.; TUNALI, U.R.; FORBES, M.G.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A.R.; KOPKA, J. GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 579, n. 6, p. 1332-1337, 2005.

SCHULZE, J.; TESFAYE, M.; LITJENS, R.H.M.G.; BUCCIARELLI, B.; TREPP, G.; MILLER, S.; SAMAC, D.; ALLAN, D.; VANCE, C. P. Malate plays a central role in plant nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 247, p. 133–139, 2002.

SEIBT, U.; RAJABI, A. GRIFfiTHS, H.; BERRY, J.A. Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. **Oecologia**, New York, v. 155, p. 441-454, 2008.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparation of nutriente efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, Rockville, v. 4, p. 289-302, 1981.

SILVEIRA, N. M.; HANCOCK, J. T.; FRUNGILLO, L.; SIASOU, E.; MARCOS, F. C. C.; SALGADO, I.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Evidence towards the involvement of nitric oxide in drought tolerance of sugarcane. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 115, p. 354-359, 2017.

SLAMA, I.; ABDELLY, C.; BOUCHEREAU, A.; FLOWERS, T.; SAVOURE, A. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 115, p. 433-447, 2015.

SMILDE, A.; JANSEN, J.; HOEFSLOOT, H.; LAMERS, R.; VAN DER GREEF, J.; TIMMERMAN, M. ANOVA-simultaneous component analysis ASCA: a new tool for analyzing designed metabolomics data. **Bioinformatics**, Oxford, v. 21, p. 3043–3048, 2005.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C. P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J. L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1997. p. 237-239. (Boletim Técnico, 100).

SWEETLOVE, L.J.; BEARD, K.F.; NUNES-NESI, A.; FERNIE, A.R.; RATCLIFFE, R.G. Not just a circle: flux modes in the plant TCA cycle. **Trends Plant Science**, London, v. 15, n. 8, p. 62-70, 2010.

TU, B.; LIU, C.; TIAN, B.; ZHANG, Q.; LIU, X.; HERBERT, S.J. Reduced abscisic acid content is responsible for enhanced sucrose accumulation by potassium nutrition in vegetable soybean seeds. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 130, p. 551–558, 2017.

TÜRKAN, I.; BORFILIZ, M.; ÖZDEMIR, 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**, Shannon, CO, v. 168, n. 1, p. 223-231, 2005.

TZIN, V.; GALILI, G. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 3, n. 6, p. 956–972, 2010.

URANO, K.; MARUYAMA, K.; OGATA, Y.; MORISHITA, Y.; TAKEDA, M.; SAKURAI, N.; SUZUKI, H.; SAITO, K.; SHIBATA, D.; KOBAYASHI, M.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Characterization of the ABA-regulated global responses to dehydration in Arabidopsis by metabolomics. **Plant Journal**, Hoboken, v.57, p.1065–1078, 2009.

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

VERMA, S.; MISHRA, S.N. Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica juncea by inducing antioxidative defense system. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, p. 669-677, 2005.

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**, Oxford, v. 45, p. 523–539, 2006.

VILELA, R.D.; BEZERRA, B.K.L.; FROEHLICH, A.; ENDRES, L. Antioxidant system is essential to increase drought tolerance of sugarcane. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 171, p. 451–463, 2017.

WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n.4, p. 7370–7390, 2013.

WITKOWSKI, E.T.F.; LAMONT, B.B. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia**, New York, v. 88, p. 486-493, 1991.

XIA J.; SINELNIKOV I. V.; HAN, B.; WISHART D. S. MetaboAnalyst 3.0: making metabolomics more meaningful. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 43, n.1, p. 251-257, 2015.

XIA, J.; WISHART, D.S. Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis current protocols in bioinformatics. **Current Protocols in Bioinformatics**, Ithaca, v. 55, n.1, p.14.10.1-14.10.91, 2016.