

ADAPTAÇÃO DO MILHO (*Zea mays* L.) A DIFERENTES CONDIÇÕES DE ENCHARCAMENTO AVALIADO ATRAVÉS DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA.

Frederico Ozanan Machado Durães¹, Paulo César Magalhães¹, Elto Eugênio Gomes e Gama¹, Antônio Carlos de Oliveira¹, Cristiane da Silva Ferreira²

INTRODUÇÃO

O excesso de umidade no solo é uma condição ambiental estressante ao desenvolvimento de culturas alimentares, exceção feita para o arroz, reduzindo sensivelmente o aproveitamento de extensas áreas para o plantio de uma segunda cultura. Estima-se que no Brasil existem cerca de 28 milhões de hectares nesta condição e que podem ser incorporados ao processo produtivo. Somente no estado do Rio Grande do Sul são cerca de 5,4 milhões de hectares de solos de várzea (Pinto et al. 1999).

Nas espécies vegetais são conhecidas variações de tolerância à inundação, o que torna possível a seleção e o melhoramento genético para essa condição do solo. Essa variação de tolerância às condições de inundação, em milho, tem sido descrita por Atwell et al. (1985), Carangal (1988), Kanwar et al. (1988), Porto et al. (1992), Parentoni et al. (1995). Esta tolerância vem sendo atribuída à formação de raízes adventícias e à adaptação morfológica como a formação de aerênquima nas raízes (Drew et al., 1979).

As plantas de milho respondem ao encharcamento sofrendo modificações aos níveis molecular, bioquímico e estrutural da célula. A significância adaptativa do aerênquima reside no fato de que o tecido provenha baixa resistência à difusão do ar em tecidos submersos e, entretanto, possa promover a sobrevivência sob encharcamento (Drew et al., 1979). Em raízes de milho sob encharcamento, permeabilidade da plasmalema, atividade da ADH e o conteúdo de produtos da fermentação alcoólica aumentaram com o prolongamento do encharcamento, com o maior aumento verificado na cultivar suscetível (Liu et al., 1993).

As hipóteses são que limitações no conteúdo de oxigênio é o estresse primário em plantas de milho sob encharcamento, e adaptações morfológicas no sistema radicular estão associadas a tolerância ao encharcamento; e, que características secundárias identificadas em germoplasma de milho sob condições de estresse de encharcamento servem à seleção e melhoramento de genótipos tolerantes.

O objetivo desse trabalho foi avaliar genótipos de milho contrastantes para estresse de encharcamento, através de variáveis de adaptação do sistema radicular, e verificar o potencial da técnica de fluorescência da clorofila como *screening* para tolerância ao encharcamento.

¹ Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151 – CEP 35701-970 – Sete Lagoas, MG. (E-mail: fduraes@cnpmc.embrapa.br)

² Eng^o Agr^o, Mestranda FUA/INPA-Manaus, AM. Estagiária da Embrapa Milho e Sorgo.

MATERIAL E MÉTODOS

O material genético: A Embrapa Milho e Sorgo criou, em 1986, um composto de milho de ampla base genética (mistura balanceada de 36 populações amarelas). Esse composto foi submetido a quatro ciclos de seleção massal, em área de várzea mal drenada. A partir de 1989 foram avaliados quatro ciclos de seleção e uma cultivar de milho BR 107 (suscetível ao encharcamento do solo), testados em dois ambientes: sob irrigação normal e encharcado, a partir de trinta dias de germinação, próximo ao florescimento – fase crítica para esse tipo de estresse (Jackson, 1979; Russel, 1977), onde os genótipos recebiam uma lâmina d'água de 20 cm (inundação de tabuleiro), três vezes por semana, até a maturidade fisiológica. Concluiu-se que a seleção em ambiente encharcado provocou um aumento da porosidade de raiz (metodologia do picnômetro descrita por Jensen et al., 1969) do C1 para o C4. O parâmetro número de fileiras de grãos da espiga foi o componente de produção, no ambiente encharcado, de maior efeito isolado no peso de grãos, em g.planta^{-1} . A seleção para esse parâmetro deverá implicar um aumento de produtividade. Buscam-se, nestes estudos, explorar a variabilidade genética da variedade de milho “*Saracura*”, atualmente no Ciclo 14 de seleção, visando identificar e entender características secundárias associadas à adaptação de plantas e ao rendimento de grãos, bem como identificar e caracterizar mecanismos de tolerância ao encharcamento.

Experimento 1: Produção de matéria seca, comprimento relativo de raiz seminal e fluorescência da clorofila em plantas de milho. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, em dois níveis de alumínio (0 e $222 \mu\text{moles L}^{-1}$ de Al), impostos dos sete aos 14 dias após o início de germinação (papel toalha), em solução nutritiva (Magnavaca et al. 1987), em dois genótipos: BR 107 (suscetível) e Saracura-Ciclo 13 (tolerante ao encharcamento temporário), em três repetições. O peso da matéria seca de parte aérea e de raiz, Comprimento Relativo da Raiz Seminal (CRRS) foram obtidos de médias de 21 plântulas por parcela experimental. Pormenores experimentais e obtenção de parâmetros de fluorescência da clorofila estão descritos em Durães et al. 2000, 2001.

Experimento 2: Produção de matéria seca, fluorescência da clorofila e atividade da enzima ADH (*álcool desidrogenase, EC 1.1.1.1*) em plantas de milho. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, sob regime controlado de encharcamento, na Embrapa Milho e Sorgo, no período de 16 de setembro a 06 de outubro de 2000, utilizando dois genótipos de milho, contrastantes para encharcamento: BR 107 (suscetível) e Saracura-Ciclo 13 (tolerante ao encharcamento temporário). Inicialmente, semearam-se 50 sementes de cada um dos genótipos de milho em solo, utilizando-se o “método dos copinhos” (Porto et al., 1990 e 1992), com avaliação da germinação após sete dias de plântula. Após este período, cada parcela experimental consistiu de uma plântula por copo, as quais foram submetidas a dois regimes de estresses hídricos: sob encharcamento (RH1) e sob seca (RH2) do sistema radicular, durante três dias. Para as análises enzimáticas foram coletadas amostras de quatro plântulas por parcela, utilizando-se o método descrito por Russell et al. 1990. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 4$. As médias foram avaliadas de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Medidas de fluorescência e conteúdo da clorofila: A fluorescência da clorofila *in vivo* foi medida, em cada experimento, após a imposição do estresse específico, na superfície superior da última folha com lígula visível, usando um PEA II (Hansatech Instruments Co., UK). *A priori* de medidas dos parâmetros de fluorescência (F_0 , inicial; F_m , máxima; F_v , variável), porção das folhas escolhidas para avaliação foram adaptadas no escuro (com *leafclip*) por um mínimo de 30 minutos em temperatura ambiente, em plantas intactas por parcela experimental, para Al e RH. A folha intacta foi acoplada, no escuro, na sonda do fluorômetro. Para o cálculo e definição de parâmetros em análise de *quenching* da fluorescência da clorofila, vide Scholes & Horton (1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Exp. 1: Produção de matéria seca, comprimento relativo de raiz seminal e fluorescência da clorofila em plantas de milho. Os resultados estão apresentados na **Tabela 1** e **Figura 1 (a, b, c, d)**. Os dois genótipos apresentaram redução na produção de matéria seca de parte aérea e raiz em Al-tratamento em relação ao Controle, tendo o Saracura apresentado maiores diferenças. O CRRS em relação ao Controle ($0 \mu\text{moles L}^{-1}$ de Al) resultou em 44% e 34%, para os genótipos G1 (BR 107) e G2 (Saracura), respectivamente. Também, em relação ao Controle, para os genótipos G1 e G2, respectivamente, a razão F_v/F_m foi de 40% e 106% e a razão F_v/F_0 foi de 317% e 81%.

Exp. 2: Produção de matéria seca, fluorescência da clorofila e atividade da enzima ADH (álcool desidrogenase, EC 1.1.1.1) em plantas de milho. Os resultados estão apresentados nas **Tabelas 1 e 2**. Os dois genótipos apresentaram redução na produção de matéria seca de parte aérea e raiz sob seca (RH2) em relação ao regime hídrico sob encharcamento (RH1), tendo o Saracura apresentado maiores diferenças. A razão F_v/F_m de RH2 em relação ao RH1 resultou em 45% e 78%, para os genótipos G1 (BR 107) e G2 (Saracura), respectivamente. De modo similar, a razão F_v/F_0 foi de 17% e 50%, para os genótipos G1 e G2, respectivamente. A atividade da ADH apresentou diferenças não significativas, embora com tendência de valores maiores no genótipo de milho BR 107, em relação ao Saracura, durante o encharcamento, e comportamento inverso quando submetido à seca (**Tabela 2**). Isto é explicado, provavelmente, devido ao período de três dias a que as plântulas foram submetidas ao tratamento, sendo insuficientes para que as diferenças se expressassem significativamente. Nos dois genótipos, BR 107 e Saracura, o estresse causado por encharcamento mostrou valores quase duas vezes maiores na atividade da ADH que quando submetidas à seca. Similarmente aos dados apresentados por Souza et al. (2000) a atividade da enzima ADH não diferiu significativamente entre os genótipos, porém, apresentou valores maiores quando submetidos ao estresse por excesso de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atwell, B.J. A study of the impaired growth of root of *Zea mays* seedlings at low oxygen concentration. **Plant, Cell and Environment**. **8**:179-188. 1985.
- Carangal, V.R. Maize in rice-based cropping systems. **In: ASIAN REGIONAL MAIZE WORKSHOP**, 3., Mexico, 1988. Proceedings. Mexico. CIMMYT. p. 119-190. CLARKE, J.M. & TOWNLEY-SMITH, T.F. 1984. **In: VOSE, P.B. & BLIXT, S.G., eds., Crop Breeding, a Contemporary Basis**, pp. 137-162. Pergamon, Oxford, UK. 1988.

- Drew, M.C.; Jackson, M.B.; Giffard, S. Ethylene promoted adventitious rooting and development of cortical air spaces (aerenchyma) in roots may be adaptative responses to flooding in *Zea mays* L. **Planta** **147**:83-88. 1979.
- Durães, F.O.M.; Oliveira, A.C.; Alves, V.M.C. Avaliação de genótipos de milho para tolerância à toxidez de alumínio em solução nutritiva: relação da precocidade de emissão da raiz primária e índice fenotípico CRRS. **In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23.**, Uberlândia, 2000. Resumos. Uberlândia, MG. ABMS;CNPMS. 2000. (CD-ROM. Artigo em Anais do XXIII CNMS).
- Durães, F.O.M.; Oliveira, A.C.; Neis, L.; Verginassi, A.; Britto, D.D.S. Avaliação da precocidade de emissão da raiz primária em milho e parâmetros de parte aérea para screening de Al, em solução nutritiva. **In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8.**, Ilhéus, 2001. Anais. Ilhéus, BA. SBFV. 2001 (CD-ROM. Artigo em Anais do VIII CBFV).
- Jackson, M.B. Is the diageotropic tomato ethylene deficient? **Physiol. Plant** **46**:347-351. 1979.
- Jensen, C.R.; Luxmoore, R.J.; Van Gundy, S.D.; Stolzy, H.L. Root air space measurements by a pycnometer method. **Agron. J.**, **61**(3):474-475. 1969.
- Kanwar, R.S.; Sial, J.K. Effects of waterlogging on growth on corn. **In: ICID EUROPEAN REGIONAL CONFERENCE, 15.**, Dubrovnik, Yugoslavia, 1988. Proceeding ... Dubrovnik: Luterrational Commision on Irrigation and Drainage. v.2, p. 167-171. 1988.
- Liu-XZ; Wang-ZL, Gao-YZ. Relationship between malic metabolism and flooding tolerance in maize roots under waterlogging stress. **Plant-Physiology-Communications** **29**:413-415. 1993.
- Magnavaca, R.; Gardner, C.O.; Clark, R.B. Evaluation of inbred maize lines for aluminum tolerance in nutrient solution. **In: H.W. Gabelman and B.C. Loughman (Eds.)**, Genetic aspects of plant mineral nutrition, pp. 255-265, 1987. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Parentoni, S.N.; Gama, E.E.G.; Magnavaca, R.; Magalhães, P.C. Selection for tolerance to waterlogging in maize (*Zea mays* L.). p.434-449. **In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL, 1.**, 1992. Belo Horizonte, MG. O Milho em Perspectiva. Anais. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. México: CIMMYT/UNDP, 1995. 44p.
- Pinto, L.F.S.; Pauletto, E.A.; Gomes, A. de S.; Sousa, R.O. de. Caracterização de solos de várzea. **In: GOMES, A. de S.; PAULETTO, E.A.** Manejo do solo e da água em áreas de várzea. Pelotas : Embrapa Clima Temperado. 1999. p. 11-36.
- Porto, M.P.; Caetano, V.R.; Pinto, A.S. Identificação de genótipos de milho tolerantes às condições de excesso de umidade dos solos hidromórficos. **In: REUNIÃO DO PROGRAMA NACIONAL DE PESQUISA EM TERRAS BAIXAS DE CLIMA TEMPERADO, 3.**, 1990, Pelotas. Anais ... Pelotas. Embrapa-CPATB, 1990. p. 67.
- Porto, M.P.; Franco, D.F.; Pinto, A.S. Método de seleção de plantas de milho (*Zea mays* L.) para tolerância ao excesso de água no solo. **In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 19.**, 1992, Porto Alegre. Resumos... Porto Alegre: IPAGRO/EMATER. p. 51.
- Russell, R.S. **Plant root systems:** Their function and interaction with the soil. McGraw-Hill, New York, pp. 90-112. 1977.
- Russell, D.A.; Wong, D.M.-L.; Sachs, M.M. The anaerobic response of soybean. **Plant Physiol.** **92**:401-407. 1990.
- Scholes, J.D.; Horton, P. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence: simultaneous measurements. pp.130-135. **In: METHODS IN COMPARATIVE PLANT ECOLOGY.** A laboratory manual. Ed. by G.A.F. Hendry and J.P. Grime. Chapman & Hall, London, 1993. 252 p.
- Souza, I.R.P.; Magalhães, P.C.; Meyer, L.E.; Pires, N.M.; Andrade, C.L.T. Alterações morfo-fisiológicas no grão de pólen e atividade da álcool desidrogenase em milho sob diferentes frequências de encharcamento. **In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23.**, 2000, Uberlândia. Resumos... Uberlândia: ABMS;Embrapa;UFU. p.

Tabela 1 – Peso de matéria seca na parte aérea (PSPA), raiz (PSR), comprimento relativo de raiz seminal (CRRS), fluorescência da clorofila (Fv/Fm, Fv/F0), em milho, analisadas para os fatores (**Exp.1**) genótipos e concentração de Al (0 e 222 $\mu\text{moles L}^{-1}$ de Al) e (**Exp.2**) genótipos e regimes hídricos (Encharcamento e Seca), utilizando-se o método dos “copinhos”. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. Junho/2001.

Variável	Genótipo	Concentração de Al ($\mu\text{moles L}^{-1}$ de Al) (Exp.1)		Regime Hídrico (Exp.2)	
		0 (Controle)	222	Sob Encharcamento	Sob Seca
PSPA	BR 107	0,763 b	0,627 a	1,100 b	0,840 a
	Saracura	0,927 a	0,497 b	1,260 a	0,820 a
PSR	BR 107	0,387 b	0,357 a	0,720 b	0,560 a
	Saracura	0,530 a	0,277 a	0,910 a	0,600 a
CRRS	BR 107	174,00 a	76,50 a	-	-
	Saracura	175,33 a	58,67 a	-	-
Fv/Fm	BR 107	6,983 a	2,767 a	0,750 a	0,340 b
	Saracura	2,590 b	2,737 a	0,730 b	0,580 a
Fv/F0	BR 107	0,173 b	0,570 a	2,990 a	0,510 b
	Saracura	0,727 a	0,590 a	2,670 b	1,340 a

Para cada variável, médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

F0, Fluorescência inicial; Fm, Fluorescência máxima; Fv, Fluorescência variável

Fv/Fm, Razão da eficiência quântica do PSII

Fv/F0, Razão da Fluorescência variável/inicial

Tabela 2 – Valores médios da atividade da álcool desidrogenase nos genótipos BR 107 e Saracura, sob diferentes regimes hídricos. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. Junho/2001.

Genótipos	Atividade da ADH ($\mu\text{moles g PF}^{-1}$)	
	Sob Encharcamento	Sob Seca
BR 107	0,2362 a	0,1141 a
Saracura	0,2282 a	0,1250 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Fig. 1.a - Comprimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) de milho em relação a Fv/Fm, em duas concentrações de Al

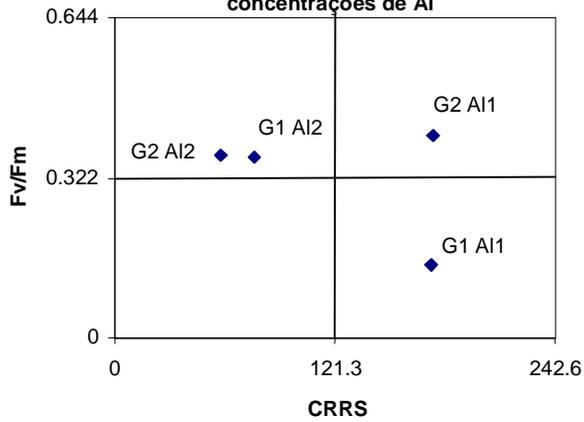


Fig. 1.b - Comprimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) de milho em relação a Fv/F0, em duas concentrações de Al

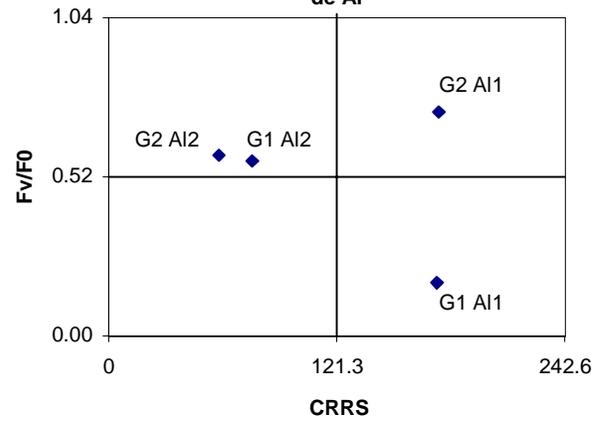


Fig. 1.c - Comprimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) de milho em relação a Fm/F0, em duas concentrações de Al

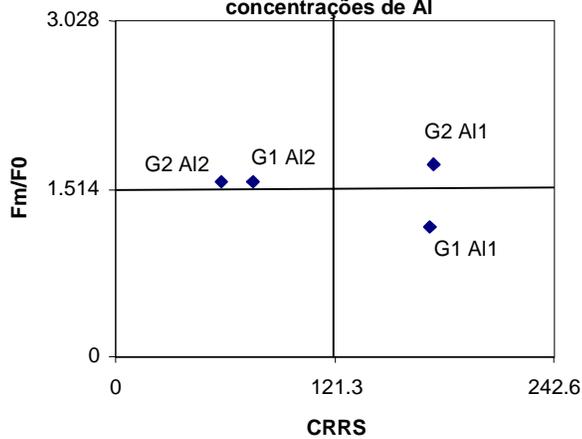


Fig. 1.d - Comprimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) de milho em relação a Comprimento Final de Raiz em Al1

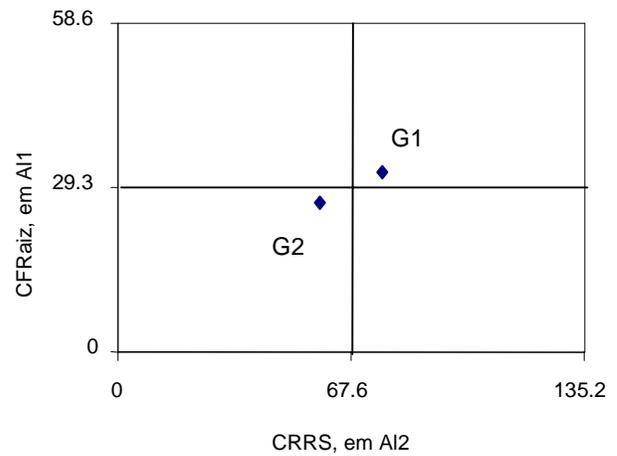


Figura 1 – Comprimento Relativo da Raiz Seminal (CRRS) de milho em relação a: **1)** Fv/Fm; **2)** Fv/F0; **3)** Fm/F0 em duas concentrações de Al; e, **4)** Comprimento Final da Raiz Seminal (CFRaiz) em Al-Controle (0 $\mu\text{moles L}^{-1}$ de Al). Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Junho/2001.