

# Análise de Fluorescência da Clorofila em Linhagens de Milho Contrastantes para Tolerância à Seca Submetidas a dois Níveis de Nitrogênio

[Previous](#) [Top](#)  
[Next](#)



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C

ROGÉRIO A. F. MACHADO<sup>1</sup>, FREDERICO O. M. DURÃES<sup>2</sup>, JOÃO D. RODRIGUES<sup>3</sup>, PAULO C. MAGALHÃES<sup>2</sup>, FERNANDO R. O. CANTÃO<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>. Prof. Dep. Agronomia-UNEMAT, Cx.Postal. 234, Alta Floresta, MT, e-mail: [rogymachado@yahoo.com.br](mailto:rogymachado@yahoo.com.br); <sup>2</sup>. Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, Sete Lagoas, MG; <sup>3</sup>. Prof. Dep. Botânica-IBB/UNESP, Botucatu - SP. <sup>4</sup>. Graduando em Agronomia - UFLA, Lavras-MG.

## INTRODUÇÃO

Nas regiões tropicais, a deficiência hídrica e as carências nutricionais são consideradas as principais causas da instabilidade no rendimento de grãos. O déficit hídrico dificulta a absorção do nitrogênio, um componente essencial das clorofilas, as quais são responsáveis pela captação da energia solar e pela produção de fotoassimilados nas plantas. A deficiência de N reduz a área foliar, acelera a senescência das folhas, reduz a eficiência da fotossíntese, e conseqüentemente a atividade fotossintética da planta (Uhart e Andrade, 1995). De acordo com Bruce et al., (2002), quando a cultura do milho é submetida ao déficit hídrico, ocorre declínio na fotossíntese, o qual pode ser devido à redução na interceptação de luz com a redução da área foliar ou a senescência das folhas e ainda redução na fixação de carbono pelo fechamento estomático ou ainda danos da foto-oxidação do aparato fotossintético Segundo este autor, a habilidade de proteger as membranas celulares e enzimas do estresse e se recuperar do déficit hídrico podem também modificar a capacidade da cultura de sobreviver e produzir grãos. A avaliação da fluorescência da clorofila tem se mostrado uma importante ferramenta no estudo de mecanismos de adaptação diferentes a estresses. Os diferentes tipos de estresse afetam direta ou indiretamente o funcionamento do Fotossistema II. Assim, a fluorescência da clorofila pode ser utilizada como indicador de estresse nas plantas, sendo a relação  $F_v/F_m$  um importante indicador de estresses, entre eles seca e carência de nitrogênio. Baseado nestes fatos foi desenvolvido o presente estudo, que teve como objetivo avaliar parâmetros de fluorescência da clorofila em linhagens de milho contrastantes para tolerância à seca submetidas à diferentes níveis de nitrogênio.

## MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado como substrato foi retirado da camada superficial (0 a 20 cm) de um Latossolo Vermelho, cujos resultados da análise química são apresentados na **Tabela 1**.

PH	H + Al	Al	Ca	Mg	K	P	M. O.	m	V
	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-2</sup>			mg dm <sup>-2</sup>		Dag Kg <sup>-1</sup>	%		
6,0	3,43	0,0	4,60	0,57	161	19	3,39	0	62

Antes da sementeira, cada vaso contendo 18 kg de solo recebeu uma adubação de plantio contendo 27 g de superfosfato simples e 10 g de FTE-BR12. Os níveis de nitrogênio foram aplicados como adubação de cobertura na forma de solução a partir do estágio V6 até o florescimento. Foram semeadas manualmente 6 sementes por vaso e aos 20 dias após a emergência foi realizado um desbaste deixando-se 4 plantas por vaso, das quais colheram-se 2 plantas para determinação da fitomassa durante o período de avaliação dos tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial, constando de 2 linhagens contrastantes para tolerância à seca (L13.1.2 e L1170), 2 doses de nitrogênio, N20 e N80 (20 e 80 mg N dm<sup>-3</sup> solo) e 2 regimes hídricos em 6 repetições, totalizando 48 parcelas, sendo cada unidade experimental (parcela) constituída de 2 plantas por vaso. Os regimes hídricos avaliados foram; tratamento controle ou sem estresse, TC (-0,01MPa a -0,10 MPa) e estresse hídrico – EH (-0,10 a -0,30 MPa), definidos pelos valores da curva característica de umidade do solo. O controle da umidade dos vasos durante o período de estresse foi efetuado diariamente utilizando-se balança de precisão. Os tratamentos de estresse hídrico tiveram duração de 20 dias e se iniciaram após o início do florescimento masculino (surgimento do pendão). O déficit hídrico foi imposto às plantas via supressão da irrigação até a umidade nos vasos atingir a tensão de -0,30 MPa, sendo irrigados na manhã seguinte até atingirem umidade equivalente ao potencial de água no solo de -0,10 MPa. As avaliações da fluorescência da clorofila foram efetuadas utilizando-se o fluorômetro portátil, *PEA (Plant Efficiency Analyzer) da New Hansatech Instruments Ltda*. A luz emitida pelo aparelho localiza-se na faixa do vermelho, entre 580 e 700nm, com pico de 650nm, o que permite sua absorção pelos cloroplastos. A luz de excitação empregada no ensaio foi de 1500  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  na superfície da folha, correspondendo a 50% da intensidade máxima propiciada pelo aparelho. Antes das leituras, a região onde será efetuada a leitura é pré-condicionada no escuro por 30 minutos. São empregados cliques foliares 'leaf clips', com um sistema de janela que permite sua abertura e fechamento. O tempo de adaptação no escuro de 30 minutos é considerado como suficiente para que ocorra o "relaxamento" do sistema transportador de elétrons, assegurando o estado oxidado dos receptores de elétrons. A partir do uso da luz saturante e do completo relaxamento do sistema, o pico de fluorescência pode ser considerado como a fluorescência máxima ( $F_m$ ). Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros: Fluorescência inicial ( $F_0$ ), Fluorescência máxima ( $F_m$ ), Fluorescência variável ( $F_v = F_m - F_0$ ) e a eficiência quântica do fotossistema - FSII (relação  $F_v/F_m$ ). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste da DMS, o qual também foi empregado para estudo dos efeitos das interações entre os diferentes fatores.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na **Figura 1**, que os valores da Fluorescência inicial ( $F_0$ ) não foram afetados pelos diferentes tratamentos estudados, embora existam diferenças, estas não foram significativas. Resultados semelhantes foram encontrados por Lu e Zhang (2000) estudando os efeitos do nitrogênio na emissão de fluorescência em plantas de milho adaptadas no escuro. Eles verificaram que a fluorescência inicial ( $F_0$ ) não apresentou diferenças entre as plantas controle bem supridas com N e aquelas deficientes em N.

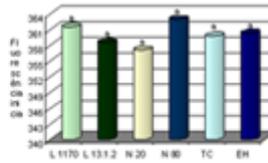


Figura 1 - Fluorescência inicial da clorofila de diferentes linhagens de milho submetidas à diferentes doses de nitrogênio e regimes hídricos.

A máxima emissão de fluorescência da clorofila ( $F_m$ ) foi afetada pelas doses de N (Figura 2A), sendo que as plantas bem nutridas (80 mg N dm<sup>-3</sup> solo) apresentaram valores de  $F_m$  superiores aos das plantas deficientes em N (20 mg N dm<sup>-3</sup> solo). Por outro lado, os diferentes regimes hídricos não influenciaram os valores da  $F_m$  das linhagens (Figura 2B).

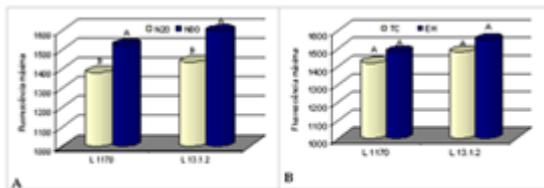


Figura 2 - Fluorescência máxima da clorofila de diferentes linhagens de milho submetidas à diferentes doses de nitrogênio (A) e regimes hídricos (B).

As respostas observadas para a  $F_v$  foram muito semelhantes às obtidas para a  $F_m$ . As linhagens responderam a aplicação de nitrogênio (Figura 3A), porém não houve respostas aos regimes hídricos (Figura 3B). Os efeitos da máxima dose de N (80 mg N dm<sup>-3</sup> solo) nos valores da  $F_m$  e da  $F_v$  demonstram a importância de seu adequado suprimento para as plantas. Selmani e Wasson (1992) relataram que maior ganho genético poderia ser atingido se a seleção para  $F_v$  fosse feita sob condições de déficit hídrico. Assim, diferenças entre genótipos para esta característica poderiam ser mais facilmente identificadas se a seleção fosse realizada em condições de seca.

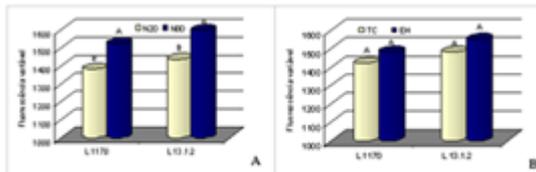


Figura 3 - Fluorescência variável da clorofila de diferentes linhagens de milho submetidas à diferentes doses de nitrogênio (A) e regimes hídricos (B).

Bolhár-NordenKampf e Öquist (1993) afirmam que plantas que não estão sob estresse apresentam relação  $F_v/F_m$  entre 0,85 e 0,75, para os quais valores menores que 0,75 seriam indicativos de condições inibitórias do FSII. Neste estudo adotou-ser o valor 0,75 como referencial para a condição de estresse. Os efeitos das doses de N e dos regimes hídricos na eficiência quântica do Fotossistema II (relação  $F_v/F_m$ ) das linhagens de milho foram semelhantes. Ao se comparar os efeitos das doses de N em cada linhagem (**Figura 4A**), nota-se que as plantas da L1170 que receberam a maior dose de N (N80) apresentaram valores da relação  $F_v/F_m$  acima do nível crítico (0,764), já aquelas deficientes em N apresentaram valores abaixo do crítico (0,739). Por outro lado, as plantas da L13.1.2, mesmo quando suprida com pouco N (N20), apresentaram valor para a relação  $F_v/F_m$  acima do nível crítico (0,752). Assim, plantas tolerantes á seca como a L13.1.2 apresentam um eficiente mecanismo de controle dos danos causados pela foto-oxidação, o qual possivelmente está relacionado à manutenção da fotossíntese por meio de uma menor degradação das clorofilas, provavelmente mediado pela maior eficiência na absorção e utilização do nitrogênio. Lu e Zhang (2000) estudando o efeito da carência de N na máxima eficiência fotoquímica do FSII ( $F_v/F_m$ ) notaram que o decréscimo na relação  $F_v/F_m$  em plantas deficientes em N era devido principalmente à redução na Fluorescência máxima. Observa-se na **Figura 4B**, que os efeitos dos regimes hídricos nos valores da relação  $F_v/F_m$  das linhagens foram semelhantes. Entretanto, as plantas da linhagem L1170 quando submetidas ao adequado suprimento de água (TC) apresentaram valor para a relação  $F_v/F_m$  abaixo do considerado crítico (0,745), enquanto que as plantas submetidas à deficiência hídrica (EH) apresentaram valor acima do crítico (0,758). Embora estes resultados pareçam à primeira vista não serem os normalmente esperados, Bänziger et al. (2000) afirmam que quando o nitrogênio se torna escasso, a planta o transloca dos tecidos mais velhos, (folhas e colmos) para os tecidos mais novos, folhas em desenvolvimento e grãos, o que resulta na senescência dos tecidos mais velhos. Durães et al. (2002) utilizando a técnica da fluorescência da clorofila como critério de seleção para tolerância a doenças, alumínio, déficit hídrico e eficiência no uso do N verificaram que limitações como déficit hídrico, deficiência de N e toxidez de alumínio induziram danos ao fotossistema II e essas alterações permitiram distinguir entre genótipos tolerantes e sensíveis para cada um dos estresses mencionados.

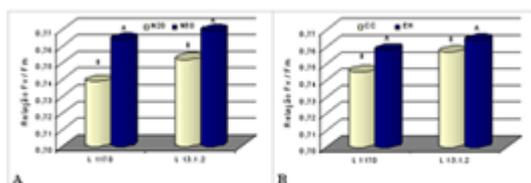


Figura 4 - Eficiência quântica do Fotossistema II (relação  $F_v/F_m$ ) de diferentes linhagens de milho submetidas à diferentes doses de Nitrogênio (A) e regimes hídricos (B).

## CONCLUSÕES

A adição de nitrogênio incrementa os valores da fluorescência máxima e da variável, e consequentemente da relação  $F_v/F_m$  das linhagens de milho. Na presença de estresse hídrico, as linhagens apresentam maiores valores para a relação  $F_v/F_m$ . A linhagem L13.1.2 apresenta melhores valores para os parâmetros da fluorescência da clorofila que a L1170, demonstrando estar mais adaptada à deficiência hídrica.

## LITERATURA CITADA

- BÄNZIGER, M.; EDEMEADES, G. O.; BECK, D.; BELLON, M. **Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: From theory to practice.** Mexico: Cimmyt. 2000. 68p.
- BOLHÁR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHÁR \_NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, LONG, R. C.; S. P. (eds.). **Photosynthesis and production in changing environment: a field and laboratory manual.** London: Chapman e Hall, 1993. p. 193-206.
- BRUCE, W. B.; EDMEADES, G. O.; BARKER, T. C. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. **Journal Of Experimental Botany.** v.53, n.366, p.13-25, 2002.
- DURÃES, F. O. M.; GAMA, E. E. G.; MAGALÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C.; LUCHIARI JUNIOR, A; SHANAHAN, J. F. The usefulness of chlorophyll fluorescence in screening for disease, water, aluminum, and N use efficiency in maize. In: 7TH EASTERN AND SOUTHERN AFRICA REGIONAL MAIZE CONFERENCE AND SYMPOSIUM ON LOW-NITROGEN AND DROUGHT TOLERANCE IN MAIZE. 7., 2002, Nairobi, Kenya. Abstracts and Proceedings... CIMMYT/KARI, 2002. p.11-15.
- LU, C.; ZHANG, J. Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. **Plant Science.** v.151. p. 135-143, 2000.
- SELMANI, A; WASSOM, C. E. 1992. Daytime chlorophyll fluorescence measurement in field grown maize and its genetic variability under well-watered and water-stressed conditions. **Field Crops Research.** v.31, p.173-184, 1993.

