

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE LINHAGENS DE MILHO QUANTO AO RENDIMENTO E À EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA

FREDERICO O. M. DURÃES¹, PAULO CÉSAR MAGALHÃES¹, ELTO EUGENIO GOMES E GAMA¹,
ANTÔNIO CARLOS DE OLIVEIRA¹

¹ Eng. Agr., Ph.D., Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo Caixa Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG, Brasil.
<http://www.cnpms.embrapa.br>: E-mail: fduraes@cnpms.embrapa.br - Autor para correspondência.

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.4, n.3, p.355-361, 2005

RESUMO – Neste estudo, objetivou-se demonstrar, em linhagens de milho, o potencial de parâmetros de fluorescência da clorofila para caracterização fenotípica e auxílio na seleção de genótipos sob estresses de água e nitrogênio. Foram determinadas as performances de três linhagens de milho quanto ao conteúdo de clorofila, taxas médias de transporte de elétrons (ETR) e de assimilação de CO₂ (A), durante o florescimento. ETR e A apresentaram forte correlação e discriminaram dois grupos de linhagens: a) linhagem G1; b) linhagens G2 e G3. A maior capacidade fotossintética da linhagem G1 foi explicada pela sua maior eficiência de carboxilação. Resposta similar ocorreu em produção de fitomassa total aérea e de grão. O nitrogênio foi um importante fator do rendimento, que pode ser monitorado pelo conteúdo de clorofila e de parâmetros fotoquímicos de fotossíntese. As taxas ETR e A se prestaram como importantes parâmetros para avaliação de genótipos contrastantes, cultivados em condições plenas e sob estresse de água.

Palavras-chave: *Zea mays* L., florescimento, fotossíntese, fluorescência da clorofila, estresse ambiental

MAIZE INBRED LINES PHENOTYPIC CHARACTERIZATION FOR YIELD AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY

ABSTRACT – The objective of this study was to demonstrate the potential of chlorophyll fluorescence parameters to characterize maize inbreds to photosynthesis efficiency, and to be used as tool for selection of genotypes under water and nitrogen stresses. There were measured chlorophyll content, electron transport rate (ETR) and CO₂ assimilation (A) averages, at flowering. ETR and A showed strong correlation, and were able to discriminate significantly two groups of inbred lines: a) inbred line G1; and, b) inbred lines G2 and G3. The higher photosynthetic capacity of inbred line G1 was explained by its greater carboxylation efficiency. Similar response was observed for total aerial phytomass and grain production. The results showed the nitrogen as being an important factor to maize yield, which can be monitored by chlorophyll content and photochemistry parameters of photosynthesis. ETR and (A) proved to be useful parameters to evaluate contrasting genotypes, with or without water stress.

Key words: *Zea mays* L., flowering, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, environment stress

O milho (*Zea mays* L.) é um típico organismo fotoautotrófico, que apresenta aspectos morfológicos, anatômicos e fisiológicos pertinentes à bioconversão (de energia luminosa em energia química de moléculas orgânicas). Altas produtividades têm sido proporcionadas pelo aumento da área foliar, alterações na relação fitomassa e órgãos reprodutivos e por outras alterações morfofisiológicas.

A síntese, translocação, partição e acúmulo de produtos fotoassimilados na planta são controlados geneticamente e influenciados por fatores ambientais, como: CO₂, luz, temperatura, aparato foliar, nutrientes, status hídrico, pragas e doenças etc. (Wilson *et al.*, 1973; Donald & Hamblin, 1976; Tollenaar, 1977; Setter, 1986; Durães *et al.*, 1993, 1995, 2002a).

O entendimento da natureza da alocação diferencial de matéria seca durante o ciclo da planta de milho, sobretudo os fatores e processos relacionados à partição para o grão, é de fundamental importância no direcionamento do processo de melhoramento genético e do manejo para incrementar o rendimento de grãos, porquanto as respostas de plantas cultivadas sob plenas condições ou sob estresses ambientais (bióticos e abióticos) dependem da atividade metabólica, morfologia e estágio de desenvolvimento.

Caracterizar o ambiente e identificar características primárias (componentes do rendimento de grão) e secundárias morfofisiológicas de plantas visando à obtenção, seleção e uso de genótipos responsivos a fatores ambientais subótimos e melhorias nas práticas de manejo são tarefas complexas e requerem métodos adequados. As características secundárias, como ângulo foliar, folhas verde-escuras, *stay-green*, pendão pequeno, intervalo entre florescimentos masculino e feminino etc, podem ser rapidamente mensurados, com baixo custo. Apresentam mé-

dia a alta herdabilidade e estão relacionadas com rendimento de grão e performance do genótipo sob pressão de seleção para determinado estresse ambiental, como de seca, de baixo nitrogênio, doenças etc.

A bioconversão é a base da formação do rendimento vegetal e o conhecimento dos fluxos de CO₂ tem permitido elucidar as diferentes etapas do processo fotossintético. O desenvolvimento de métodos para regulação da fotossíntese e aumento da sua eficiência na utilização da energia solar é o mais importante meio de obter altas produções. No entanto, a relação entre fotossíntese e produção é bastante complexa e, por vezes, contraditória. Isto se deve ao fato de que diversos fatores podem estar envolvidos, dentre os quais a abertura estomática e a condutância de CO₂ no interior das células do mesófilo, idade e localização das folhas, deficiência hídrica e comportamentos diferentes em plantas, tipo de via para fixação do carbono (C₃, C₄ ou intermediária) ou concentração de nitrogênio nas folhas. Fotossíntese pode ser medida diretamente pela absorção de CO₂ ou pela evolução de O₂. Embora tais medidas sejam importantes, informações sobre performance fotossintética não podem ser facilmente obtidas apenas pelas medidas de trocas gasosas. Medidas da fluorescência da clorofila têm-se apresentado como uma importante técnica em estudos fisiológicos de plantas. O rendimento da fluorescência da clorofila revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e tem-se constituído em potente ferramenta de seleção de plantas de milho tolerantes a condições adversas, principalmente sob estresse hídrico (seca ou encharcamento), estresses para baixos níveis de nitrogênio e fósforo e estresses de alumínio (Durães *et al.* 2002b, 2003). Estas estratégias ecofisiológicas fornece-

rão subsídios para os programas de melhoramento, como também contribuirão para reduzir o tempo para a obtenção de novas cultivares.

Neste trabalho, objetivou-se demonstrar o potencial de parâmetros de fluorescência da clorofila na caracterização de genótipos de milho quanto à eficiência fotossintética, e como ferramenta para a seleção de genótipos sob estresse abiótico, principalmente de água.

Material e Métodos

Plantas: Três linhagens de milho (genótipos G1, G2 e G3) foram cultivadas em casa de vegetação (temperatura: 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar: 50 ± 5 %, fotoperíodo: 12 horas luz/escuro, com oito lâmpadas de 1000 W), envasadas em 15,0 kg de substrato (solo:areia:vermiculita, 2:1:1 v/v), com adubação básica equivalente a 160-90-90 kg ha⁻¹ de NPK + micronutrientes, em três aplicações (no substrato de plantio, e nos estádios de crescimento V4 e V6). As irrigações foram plenas e realizadas manualmente, tendo como referência a diferença de pesagem diária de cinco vasos com plantas e cinco sem plantas. Durante o florescimento, três plantas por genótipo, em três repetições, foram submetidas a déficit hídrico no solo envasado, até antes masculinas e femininas.

Mensurações: Medidas realizadas na folha madura, característica dos estádios fenológicos V4, V6 ou V8, e na folha da espiga durante o florescimento, em três plantas por genótipo, em três repetições.

Área foliar e altura de planta: Por método não-destrutivo, computando-se a altura de planta e ajustamento de comprimento e largura do terço médio de limbos foliares, em cm.

Conteúdo de clorofila: Determinado de acordo com Arnon (1949) e através de leituras

(média de cinco leituras por folha) do SPAD meter (Model 502, Minolta). Para avaliar a necessidade de nitrogênio em plantas de milho, foi construído o Índice de Suficiência de Nitrogênio ($ISN = 100 * \text{média de leituras SPAD por genótipo} / \text{maior média de leituras SPAD referência}$) e, adotou-se o limite de mínimo de 95% de ISN para aplicação de N extra.

Medidas de trocas gasosas: A taxa de fotossíntese foliar (A , assimilação em $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática foram medidas usando-se um LI-6400 Portable Photosynthesis System, com os seguintes ajustes: Fluxo de quanta (Total PAR vermelho + azul, $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e 10% azul); Taxa de fluxo de CO_2 , $500 \mu\text{mol s}^{-1}$; CO_2 referência, $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$; temperatura foliar, 25 °C. Foram medidos “*in vivo*” o rendimento quântico da assimilação de CO_2 (ΦCO_2) e a taxa de transporte de elétrons pelo fotossistema II ($F\text{PSII}$).

Medidas de parâmetros de fluorescência da clorofila a : Foram medidos com o sistema LI-6400, acoplado-se uma câmara LI-6400-40 LCF. A eficiência fotoquímica do fotossistema II (ΦPSII), em folhas adequadamente adaptadas ao escuro (F_v/F_m) e em folhas irradiadas, cuja fotossíntese teve constante “*steady-state*” (DF/F_m'), foi medida em folhas não-destacadas. Os cálculos foram feitos de acordo com as equações de Genty *et al.* (1989). A taxa de transporte aparente de elétrons fotossintéticos no fotossistema II (ETR, taxa de transporte de elétrons fotossintéticos, em $\text{mmoles quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foi calculada com a equação de Schreiber *et al.* (1994). O transporte de elétrons no fotossistema II (ΦPSII) foi calculado pela inclinação inicial da curva de resposta a ETR para diferente densidade de fluxo de fóton fotossintético (PPFD).

Resultados e Discussão

Nas Figuras 1 e 2 apresentam-se as performances das três linhagens de milho (G1,

G2 e G3) quanto ao conteúdo de clorofila e taxas médias de transporte de elétrons (ETR) e de assimilação de CO₂ (A), durante o florescimento. Além das médias gerais, apresentam-se as médi-

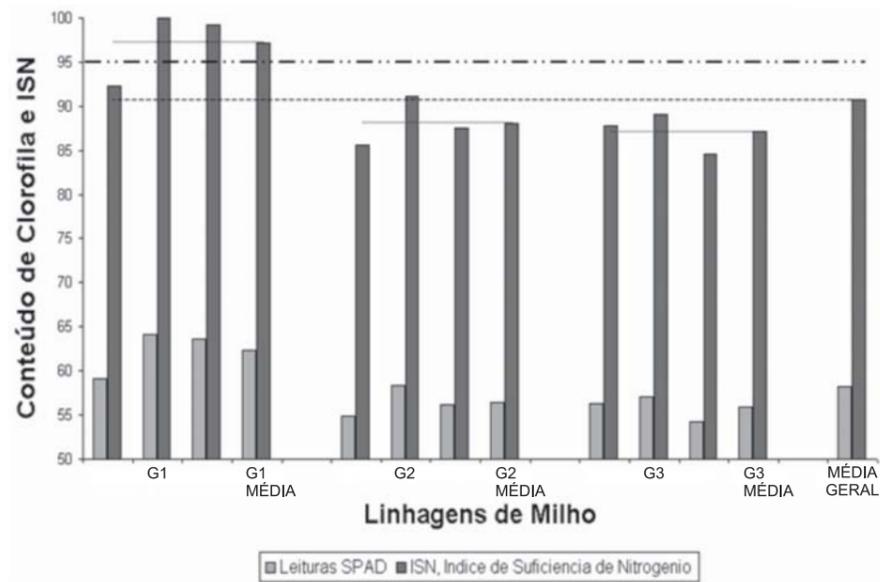


FIGURA 1. Conteúdo de clorofila para avaliar a necessidade de nitrogênio em plantas de milho. (ISN, Índice de Suficiência de Nitrogênio = 100*leitura/referência. Limite de 95% para aplicar N extra).

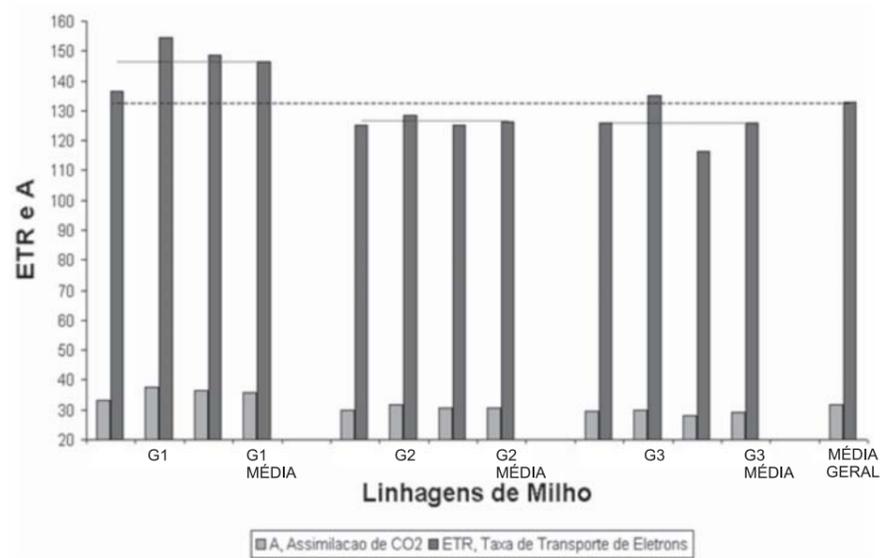


FIGURA 2. Taxas médias de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em linhagens de milho.

as de repetições por genótipo, que mostram a mesma tendência para os valores de clorofila, ETR e A. Do conteúdo de clorofila, por genótipo, construiu-se um índice de suficiência de nitrogênio (ISN), indicando a G1 significativamente acima da média e as duas outras (G2 e G3) abaixo da média. Considerando-se um critério de limite ³ 95% para aplicação de N extra, as linhagens G2 e G3 necessitam de correção de adubação nitrogenada.

Nas Figuras 2 e 3, ETR e A demonstram forte correlação e foram capazes de discriminar diferenças significativas entre dois grupos de linhagens: a) linhagem G1; b) linhagens G2 e G3.

As Figuras 4 (a, b, c) mostram a maior capacidade fotossintética da linhagem G1 em relação às linhagens G2 e G3, explicada pela maior eficiência de carboxilação da G1. Similar resposta ocorreu em produção de fitomassa total aérea e de grão.

Os resultados mostram que água, e também nitrogênio, são importantes fatores do rendimento de milho, e que podem ser monitorados pelo conteúdo de clorofila e de parâmetros fotoquímicos de fotossíntese. ETR tem forte cor-

relação com trocas gasosas fotossintéticas (A) e pode ser usado como parâmetro auxiliar na avaliação de genótipos contrastantes, cultivados em condições plenas e sob estresse de água e de nitrogênio (Durães *et al.*, 2005).

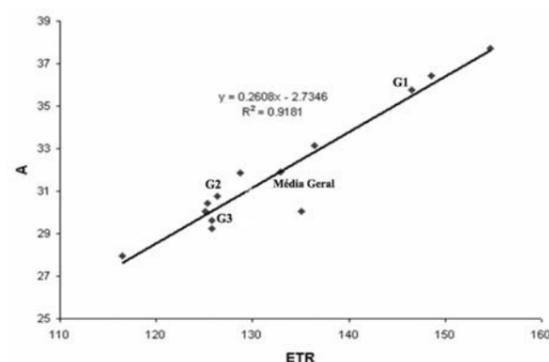


FIGURA 3. Correlação entre as taxas médias de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e de assimilação de CO_2 (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em linhagens de milho. (À letra L *a* representa a média das variáveis, individual e entre genótipos).

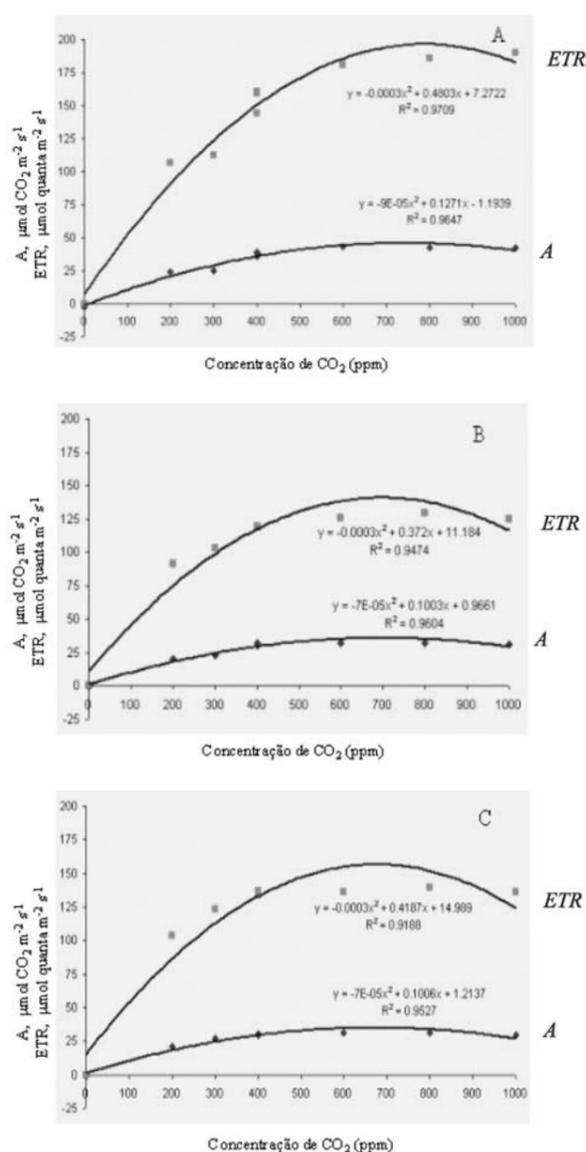


FIGURA 4. Taxas de transporte de elétrons (ETR, $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e de assimilação de CO_2 (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em linhagens G1 (A), G2 (B), e G3 (C) de milho.

A produtividade vegetal é um fenômeno complexo e o entendimento e a utilização de características secundárias, a exemplo de parâmetros de trocas gasosas, podem orientar pesquisadores e produtores na obtenção de ganhos de eficiência quanto à recomendação de cultivares e de práticas de manejo da cultura. A produtividade depende do número de grãos polinizados e desenvolvidos e da quantidade de fotoassimilados disponíveis (fotossíntese). Portanto, atenção deve ser dada para características de plantas que têm forte relação com o componente do rendimento “número de grão” e dos eventos de enchimento pós-polinização.

Conclusões

O conteúdo de clorofila constitui parâmetro importante para avaliar diferenças genotípicas e do estado nutricional de plantas de milho.

Medidas de fluorescência da clorofila podem ser usadas como parâmetros auxiliares para caracterizar a resposta fisiológica de genótipos de milho em ambientes diferenciados.

O monitoramento de respostas de plantas de milho para avaliar diferenças genotípicas e o aspecto nutricional serve à pesquisa para a obtenção de novas cultivares e também para reorientar práticas de manejo durante o ciclo da cultura.

Literatura Citada

- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 24, p. 1-15, 1949.
- DONALD, C. M., HAMBLIN, J. The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. **Advances in Agronomy**, Madison, v. 28, p. 361-405, 1976.
- DURÃES, F. O. M.; GAMA, E. E. G.; MAGALHÃES, P. C.; GOMIDE, R. L.; ALBUQUERQUE, P. E. P. Traits and techniques for maize phenotyping under environment stresses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. CD-ROM
- DURÃES, F. O. M.; RUSSELL, W. K.; SHANAHAN, J. F.; MAGALHÃES, P. C. Assessing the contribution of chlorophyll fluorescence parameters for studying environmental stress tolerance in maize. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT BREEDING, Mexico, 2003. **Book of abstracts**. México: CIMMYT, 2003. p. 38.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; OLIVEIRA, A. C. de. Índice de colheita genético e as possibilidades da genética fisiológica para melhoramento do rendimento de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 33-40, 2002a.
- DURÃES, F. O. M.; GAMA, E. E. G.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C.; LUCHIARI JR., A.; SHANAHAN, J. F. The usefulness of chlorophyll fluorescence in screening for water, N use efficiency, Al toxicity, and disease in maize. In: FRIESEN, D. K.; PALMER, A. F. E. (Ed.). **Integrated approaches to higher maize productivity in the new Millennium: proceedings of the 7th Eastern and Southern Africa Regional Maize Conference**, Nairobi, Kenya, 2002. Nairobi: KARI: CIMMYT, 2004. p. 356-360.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; OLIVEIRA, A. C.; FANCELLI, A. L.; COSTA, J. D. Partição de fitomassa e limitações do rendimento

- to de milho (*Zea mays* L.) relacionadas com a fonte-dreno. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Carlos, v. 5, n. 1, p. 90-91. Edição de Resumos do IV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Fortaleza, CE, 1993.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; COSTA, J. D.; FANCELLI, A. L. Fatores ecofisiológicos que afetam o comportamento de milho em semeadura tardia (safrinha) no Brasil Central. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 3, p. 491-501, set./dez. 1995.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J. -M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 990, p. 87-92, 1989.
- SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. In: SCHULZE, E.- D.; CALDWELL, M. M. (Ed.). **Ecophysiology of Photosynthesis**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p. 49-70.
- SETTER, T. L. Partitioning of carbon among competing sinks. In: SHANNON, J. C.; KNIEVEL, D. P., BOYER, C. D. (Ed.). **Regulation of carbon and nitrogen reduction and utilization in maize**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1986. p. 261-271.
- TOLLENAAR, M. Sink-source relationships during reproductive development in maize. A review. **Maydica**, Bergamo, v. 22, p. 49-75, 1977.
- WILSON, J. H.; CLOWES, M. St. J.; ALLISON, J. C. S. Growth and yield of maize at different altitudes in Rhodesia. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 73, n. 1, p. 77-84, 1973.