

Avaliação de Características Ecofisiológicas em Linhagens de Milho Submetidas ao Estresse Hídrico

Paulo César Magalhães¹, Fernando R. de O. Cantão², Marcelo O. Soares³, Michel C. da Rocha³ e Thiago C. de Souza⁴

¹Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Caixa postal 151, 35701-970 – Sete Lagoas, MG. E-mail: pcesar@cnpmc.embrapa.br

²Bolsista University of Illinois, E-mail: fcantao@uiuc.edu

³Mestrandos em genética, UFV – Viçosa, MG. E-mails: marcelosoares2001@gmail.com; michelcastelani@yahoo.com.br

⁴Mestrando UFLA, Lavras – MG. Email: thiagonepre@hotmail.com

Palavras-chave: déficit hídrico, *Zea mays* L., fotossíntese, clorofila

A deficiência hídrica é considerada a maior causa de redução na produtividade de plantas cultivadas em regiões de clima tropical (Pimentel, 1999). 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, pela absorção e utilização de nutrientes, e pelo status hídrico. (Durães *et al.*, 2002, 2005). De acordo com Pimentel (1999), 95% do cultivo do milho em regiões tropicais é realizado em áreas sujeitas ao déficit hídrico, podendo reduzir a produção de 10% a 50% e em 80% da área cultivada (Bolaños & Edmeades, 1995). No entanto, como existe uma variabilidade na tolerância à seca entre e dentro de espécies, torna-se de grande importância a identificação e a caracterização de genótipos, bem como os estudos sobre a interação e a sobreposição de mecanismos, tanto do ponto de vista fisiológico quanto bioquímico e molecular (Durães *et al.* 2002).

A fotossíntese é a base da produção 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 melhor mecanismo para se aumentar a produção de plantas cultivadas. Medidas da fluorescência da clorofila têm auxiliado o processo, destacando-se como uma importante técnica em estudos fisiológicos de plantas. A eficiência do fotossistema II, 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 abióticos como baixos níveis de nitrogênio, fósforo, estresses de alumínio e seca (Durães *et al.* 2002b, 2003, 2005; Cantão, 2007).

Nesse sentido, a elucidação dos possíveis mecanismos responsáveis pelo comportamento diferencial de genótipos sob condição de estresse facilitará o processo de geração de novos materiais genéticos, além de contribuir para o desenvolvimento de técnicas de seleção que podem reduzir o tempo e o trabalho para avaliação de fontes genéticas de tolerância ao estresse hídrico. O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência fotossintética de linhagens de milho contrastantes para tolerância à seca em condição de déficit de água.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Milho e Sorgo situada no município de Sete Lagoas, MG. Foram avaliadas três linhagens de milho com *background* genético e origens distintas, sendo duas tolerantes (L 31.2.1.2 e L 29.1.1) e uma sensível (L 2.3.2.1) à seca, oriundas do Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação com duas plantas por vaso de 20 L com solo tipo Latossolo Vermelho Distrófico Típico. As adubações de base e cobertura foram realizadas de acordo com a recomendação para a cultura no estado de Minas Gerais (Ribeiro et al., 1998). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições.

O teor de água no solo foi monitorado diariamente nos períodos da manhã e tarde (9:00 e 15:00 horas), com auxílio de um sensor de umidade modelo *GBReader*, N 1535 (Measurement Engineering Austrália) instalado no centro dos vasos a uma profundidade de 20 cm. A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor e a água reposta até a capacidade de campo (CC). Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita em função da curva de retenção de água do solo.

No pré-florescimento o teor de água para os níveis sem estresse (SE) e com estresse (CE) foram definidos conforme descrito a seguir: sem estresse reposição diária de água até o solo atingir a umidade na CC, que correspondia a 40% do volume (ou 39,42% peso, densidade do solo no vaso = $1,01 \text{ g.cm}^{-3}$), nos vasos com estresse a reposição hídrica foi realizada diariamente aplicando-se 50% da água total disponível (100% de reposição corresponderia à CC), sendo esse estresse mantido por sete dias.

As avaliações foram realizadas cinco dias após a imposição do estresse hídrico no momento em que as plantas encontravam-se no florescimento pleno. Foram avaliadas as seguintes características: taxa de fotossíntese foliar (*A*); condutância estomática (*C*) e transpiração foliar (*T*), medidos através do aparelho LI 6400 Portable Photosynthesis System LICOR, Nebraska, USA. Em folhas adaptadas ao escuro foi determinando a produção quântica máxima relação *Fv/Fm*; produção quântica basal dos processos fotoquímicos no fotossistema II relação *Fo/Fm* e eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II relação *Fv/Fo*, avaliados por meio do aparelho Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments King's Lynn, UK e o teor de clorofila com leituras por meio do SPAD "Soil plant analysis development", Minolta SPAD 502 Osaka, Japan. Todas as leituras foram realizadas no período da manhã entre as 8:00 horas e 10:00 horas, sempre na folha bandeira.

Os dados foram submetidos a análise de variância, e o contraste entre as médias dos tratamentos calculados pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Resultados e Discussão

Os resultados relativos a fluorescência da clorofila (Tabela 1) revelaram a superioridade da linhagem L 29.1.1, na condição de estresse hídrico, sobretudo para as características de *Fv/Fm* e *Fv/F0*. O déficit hídrico como um fator de estresse causa ação inibitória na fase bioquímica da fotossíntese. Sabendo-se que o fotossistema II é responsável pelo fornecimento de energia para a fotossíntese, a avaliação de sua eficiência pode tornar-se um indicador da tolerância em plantas sob estresse de seca. Portanto a fluorescência da clorofila pode ser utilizada na avaliação de danos causados pelo estresse hídrico. O principal parâmetro utilizado para avaliação destes danos

no sistema fotossintético é a razão Fv/Fm, indicando a eficiência fotoquímica do fotossistema II, sendo Fv a fluorescência variável e Fm a fluorescência máxima. Embora a razão Fv/Fm normalmente decresça em plantas submetidas a algum tipo de estresse (Krause & Weis, 1991), alguns autores relatam que não detectaram reduções na eficiência fotoquímica do fotossistema II em plantas sob déficit hídrico (Epron & Dreyer, 1993). Na presente pesquisa, sob déficit hídrico, houve decréscimo da relação Fv/Fm e Fv/F0 nas linhagens L 2.3.2.1 (susceptível) e L 31.2.1.2 (tolerante). Por outro lado essas linhagens se mostraram superiores a L 29.1.1 na relação F0/Fm. Na média dos ambientes plantas sem estresse foram sempre superiores as plantas estressadas (Tabela 1).

Para a avaliação da clorofila, através do SPAD, não foi detectada diferenças estatísticas entre linhagens com e sem estresse, no entanto a media dos ambientes revelou superioridade do ambiente sem estresse (Tabela 2). O teor de clorofila é considerado uma característica secundária e funciona como ferramenta para auxiliar na avaliação nutricional de nitrogênio em trabalhos visando o aumento da eficiência e uso de N, uma vez que, existe uma elevada correlação positiva entre N e os teores de clorofilas, desde que, 50 a 70 % do N total das folhas integra enzimas que estão associadas aos cloroplastos (Durães et al., 2005).

Tabela 1 – Produção quântica máxima (Fv/Fm), produção quântica basal dos processos fotoquímicos (F0/Fm), eficiência máxima do processo fotoquímico no fotossistema II (Fv/F0), em plantas de milho sem (SE) e com (CE) estresse hídrico. Sete Lagoas, MG. 2008.

Genótipos	Características ecofisiológicas					
	Fv/Fm		F0/Fm		Fv/F0	
	SE	CE	SE	CE	SE	CE
L 2.3.2.1	0,682 a	0,546 a	0,314 a	0,453 b	2,203 a	1,223 a
L 29.1.1	0,692 a	0,634 b	0,307 a	0,359 a	2,346 a	1,783 b
L 31.2.1.2	0,679 a	0, 536 a	0,317 a	0,470 b	2,154 a	1,145 a
Média ambientes	0,684 B	0,572 A	0,313 A	0,427 B	2,234 B	1,383 A
CV (%)	10,40		16,93		19,81	
Média geral	0,628		0,37		1,8	

Médias seguidas pela letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A taxa de fotossíntese líquida nas linhagens com estresse foram semelhantes estatisticamente falando, enquanto que nas plantas sem estresse houve predominância da linhagem L 29.1.1 sobre as demais. Na média dos ambientes predominou o ambiente sem estresse (Tabela 2).

Tabela 2 – Teor de clorofila através do SPAD e taxa de fotossíntese foliar A, assimilação em $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e, em plantas de milho sem (SE) e com (CE) estresse hídrico. Sete Lagoas, MG. 2008.

Características ecofisiológicas				
Genótipos	Clorofila - SPAD		A ($\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
	SE	CE	SE	CE
L 2.3.2.1	39,93 a	32,41 a	32,26 a	10,07 a
L 29.1.1	40,30 a	35,11 a	41,18 b	11,59 a
L 31.2.1.2	46,85 a	38,45 a	38,58 a	9,18 a
Média ambientes	42,36 B	35,32 A	37,34 B	10,28 A
CV (%)	12,26		20,97	
Média geral	39,46		23,81	

Médias seguidas pela letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Condutância estomática (C em $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e transpiração (T em $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de milho sem (SE) e com (CE) estresse hídrico. Sete Lagoas, MG. 2008.

Características ecofisiológicas				
Genótipos	C ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		T ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
	SE	CE	SE	CE
L 2.3.2.1	0,210 a	0,049 a	5,496 a	1,299 a
L 29.1.1	0,268 a	0,038 a	9,208 b	1,306 a
L 31.2.1.2	0,248 a	0,019 a	9,325 b	0,938 a
Média ambientes	0,242 B	0,035 A	8,009 B	1,181 A
CV (%)	37,26		31,66	
Média geral	0,139		4,59	

Médias seguidas pela letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para a condutância estomática não foi possível detectar diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, embora o ambiente sem estresse na média tenha superado o estressado (Tabela 3). A transpiração no ambiente estressado não resultou em diferenças entre as linhagens, enquanto que nas plantas sem estresse a L 2.3.2.1 foi inferior em relação as demais. Na média dos ambientes as plantas sem estresse voltaram a serem superiores as estressadas (Tabela

3). Nas condições de baixa disponibilidade de água a redução da condutância estomática constitui uma das primeiras estratégias usadas pelas plantas para diminuir as taxas de transpiração e manter a turgescência (Eckstein e Robinson, 1996). Enquanto que a perda de vapor de água se torna lenta devido ao processo de fechamento estomático, ele também reduz a absorção de CO₂ e consequentemente a fotossíntese (Souza et al. 2001).

Literatura Citada

- BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. Maize breeding for drought tolerance. **In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL STRESS**, 1992, Belo Horizonte. Maize in perspective: proceedings. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS/Ciudad del México: CIMMYT/UNDP, 1995. p.397-431.
- CANTÃO, F. R. O. **Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio**. 2007. 98p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.
- ECKSTEIN K, ROBINSON J. C. Physiological responses of banana (Musa AAA; Cavendis sub group) in the subtropics. VI. Seasonal responses of leaf gas exchange to short-term water stress. **J. Hort. Sci.** 71: 679-692. 1996.
- 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, 2002.
- 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.; MARRIEL, I.E.; GAMAS, E.E.G. E ; CASELA, C.R.; OLIVEIRA, A.C. DE; CANTÃO. F.R. (2004) Caracterização de genótipos para uso e eficiência de nitrogênio em milho e influência da adubação nitrogenada sobre a incidência e severidade da mancha foliar de *Phaeosphaeria maydis*. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 53.
- 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.; MAGALHÃES, P. C.; GAMA, E. E. G.; OLIVEIRA, A. C. Caracterização fenotípica de linhagens de milho quanto ao rendimento e à eficiência fotossintética. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, n.3, p.355-361, 2005.
- EPRON, D.; DREYER, E. Photosynthesis of oak leaves under water stress: maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-iniform CO₂ assimilation. **Tree Physiology**, Victoria, v. 13, n. 2, p. 107-117, Sept. 1993.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 313-349, 1991.
- PIMENTEL, C. Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.34, n.11, p.2021-2027, nov. 1999.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V.; V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**: 5a. aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.
- SOUZA, C. R.; SOARES, A. M.; REGINA, M. A. Trocas gasosas de mudas de videiras obtidas por dois porta-enxertos, submetidas à deficiência hídrica. **Pesq. Agropec. Bras.** 36: 1221-1230.