

Morfofisiologia de milho sob alagamento intermitente do solo em sucessivos ciclos de seleção

Thiago C. Souza¹, Paulo C. Magalhães², Leandro de O. Lino³, Fabrício J. Pereira⁴, Evaristo de M. Castro⁵ e Sidney N. Parentoni⁶

¹Universidade Federal de Lavras - Setor de Fisiologia Vegetal, caixa postal 37, CEP 37200-000 thiagonepre@hotmail.com, ²pcesar@cnpms.embrapa.br, ³leanlino@yahoo.com.br, ⁴fjprock@hotmail.com, ⁵emcastro@ufla.com, ⁶sidney@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: porosidade radicular, teor relativo de clorofila, área foliar, hipoxia

Introdução

Preocupados com os danos que o alagamento causa à cultura do milho e procurando inseri-la em áreas ociosas logo após o plantio do arroz nas várzeas, a Embrapa Milho e Sorgo desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho denominada Saracura-BRS-4154, com capacidade de sobreviver, produzir e suportar períodos temporários de alagamento do solo (Ferreira et al., 2007)

Folhas de plantas com estresse anaeróbico radicular possuem limitação nas trocas gasosas pelo fechamento estomático. A baixa disponibilidade de oxigênio pode afetar a condutância estomática (gs), diminuindo a perda de água pela transpiração (T) e a taxa fotossintética (Pn) (Yordanova et al., 2007). As plantas sensíveis ao alagamento apresentam diminuição na fotossíntese devido a fatores não-estomáticos (bioquímicos) (Yordanova et al., 2005) e estomáticos (Liao and Lin, 2001). Já as plantas tolerantes podem conseguir manter sua taxa fotossintética além de maior eficiência no uso da água, mesmo em ambientes hipóxicos (Islam et al., 2008).

Silva et al. (2007), utilizando cruzamento de linhagens, observaram a herança da tolerância ao encharcamento do solo em milho, avaliando características como peso seco da parte aérea e da raiz. O comportamento das gerações demonstrou a presença de heterose. Estudos semelhantes mostraram o desempenho de duas variedades venezuelanas frente ao excesso de água. Estas, comparadas com testemunhas, apresentaram maior desempenho quanto às características área foliar, massa seca, crescimento radicular, presença de aerênquimas e raízes adventícias (Lizaso et al., 2001).

Em estudos com plântulas do milho 'Saracura', Dantas et al. (2001) observaram a formação de grandes espaços intercelulares, formando aerênquima lisígenos, tanto em raízes como em coleótilos, também foi notável a inibição de aerênquima nas plântulas e esta inibição parece estar relacionada com um possível efeito de proteção da parede celular contra as enzimas de hidrólise de parede, causada pela presença de cátions de cálcio junto à parede celular (Pinto 2004).

A porosidade das raízes é outra característica que tem merecido atenção da pesquisa. Magalhães et al., 2008 avaliaram os últimos ciclos de seleção do Saracura, sendo observado aumento ao longo deles, o que evidencia a importância dessa característica em cultivares de milhos tolerantes ao encharcamento.

Parâmetros anatômicos também foram analisados no ciclo 14 do milho 'Saracura'. Ferrer et al. (2004) observaram, em raízes de plantas alagadas, diminuição da epiderme, alterações no córtex como a presença de aerênquimas, exoderme e endoderme pouco lignificada (fina), em relação a plantas sob o regime de irrigação normal. Mesmas alterações foram observadas por Pereira et al. (2008), em experimento conduzido em casa de vegetação.



Ao longo dos ciclos de seleção, as raízes apresentaram aumento da eficiência da condução do xilema e floema, grandes espaços intercelulares e diminuição da espessura do córtex e da exoderme

A folha também passa por uma grande plasticidade fenotípica em estresse por hipoxia, podendo ocorrer diminuição da cutícula e do mesofilo, produzindo menor resistência à difusão de gases e mudanças no diâmetro dos vasos condutores (aumento do floema e diminuição do xilema), levando à maior absorção e fluxo de água e minerais e melhor distribuição de fotoassimilados, além do aumento do diâmetro e do número de células bulbiformes (no caso do milho) e diminuição da área foliar (Pereira, 2008).

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de analisar modificações morfológicas de plantas de milho dos diferentes ciclos de seleção recorrentes da variedade Saracura-BRS 4154.

Material e Métodos

O material genético utilizado constituiu-se dos ciclos de seleção do milho cv. Saracura-BRS 4154 intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade BR 107 como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento (Magalhães et al., 2007). O ensaio foi conduzido no mês de janeiro de 2009, em regime de casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, estado de Minas Gerais, (altitude de 732 m, latitude Sul 19°28', longitude oeste 44°15'). As médias de temperaturas, máxima e mínima, registradas durante o período de avaliação foram de 28,2°C e 24,8°C, respectivamente.

A umidade relativa do ar oscilou entre 52% a 78%. Utilizaram-se duas plantas por vaso de 20 litros, preenchidos previamente com solo de várzea classificado como Neossolo Flúvico TB, Eutrófico Típico, textura argilosa, fase relevo plano campos de várzea (Santos et al., 2006). A adubação foi feita de acordo com a recomendação da análise química do solo, aplicando-se no momento do plantio a fórmula 5-20-20+Zn com doses de 23 g. 20 Kg⁻¹ de solo. As plantas foram irrigadas regularmente mantendo uma ótima umidade do solo até a imposição do estresse. Todos os tratamentos fitossanitários necessários a cultura foram aplicados.

O alagamento foi iniciado no estágio de seis folhas (quando o ponto de crescimento das plantas já se encontra acima da superfície do solo) (Magalhães et al., 2007), até a maturidade fisiológica, recebendo uma lâmina de 5 cm de água, três vezes por semana. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial com 11 tratamentos (ciclos de seleção alternados + testemunha) e duas condições (irrigado diariamente e alagado) e 4 repetições.

As características morfológicas foram avaliadas no estágio de florescimento. A área foliar fotossinteticamente ativa foi estimada através de um analisador de área foliar (Modelo LI-3100, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). O teor relativo de clorofila *in vivo* foi determinado na folha da espiga utilizando um clorofilmetro (Modelo SPAD 502, Minolta, Japan). Foram realizadas dez leituras por planta e obtida à média e os dados expressos em unidades de spad. A porosidade radicular foi medida através do método do picnômetro (Jensen et al., 1969). Esse método quantifica porosidade como a porcentagem de volume de raiz ocupado pelo ar (porcentagem volume/volume).

Os dados de área foliar, porosidade radicular e teor relativo de clorofila foram sujeitos a análise de variância (ANAVA) e as médias foram comparadas utilizando o teste Skott-Knott no programa SISVAR versão 4.3.



Resultados e Discussão

Foram observadas diferenças entre as condições alagada e não alagada para a área foliar dos ciclos de seleção e da testemunha, com exceção dos tratamentos 7 e 18 (Tabela 1). A irrigação normal apresentou maiores médias em relação as plantas alagadas. Entre os ciclos de seleção, nas duas condições não houve diferenças significativas. (Tabela 1).

A condição alagada afetou portanto a área foliar tanto na testemunha (BR 107) quanto ao longo dos ciclos de seleção. Zaidi et al., (2003) também observaram severas reduções na área foliar em genótipos de milho indianos sob alagamento. Entre os ciclos de seleção o alagamento intermitente não resultou em diferenças significativas na área foliar. Diferentemente na literatura genótipos de milho tolerantes tiveram uma menor redução na área foliar do que genótipos sensíveis (Zaidi et al., 2004).

Tabela 1 Médias de área foliar, porosidade radicular e teor relativo de clorofila ao longo dos ciclos de seleção (alternados) do milho “Saracura” e da variedade, BR 107, avaliados em duas condições: alagado (A) e não alagado (NA).

Cycles	Área foliar (cm ²)		Porosidade radicular (%)		Clorofila (spad unit)	
	NA	A	NA	A	NA	A
BR107	6490,00 aA*	2146,00 aB	5,35aA	5,72 bA	41,01 aA	21,64 cB
C1	6980,75 aA	3802,00 aB	2,53aA	5,33 bA	38,74 aA	24,80 cB
C3	6754,33 aA	3245,50 aB	2,77aA	5,38 bA	36,84 aA	27,05 cB
C5	6996,50 aA	3012,75 aB	3,97aA	5,60 bA	41,00 aA	29,40 cB
C7	5662,75 aA	4470,25 aA	4,90aA	4,62 bA	43,21 aA	25,87 cB
C9	7703,60 aA	2994,25 aB	5,16aA	6,57 bA	40,85 aA	28,07 cB
C11	6192,75 aA	4088,00 aB	4,07aB	10,18 aA	42,30 aA	26,94 cB
C13	5814,25 aA	3307,75 aB	3,62aB	9,79 aA	41,60 aA	30,91 cB
C15	6055,50 aA	3147,75 aB	3,25aB	10,97 aA	40,12 aA	31,89 cB
C17	7070,75 aA	4228,75 aB	4,30aB	10,50 aA	44,54 aA	43,62 aA
C18	6502,00 aA	4539,25 aA	4,13aB	13,43 aA	41,47 aA	36,42 bB

* Médias seguidas por mesma letra minúscula nas colunas para os genótipos e letras maiúscula nas linhas para as condições, não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$).

Os valores de porosidade radicular foram estatisticamente diferentes a partir do ciclo 11 entre as condições de estresse, sendo que no alagamento os valores foram maiores do que na irrigação normal. (Tabela 1). Entre os ciclos, na condição não alagada não houve diferenças estatísticas. Para a condição alagada, entre os ciclos, os valores de porosidade radicular aumentaram também a partir do ciclo 11 (Tabela 1). A variedade BR 107 apresentou valores estatisticamente semelhantes aos ciclos 1, 3, 5, 7, e 9. O ciclo 18 apresentou maior média (13,43), mas foi estatisticamente semelhante aos ciclos 11, 13, 15 e 17. O ciclo 18 resultou em 57,41% e 60,31% mais porosidade radicular do que a testemunha (BR 107) e o ciclo 1 respectivamente.

Quanto ao teor relativo de clorofila, houve diferenças estatísticas entre as condições alagada e não alagada, com exceção do ciclo 17 (Tabela 1). Não houve diferenças ao longo dos ciclos de seleção sob irrigação normal. Já para o alagamento entre os ciclos, o C17 apresentou maior valor seguido do ciclo 18 com diferenças estatísticas entre eles. A variedade BR 107 juntamente com os ciclos 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 foram estatisticamente semelhantes (Tabela 1). A variedade BR 107 e o C1 apresentaram cerca de 49,61% e 56,85 % do teor relativo de clorofila do ciclo 17.



Vários trabalhos com milho vêm evidenciando o aumento de porosidade radicular sob alagamento (Vodnik et al., 2009). Os últimos ciclos de seleção do milho 'Saracura' apresentaram maior porosidade radicular (C11 ao C18). Esta característica pode indicar maior quantidade de aerênquimas no córtex radicular desses genótipos. Isto pode ser confirmado, pois estudos recentes com os sucessivos ciclos de seleção do milho 'Saracura', tanto em casa de vegetação quanto em campo (Pereira et al., 2008; Souza et al., 2009), evidenciaram maiores quantidades de aerênquimas ao longo dos ciclos.

O aumento da porosidade nos últimos ciclos do milho 'Saracura', causado pela formação de aerênquima na raiz (ambiente com hipoxia) ajuda a manter o fluxo longitudinal de oxigênio da parte aérea a radicular (Colmer 2003a). Com o aumento da porosidade decresce o custo metabólico devido à diminuição da presença de células em respiração (Lynch e Ho 2005) além de poder determinar o crescimento radicular em condições de hipoxia (Lenochová et al., 2009).

O excesso de água na rizosfera não só apenas diminui a concentração interna de oxigênio na raiz, mas também pode levar a diminuição de nutrientes e o aumento de radicais livres na planta acarretando danos também nos pigmentos (Zaidi et al., 2007). Diferenças no conteúdo relativo de clorofila foram bem evidenciados quando os ciclos de seleção e a variedade BR 107 foram colocadas em condições de alagamento. Ao longo dos ciclos de seleção observou-se menor degradação de clorofila mostrando mais uma característica importante na tolerância deste genótipo frente ao estresse sob alagamento. Em concordância com os dados do presente trabalho, Zaidi et al (2007) utilizando o clorofilômetro observaram que genótipos de milho mais tolerantes tinham menor degradação de clorofila.

Conclusão

A seleção ao longo do tempo no milho 'Saracura' foi eficiente para alguns caracteres morfofisiológicos os quais favorecem a sua sobrevivência em ambientes alagados.

Literatura Citada

- BRAGINA, T.V.; PONOMAREVA, Y.V.; DROZDOVA, L.S.; GRINIEVA, G.M. Photosynthesis and dark respiration in leaves of different ages of partly flooded maize seedlings. **Russian Journal of Plant**, v.51, n.3, p.342-347, 2004.
- COLMER, T.D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, London, v.91, p.301-309, 2003a.
- COLMER, T.D. Long-distance transport of gases in plants a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.26, n.1, p.17-36, Jan. 2003b.
- DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; ALVES, J.D. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividade de celulase em plântulas de milho submetidas a hipoxia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.2, p.251-257, abr./jun. 2001.
- FERREIRA, J.L.; COELHO, C.H.M.; MAGALHÃES, P.C.; GAMA, E.E.G.; BOREM, A. Genetic variability and morphological modifications in flooding tolerance in maize, variety BRS-4154. **Crop Breed Appl Biotechnol**, v. 7, p. 314-320, 2007



FERRER, J.L.R.; CASTRO, E.M.; ALVES, J.D.; ALENCAR, M.A.; SILVA, S.; VIEIRA, C. V.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do cálcio sobre as características anatômicas de raízes de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154 submetido ao alagamento em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.172-181, 2004.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Plant responses to hypoxia- is survival a balancing act? **Trends in Plant Science**, London, v.9, n.9, p.439-456, Sept. 2004.

JESSEN, C.R.; LUXMOOR, R.J.; VAN-GUNDY, S.D.; STOLZY, H.L.; Root air space measurements by a pycnometer method. **Agronomy J.** v. 61, p. 474-475, 1969.

HUBER, H.; JACOBS, E.; VISSER, J.W. Variation in flooding-induced morphological traits in natural populations of white clover (*Trifolium repens*) and their effects on plant performance during soil flooding. **Annals of Botany**, London, v.103, p.377-386, 2009.

ISLAM, M.R.; HAMID, A.; KARIM, M.A.; HAQUE, M.M.; KHALIQ, Q.A.; AHMED, J.U.; Gas exchanges and yield responses of mungbean (*Vigna radiate* L. Wilczek) genotypes differing in flooding tolerance. **Acta Physiol Plant**, v. 30, p. 697-707, 2008.

LENOCHOVÁ, Z.; SOUKUP, A.; VOTRUBOVÁ, O. Aerenchyma formation in maize roots. **Biol Plant**, v. 53, p. 263-270, 2009.

LIAO, C.T.; LIN C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of National Science Council**, Beijing, v.25, n.3, p.148-157, Apr. 2001.

LYNCH, J.P.; HO, M.D. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.269, n1-2, p.45-56, Feb. 2005.

LIZASO, J.L.; MELENDEZ, L.M.; RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I Shoot and root growth. **Journal of Plant Nutrients**, New York, v.24, n.7, p.979-995, June 2001.

MAGALHÃES, P.C.; FERRER, J.L.R.; ALVES, J.D.; VASCONSELLOS, C.A.; CANTÃO, F.R.O. Influência do cálcio na tolerância do milho ‘saracura’ BRS- 4154 ao encharcamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.1, p.40-49, 2007.

MAGALHÃES, P.C.; SOUZA, T.C.; KARAM, D.; PARENTONI, S.N.; PEREIRA, F.J. Características de produção nos ciclos de seleção do milho Saracura BRS 4154 tolerante ao encharcamento do solo. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27., 2008. Londrina. **Anais...** Londrina, Embrapa Milho e Sorgo 2008. CD Rom.

MANO, Y.; OMORI, F.; TAKAMIZO, T.; KINDIGER, B.; MCK.BIRD, R.; LOAISIGA, C.H. Variation for root aerenchyma formation in flooded and non-flooded maize and teosinte seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.281, p.269-279, May 2006.



- MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; ROMERO, J.L.; ALVES, J.D. FRIES, D.D.; MELO, L.A.; MAGALHÃES, P.C. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.3, p.333-342, 2004.
- MILLER, C.R.; OCHOA, I.; NIELSEN K.L. BECK, D.; LYNCH, J.P. Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. **Functional Plant Biology**, v.30, n.9, p.973-985, 2003.
- PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho ‘Saracura’ em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1649-1656 dez. 2008.
- PINTO, A.C. **Genes induzidos por tratamento com cálcio em raízes do milho (*Zea mays* L.) ‘Saracura’ BRS-4154 em condições de hipoxia**. 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; OLIVEIRA, J.B.; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F.; **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, Brasil, 2006.
- SEAGO, J.L.; MARSH, L.C.; STEVENS, K.J.; SOUKUP, A.; VOTRUBOVÁ, D.E.; ENSTONE, D.E. A reexamination of the root cortex in wetland flowering plants with respect to aerenchyma, **Annals of Botany**, London, v.96, n.4, p.565-579, Aug. 2005.
- SILVA, A.C.; ROSADO, S.C.S.; CALEGARIO, N.; RODRIGUES, E.A.C.; OLIVEIRA, A.N.; VIEIRA, C.T. Variações genéticas na qualidade do sistema radicular de mudas de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.4, p.609-617, July/Aug. 2007.
- SOUZA, T.C.; CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PARENTONI, S.N.; MAGALHÃES, P.C. Morpho-anatomical characterization of root in recurrent selection cycles for flood tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil Environ**, v. 55, p. 504-510, 2009.
- STOYANOVA, D.; TCHAKALOVA, E.; YORDANOV, L. Influence of different soil moisture on anatomy of maize leaves and ultrastructure of chloroplasts. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, v.28, n.1-2, p.11-20, 2002.
- TOURNAIRE-ROUX, C.; SUFKA, M.; JAVOT, H.; GOUT, E.; GERBEAU, P.; LUU, D.T.; BLIGNY, R.; MAUREL, C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. **Nature**, v.425, p.393-397, 2003.
- VASELLATI, V.; OESTERHELD, M.; MEDAN, D.; LORETI, J. Effects of flooding and drought on the Anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, London, v.88, n.3, p.355-360, Apr. 2001



VODNIK, D.; STRAJNAR, P.; JEMC, S.; MACEK, I. Respiratory potential of maize (*Zea mays* L.) roots exposed to hypoxia. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.65, n.1, p.107-110, Jan. 2009.

YORDANOVA, R.Y.; POPOVA, L.P.; Flooding-induced changes in photosynthesis and oxidative status in maize plants. **Acta Phisiol Plant**, v. 29, p. 535-541, 2007.

ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N. Response of maize (*Zea mays* L.) genotypes to excess soil moisture stress: morpho-physiological effects and basis of tolerance. **European Journal Agronomy**, Amsterdam, v.19, n.3, p.383-399, July 2003.

ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop stages and identification of tolerant genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.90, n.2-3, p.189-202, Dec. 2004.

ZAIDI, P.H.; MANISELVAn, P.; YADAV, P.; SINGH, A.K.; SULTANA, R.; DUREJA, P.; SINGH, R.P.; SRINIVASAN, G. Stress-adaptive changes in tropical maize (*Zea mays* L.) under excessive soil moisture estress. **Maydica**, Bergano, v.52, p.159-171, 2007.

