



Sete Lagoas, MG
Abril, 2004

Autores

Frederico O.M. Durães
Ph.D., Fisiologia Vegetal
Embrapa Milho e Sorgo.
Cx. Postal 151
35701-970 Sete Lagoas,
MG

Manoel Xavier dos Santos
Ph.D., Fitomelhoramento
Embrapa Milho e Sorgo

Elto E. Gomes e Gama
Ph.D., Fitomelhoramento
Embrapa Milho e Sorgo

Paulo César Magalhães
Ph.D. Fisiologia Vegetal
Embrapa Milho e Sorgo

Paulo E. P. Albuquerque
Ph.D., Irrigação e
Drenagem
Embrapa Milho e Sorgo

Cláudia T. Guimarães
Ph.D. Biotecnologia Vegetal
Embrapa Milho e Sorgo



Fenotipagem Associada a Tolerância a Seca em Milho para Uso em Melhoramento, Estudos Genômicos e Seleção Assistida por Marcadores

O cultivo de milho como base alimentar humana, direta e indireta, tem importância crescente em amplas regiões do Brasil e do mundo. Colocar em disponibilidade genótipos produtivos e com características de tolerância a estresses abióticos, especialmente ao estresse hídrico de seca, é um desafio contínuo para os programas de melhoramento, pois seca é a maior fonte de instabilidade do rendimento de grãos de milho em áreas tropicais. Agrega-se a isto o fato de que a herdabilidade para a característica produção de grãos é baixa; portanto, genótipos melhor adaptados e com maior rendimento poderiam ser mais eficientes se atributos que conferem rendimento sob condições limitantes de água pudessem ser identificados e usados como critério de seleção.

Caracteres de planta que influenciam rendimento de grãos se expressam de maneira variada em diferentes anos e ambientes. Entretanto, sob condições de estresse hídrico, características secundárias podem aumentar a eficiência de seleção para tolerância e rendimento, desde que elas tenham valor adaptativo, alta herdabilidade, sejam de fácil mensuração e altamente correlacionadas com rendimento de grãos.

As respostas das plantas aos estresses de seca e também às altas temperaturas estão associadas com o seu conteúdo interno de água. Embora sejam conhecidos os efeitos desses estresses, são poucos os resultados práticos significativos.

A adaptação de plantas a ambientes adversos ou situações sob fatores ambientais subótimos envolve a adaptação a estresses múltiplos, com interações diretas e indiretas. Assim, tornam-se de grande importância a identificação e a caracterização de genótipos, bem como os estudos sobre a interação e sobreposição de mecanismos, tanto do ponto de vista fisiológico quanto bioquímico e molecular. A elucidação desses mecanismos facilitará, por certo, 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 a estresses abióticos de seca.

O presente trabalho tem por objetivos caracterizar a deficiência hídrica e descrever, sumariamente, o esforço no desenvolvimento de material genético competente para o melhoramento visando tolerância à seca em milho. Associam-se os conhecimentos quanto às estratégias de melhoramento na definição de grau genético adequado, quanto à identificação e descrição de características morfofisiológicas secundárias e do rendimento de grão como parâmetros úteis à

fenotipagem e quanto ao potencial de uso de técnicas moleculares como ferramentas de auxílio ao melhoramento.

Em regiões tropicais, sobretudo, este enfoque de *P&DI-Pesquisa, Desenvolvimento e Informação* - se presta ao melhoramento de plantas, bem como contribui diretamente à segurança alimentar ou sustentabilidade ambiental.

1. O Problema

Três tipos de tolerância a seca e seus possíveis mecanismos foram identificados (Turner, 1981): a) escape à seca ou a habilidade de as espécies cultivadas ou cultivares completarem seu ciclo de vida antes de desenvolverem um sério déficit hídrico na planta (mecanismos: precocidade e recuperação); b) tolerância a seca em alto status hídrico na planta, ou seja, a habilidade de as espécies cultivadas ou cultivares tolerarem prolongados períodos secos, enquanto mantêm um alto status hídrico na planta (mecanismos: manutenção de absorção de água e redução da perda de água); c) tolerância a seca em baixo status hídrico na planta, ou seja, a habilidade de as espécies cultivadas ou cultivares tolerarem prolongados períodos secos e baixos conteúdos de água no tecido (mecanismos: manutenção do turgor e tolerância à desidratação ou dissecação). Adicionalmente, integrados mecanismos (partição de assimilados e remobilização) e fatores relacionados à seca, tais como, tolerância ao calor, baixa fertilidade do solo, tolerância a salinidade, doenças e pragas, podem contribuir para adaptação de plantas à tolerância a seca.

Medidas de rendimento de grãos (a mais simples definição da performance) em uma dada condição de estresse são influenciadas por três fatores: 1) o potencial básico de rendimento da cultivar; 2) o padrão de desenvolvimento da cultivar (que deve permitir, parcial ou totalmente, o escape dos efeitos daquele estresse); 3) a tolerância à

seca ou suscetibilidade da cultivar (Durães et al., 1994).

Observações em áreas de produção e resultados experimentais, dentre eles os de Durães et al. (1997, 2000, 2001, 2002, 2003) mostram que, quando o estresse de seca ocorre durante o florescimento, as perdas em rendimento de grãos de milho podem ser superiores a 50%. Rendimento de grãos de milho cultivado sob regime de intermediário e severo estresses geralmente oscilam de 40 a 60% e 10 a 25% do rendimento sob condições bem irrigadas, respectivamente (CIMMYT, 1999).

A deficiência hídrica está associada às altas temperaturas e plantas tolerantes a esses estresses são aquelas que, no processo de ontogênese, são hábeis em se adaptarem e crescerem, dando o máximo de seu rendimento, devido a uma série de propriedades adquiridas no processo de evolução, sob a influência de condições ambientais e da seleção natural. Assim, a diversidade genética é um fator essencial para o processo de seleção e o milho tem servido como cultura exemplar para o aproveitamento dessa variabilidade (Grant et al., 1989; Bolaños & Edmeades, 1993a, 1993b).

Nesse contexto, o foco principal do programa de pesquisa é utilizar parâmetros morfofisiológicos, bioquímicos e moleculares para selecionar genótipos de milho contrastantes para intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF) e produtivos, cultivados sob estresse hídrico controlado, visando o melhoramento para tolerância a seca.

Em milho (Figura 1), o estresse hídrico antes/ durante o florescimento causa o retardamento no florescimento feminino e, conseqüentemente, aumenta o comprimento do intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF), em dias. O assincronismo entre florescimentos masculino (FM) e feminino (FF) tem sido associado com um

decréscimo no rendimento de grãos sob seca (Kiesselbach, 1949; DuPlessis & Dijkhuis, 1967; Herrero & Johnson 1981; Hall et al., 1981; Hall et al., 1982; Dow et al., 1984; Westgate & Boyer, 1986; Westgate & Bassetti, 1990; Bolaños et al., 1993; Bolaños & Edmeades, 1996; Durães et al., 1994, 1997, 1998, 1999a, 1999b, 2000, 2001, 2002, 2003; Bassetti & Westgate, 1993a, 1993b; Betrán et al., 2003).

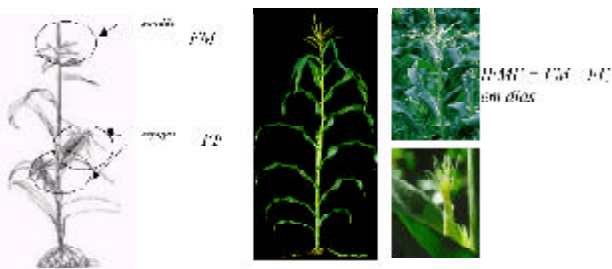


Figura 1. Planta de milho indicando pendão (com liberação de pólen, FM) e espiga (com extrusão de estilos-estigmas, FF).

2. Tipificação da Seca

Caracterizar a deficiência hídrica implica descrever o potencial hídrico no solo e na planta, na fase fenológica crítica da cultura, e apontar os métodos e técnicas adequados para identificar e monitorar a duração e a intensidade do déficit hídrico imposto à planta, bem como as respostas diferenciadas entre genótipos. Essas medidas são fundamentais para a caracterização do estresse hídrico, a avaliação do rendimento de grãos e o comportamento de características secundárias associadas ao rendimento.

2.1. Planta: *f* (estádio de desenvolvimento alvo) => FLORESCIMENTO

A taxa de consumo de água pela planta de milho é função de fatores ambientais associados ao genótipo e ao ciclo da planta. Cultivares de ciclos precoce e superprecoce apresentam menor consumo de água que cultivares de ciclo tardio. A planta exige um mínimo de 350 a 500 mm de precipitação e seu consumo diário raramente excede 3mm até o estágio de sete folhas; porém, durante os estádios reprodutivos, pode atingir 10

mm, principalmente sob altas temperaturas, em que menos de 1% da água absorvida fica retida, sendo o maior consumo para transpiração (Brunini et al., 1981).

A falta de água está associada à interferência em processos de síntese de proteínas e RNA, sendo caracterizada por um aumento no teor de aminoácidos livres. Déficit hídrico provoca a redução da abertura de estômatos e, conseqüentemente, da absorção de CO₂ com efeitos negativos sobre a taxa de fotossíntese e reflexos sobre o vigor e a altura da planta, fertilidade do grão de pólen e coincidência de florescimento masculino e feminino, entre outros fatores que afetam o rendimento de grãos.

A taxa de fotossíntese cai significativamente quando o potencial hídrico da folha atinge valores próximos a $-3,5$ atmosferas e é reduzida em até 50% quando o potencial hídrico do solo atinge -1 atmosfera (Fancelli & Dourado-Neto, 1996).

A disponibilidade de água é função direta do desenvolvimento do sistema radicular. Outros mecanismos, como maior relação entre raiz e parte aérea, pequeno tamanho de células, cutícula foliar (espessura e cerosidade), ângulo foliar, ajuste osmótico, comportamento e frequência estomática, acúmulo de metabólito intermediário e resistência à desidratação das células conferem maior grau de resistência a déficit hídrico (Hsiao, 1973; Turner, 1981; Magalhães et al., 1994; Campbell & Close 1997; Chapman & Edmeades, 1999; Zhang et al, 1999; Zinselmeier et al., 1999; Machado et al., 2001; Viana et al., 2001; Ribaut et al., 2002).

Os períodos críticos concentram-se nas fases de germinação, florescimento e enchimento de grãos, principalmente 15 dias antes e após o florescimento (Figura 2). Déficit hídrico por uma semana durante o florescimento pode reduzir em 50% o rendimento de grãos; se posterior à polinização reduz em 30% (Nickell, 1983).

Robins & Domingo (1953) quantificaram as reduções no rendimento associadas a seca coincidindo com o período de florescimento. Denmead & Shaw (1960), reduzindo o status hídrico da planta para o ponto de murchamento, durante as fases de pré-

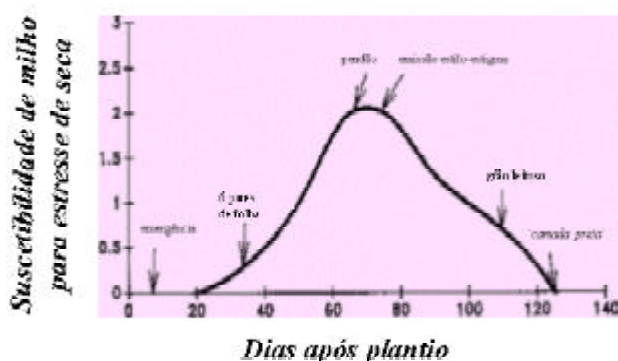


Figura 2. Suscetibilidade de milho a estresse de seca, influenciado pelo estágio de desenvolvimento. Para maior susceptibilidade, a maior redução de rendimento resultará de uma unidade do estresse de seca.

florescimento, florescimento e pós-florescimento, obtiveram reduções no rendimento de 25%, 50% e 21%, respectivamente. Claassen & Shaw (1970) observaram que, estressando plantas para o ponto de murchamento, antes da emissão do estilo-estigma, reduziram rendimentos para 15%; na antese feminina, por 53% e, quando estresse hídrico foi aplicado três semanas após a emissão do estilo-estigma, a redução foi de 30%. Shaw (1976) resumiu vários dados e mostrou que estresse no período de sete dias antes até 15 dias após a antese reduz o rendimento de grãos de duas a três vezes mais do que em outros estágios de crescimento do milho (Figura 3).

Em milho, grandes perdas em produção resultam quando ocorre uma seca no florescimento e no início do desenvolvimento da semente (Claassen & Shaw, 1970). A ocorrência de um período de seca durante o florescimento pode ter influência distinta em três fases: a) iniciação floral e o desenvolvimento das inflorescências, afetando diretamente o número potencial de

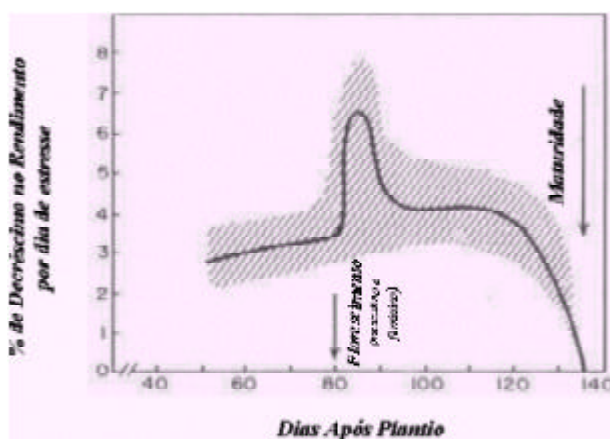


Figura 3. Diagrama esquemático da relação entre idade da cultura e percentagem de decréscimo de rendimento devido a um dia de estresse de umidade. Fonte: Shaw (1976).

grãos; b) período de fertilização, em que é fixado o potencial de produção, cujos efeitos são a desidratação do grão de pólen e a dificuldade de penetração e crescimento do tubo polínico; c) o enchimento de grãos, através da redução na translocação de assimilados para o grão e também pela influência direta na fotossíntese.

2.2. Solo

A caracterização do potencial hídrico e depleção de água no solo, durante estresse hídrico imposto em fase crítica (florescimento) da cultura, é de fundamental importância para melhoramento e estudos de respostas de genótipos de milho a estresses hídricos.

A água do solo não é retirada igualmente de todas as profundidades. A extração depende da distribuição das raízes no perfil e, por isso, depende do estágio de desenvolvimento (idade) da planta. A superfície do solo perde, ainda, água por evaporação. Portanto, a umidade do solo varia em profundidade, dentro do perfil de solo, podendo existir pontos bem secos, próximos ao Ponto de Murcha Permanente (PMP), como as camadas superficiais, e pontos bem úmidos, próximos à Capacidade de Campo (CC), tais como as camadas abaixo do sistema radicular. A medida de Água Disponível (AD) deve ser

feita na região de maior desenvolvimento radicular que, para o milho encontra-se, geralmente, na faixa de 5 a 30 cm de profundidade. Essa camada deve ser mantida com AD durante todo o desenvolvimento da cultura, para a maximização da produtividade (Campbell, 1977; Reichardt, 1990, 1993, 1996).

2.3. Monitoramento da Deficiência Hídrica da Cultura: Métodos e Técnicas

- a) Método "Termometria a Infravermelho" (IEHC, Índice de Estresse Hídrico da Cultura, segundo Jackson, 1982), utilizando a equação de Penman-Monteith, modificada pela FAO, para determinação da evapotranspiração de referência (Eto) (Allen et al., 1998);
- b) Métodos "Termoelétricos do Pulso de Calor e do Balanço de Energia" no caule das plantas, com determinação do fluxo de circulação da seiva a partir de medições de variação de temperatura de sensores inseridos na região do xilema, e métodos de minilímetros de pesagem (Gomide, 1990; Gomide et al., 2002);
- c) Técnicas de "Monitoramento de Umidade do Solo" por tensiometria e gravimetria (Reichardt, 1990, 1993, 1996).

2.4. Sítios específicos para estresse hídrico

A escolha e definição dos sítios para a condução de experimentos se justificam pelo tipo (duração e intensidade) de estresse hídrico a ser imposto e a fase fenológica de florescimento da cultura de milho, como estratégia de melhoramento para tolerância a seca. Adiciona-se a isto o entendimento de que trabalhos experimentais em casas-de-vegetação devem ser complementados com trabalhos em campo.

Em ambientes controlados de casa-de-vegetação, são feitos estudos de caracterização e ajustamento de características morfofisiológicas adequadas à seleção, para ampliar as oportunidades de

entendimento de mecanismos envolvidos em tolerância e respostas a estresses hídricos contínuos e/ou cíclicos, por fases críticas da cultura. Complementarmente, em campo, são validados os experimentos sob condições plenas de irrigação durante o ciclo e sob estresse hídrico imposto no florescimento.

Exemplos adequados sobre a construção desses sítios específicos para estudos de estresses, e que carecem ser ampliados, são o Campo Experimental da Embrapa em Nova Porteirinha, localizada no norte de Minas Gerais, e o Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, na região central de Minas Gerais, que reúnem condições básicas para este trabalho. Em Nova Porteirinha, além das facilidades físicas da área experimental, sistema de irrigação e mão-de-obra treinada, existe clima favorável (temperaturas altas e probabilidade de chuvas tendendo a zero, coincidentes com o florescimento, quando os plantios forem realizados em maio-junho). Em Sete Lagoas, contam-se as facilidades operacionais de laboratórios, equipamentos e uma equipe multidisciplinar treinada. Nesses ambientes, podem ser desenvolvidos, integradamente, trabalhos experimentais de campo, casa-de-vegetação, câmara de crescimento e laboratórios, como segue:

- a) Campo: Nova Porteirinha, MG (plantios anuais em maio-junho) e Sete Lagoas, MG (plantios de inverno), sob plena água, durante o ciclo da cultura, e com estresse hídrico imposto no florescimento.
- b) Casa-de-vegetação, câmara de crescimento, laboratórios: Sete Lagoas, MG, em solos envasados e condições ambientais controladas.

3. Estratégia de Pesquisa

Os trabalhos experimentais procuram tipificar a seca e identificar e caracterizar genótipos de milho "per se" e contrastantes quanto à sua performance agrônômica e reprodutiva, cultivados sob plena irrigação e sob estresse

hídrico de seca durante o florescimento, e a sua consequente fenotipagem através de características secundárias, observando-se que: a) seleção para reduzido IFMF, sob estresse hídrico controlado imposto no florescimento, promove efetivo e rápido procedimento para mais alto e estável rendimento de grãos; b) reduzido IFMF é parcialmente consequência de maior potencial hídrico na planta durante o florescimento; c) a emissão de estilo-estigma é sensível a déficits hídricos diferenciados na planta. A genotipagem, via marcadores moleculares, visa sobretudo identificar marcadores que possam auxiliar a seleção de genótipos superiores tolerantes ao estresse hídrico no florescimento.

4. Hipótese Científica

Genótipos de milho melhor adaptados e com mais alto rendimento podem ser mais eficientes se atributos que conferem rendimento sob condições limitantes de água são identificados e usados como critério de seleção. Resultados experimentais evidenciam que seleção para reduzido intervalo entre florescimentos masculino e feminino – IFMF, sob estresse hídrico controlado no florescimento, promove um efetivo e rápido procedimento para mais alto e mais estável rendimento de grãos em milho tropical. É possível, por meio de técnicas de biologia molecular, a identificação de marcadores moleculares associados às características secundárias indicadoras do rendimento de genótipos de milho com tolerância a seca.

Nesse contexto, baixo IFMF implica maior sincronismo no florescimento, significando uma maior adaptação do genótipo a dado estresse hídrico e resultando em maior rendimento de grãos sob condições adversas de água.

5. O Marcador Fenotípico

Intervalo entre Florescimentos Masculino e Feminino (IFMF) é uma característica relativamente simples de se avaliar em nível

de campo e tem-se mostrado altamente correlacionada com rendimento de grãos sob estresse hídrico imposto no florescimento. Entretanto, estudos de herança quantitativa, em genótipos melhorados de milho, carecem ser conduzidos sob condições de estresse abiótico.

6. O Material Genético

Buscando-se o desenvolvimento e a avaliação de cultivares de milho tolerantes a estresses ambientais, especialmente ao estresse hídrico de seca, descrevem-se algumas das possibilidades pesquisadas e a geração de materiais com *background* genético adequado à utilização de marcadores moleculares.

De uma população de milho sintético elite de grãos duros, obtiveram-se linhagens com alto grau de endogamia (S8) e contrastantes para o parâmetro fenotípico IFMF, associados ao rendimento de grãos, que foram caracterizadas morfofisiologicamente em ensaios conduzidos sob condições plenas e sob estresse hídrico imposto no florescimento. Produziram-se populações segregantes entre linhagens contrastantes, visando estudos genômicos de interesse para o melhoramento do rendimento de grãos sob estresse hídrico de seca (Figura 4).

7. Estudos em Foco

Para aumentar a eficiência da seleção visando tolerância a seca, uma cuidadosa administração das condições ambientais é requerida. Assim, marcadores moleculares estão sendo usados para identificar as regiões genômicas responsáveis pelo controle do IFMF e do rendimento de grãos de milho, com o objetivo final de desenvolver estratégias de *Seleção Assistida por Marcadores (SAM)*.

7.1. Engenharia de Gestão de P&DI

A forma como são concebidas e processadas as ações de pesquisa, desenvolvimento e informação - P&DI -, na Embrapa Milho e

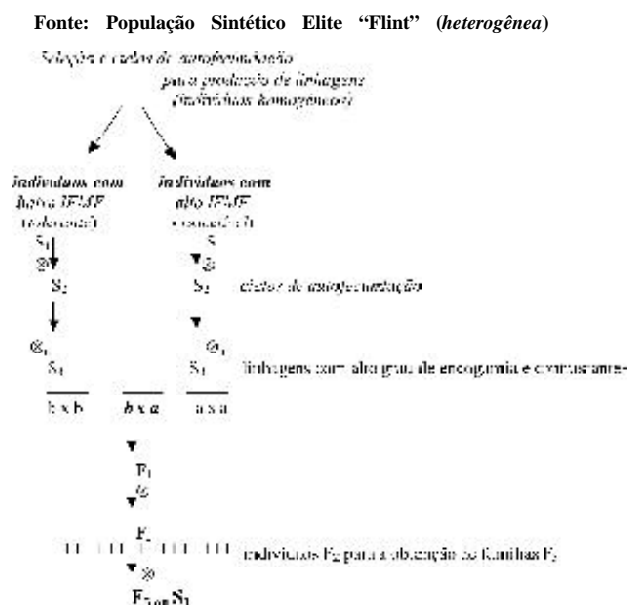


Figura 4. Procedimentos esquemáticos para produção de populações segregantes de linhagens contrastantes para IFMF, visando produção de grãos e tolerância a seca.

Sorgo (operacionalizadas via equipes interdisciplinares, em Núcleos Temáticos, <http://www.cnpms.embrapa.br/nucleos.html>) visa uma abordagem sistêmica dos problemas de pesquisa.

Através de temas estratégicos, é compreensível que os projetos liderados pelo Núcleo de Recursos Genéticos e Desenvolvimento de Cultivares - NRG - cuidem basicamente de estudos de variabilidade e obtenção de novos genótipos (avaliados em inúmeras populações, progênie, variedades, linhagens e híbridos), associados com as ações de pesquisa do Núcleo de Estresses Abióticos e Relação Solo-Água-Planta – NEA – que estudam mecanismos de tolerância e/ou eficiência e técnicas de *screening*, buscando materiais contrastantes (identificados e caracterizados daqueles genótipos obtidos nas ações de pesquisa do NRG), preparando-os, com *background* genético adequado, para a utilização de técnicas de biologia molecular e celular aplicadas ao melhoramento, via equipes do Núcleo de Biologia Aplicada - NBA.

Essa engenharia de gestão de *P&DI* é relevante para a Embrapa Milho e Sorgo e estratégica para a Embrapa. Este arranjo de gestão e de projetos configura uma excelente parceria em *P&DI*, interna e externamente, e justifica a recorrência complementar de fontes de germoplasma com *background* genético adequado para cada trabalho da equipe multidisciplinar, sem, contudo, configurar uma duplicidade de trabalho. Esse esforço de *P&DI* se presta ao melhoramento de plantas, bem como contribui diretamente à segurança alimentar ou sustentabilidade ambiental.

7.2. Resultados Atuais

(*As linhagens de *pedigree* fechado somente estarão disponíveis em conformidade com a legislação vigente)

A identificação e caracterização morfofisiológica e bioquímica, buscando-se uma fenotipagem adequada para genótipos distintos e o conhecimento de novos descritores, visando melhorias em índices de seleção sob estresses, como base técnico-científica imprescindível para a genotipagem molecular em milho, tem sido empreendida e alguns de seus resultados podem ser mencionados:

1. Identificação de linhagens contrastantes para IFMF (IFMF = 0, significa "com sincronização entre florescimentos masculino e feminino"; valor positivo significa protandria e valor negativo, protogenia), sendo L13.1.2, L6.1.1, L8.3.1 e L10.1.1 caracterizadas como tolerantes (de baixo IFMF, com 0 dia) e duas sensíveis (de alto IFMF, sendo L1170 com + 4 dias, e L1147 com + 5 dias) (Durães et al., 1999a, 2001, 2002; Teixeira et al., 1999).
2. Obtenção de F_1 (L 1147 x L 13.1.2) para tolerância a seca;
3. Identificação de genótipos potenciais para tolerância a seca: L13.1.2 x L10.1.1; e cruzamentos com L6.1.1 e L8.3.1 devido à sua capacidade de combinação;

4. Obtenção de populações segregantes (F_2 e F_3) derivadas do cruzamento entre as linhagens contrastantes para tolerância a seca, bem como estudos fenotípicos de famílias F_2 e F_3 ;
5. Marcadores moleculares em linhagens, híbridos e indivíduos F_2 apresentam resultados ainda inconclusivos.
6. Reduções em produtividade de 40 a 70% têm sido observadas quando o híbrido sofre estresse de umidade no florescimento. Essas reduções têm sido mais acentuadas em híbridos não selecionados para IFMF;
7. Sob estresse de água no florescimento, o rendimento de grãos parece estar mais associado a prolificidade que ao IFMF.

7.3. Pesquisas em Andamento

Focos de pesquisa e novas questões científicas e metodológicas estão em andamento, visando ampliar o conhecimento e tecnologias sobre descritores, mecanismos e germoplasmas de milho e sua utilidade para o melhoramento e a sua incorporação nos sistemas produtivos. Desses esforços multidisciplinares de associação de arranjos da genética fisiológica e do melhoramento clássico com ferramentas da biologia molecular e celular, destacam-se:

1. Caracterização fenotípica de milho utilizando-se características de produção de grãos, prolificidade, IFMF, senescência foliar, tamanho de pendão, enrolamento foliar;
2. Mapeamento de QTLs para IFMF em populações F_2 derivadas do cruzamento entre linhagens² contrastantes, associados a tolerância a seca:
 - . Identificar segmentos do genoma de milho (QTLs) responsivos para IFMF, associados com características morfofisiológicas e componentes do rendimento;
 - . Estimar a interação fenotípica e genotípica entre essas características;

. Procurar viabilizar a utilidade de QTLs IFMF para melhoramento de tolerância a seca (SAM-Seleção Assistida por Marcadores).

3. Ampliar a utilização de genótipos nos estudos de tolerância a seca:

. Caracterizar 50 linhagens (S_7) de grupos heteróticos distintos;

. Avaliar, para estresse de seca, linhagens oriundas dos programas de Estresse Mineral, que apresentam: Fósforo (P-eficiente: L3 e L228; P-ineficiente: L22); Nitrogênio (linhagens N-eficientes e N-ineficientes da população melhorada CMS 22; Alumínio (Al-tolerante: cateto 267-67; Al-tolerante intermediário: L3; Al-susceptível: L53);

. Estudar e selecionar progênies de grupos heteróticos distintos;

. Introduzir e incorporar ao programa de melhoramento linhagens tolerantes a seca oriundas do CIMMYT;

. Explorar as associações dos parâmetros rendimento de grãos e espiga por planta para melhoramento sob estresse hídrico;

. Identificar e caracterizar genótipos de milho para tolerância a seca;

. Estudar mecanismos e técnicas de "screening" para tolerância a seca.

4. Melhoramento intrapopulacional sob condições normais de irrigação e sob condições de estresse no florescimento (Sintético Elite "Flint"):

. Identificação de híbridos com 100% de IFMF e 50% de IFMF. *Questão:* Para um determinado híbrido ser tolerante ao estresse de umidade há a necessidade de se ter todos os parentais com IFMF ou apenas 50% do parental ter IFMF?

8. Descrição de Características Secundárias que Auxiliam a Identificação de Tolerância a Seca

O entendimento da natureza da alocação diferencial de matéria seca durante o ciclo da planta de milho, sobretudo dos fatores e

processos relacionados à partição para o grão, é de fundamental importância no direcionamento do melhoramento genético visando incrementar o rendimento de grãos. As respostas das plantas cultivadas sob plenas condições ou sob estresses ambientais (bióticos e abióticos) dependem da atividade metabólica, da morfologia e do estágio de desenvolvimento das mesmas.

Caracterizar o ambiente e identificar características primárias e secundárias de plantas visando a 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 primárias se referem ao rendimento de grãos e aos componentes do rendimento e as características secundárias são outros atributos de plantas, como ângulo foliar, folhas verde-escuras, *stay-green*, pendão pequeno, intervalo entre florescimentos masculino e feminino, etc. – que apresentam-se como de rápido e baixo custo de mensuração, e alta herdabilidade – e que 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.

Focando o rendimento de grãos como o interesse primário, a utilização de características secundárias pode melhorar a precisão com que genótipos tolerantes a estresse hídrico são identificados, além de demonstrar o grau em que a cultura foi estressada pela seca.

Edmeades et al. (1998) estabeleceram que, para uma característica secundária ser ideal, ela deve ser geneticamente associada com rendimento de grão sob estresse, de alta herdabilidade, barata e fácil de medir, estável dentro do período de mensuração, não associada com o decréscimo no rendimento sob condições não-estressadas, observada durante ou antes do florescimento, a fim de

que pais indesejáveis não sejam cruzados, e também ser um confiável estimador do potencial de rendimento antes da colheita final.

Algumas recomendações no uso de características secundárias têm sido feitas, baseado em correlações fenotípicas entre tais características e o rendimento de grãos. Algumas dessas correlações têm sido calculadas com base em poucos genótipos, dando pouca precisão aos resultados. Adicionalmente, não é suficiente conhecer que uma característica secundária está relacionada para tolerância a seca, mas possuir alelos favoráveis para outras características importantes da planta, como o rendimento de grãos (Bray, 1993; Teixeira et al., 1999; Bruce et al., 2002).

Dentre as características recomendadas para avaliação da tolerância a seca em milho, são listadas as seguintes, em ordem decrescente de importância, segundo Bänziger & Lafitte (1997a, 1997b); Bänziger et al., (2000); Bolaños & Edmeades (1993a; 1993b; 1996); Bolaños et al., (1993); Edmeades et al., (1993); Lafitte & Edmeades (1994a; 1994b; 1994c, 1995); Durães et al., (1997, 1999); Fukai & Cooper, (1995):

a) Produção/Rendimento de Grãos

- Herdabilidade: média sob estresse no enchimento de grão; média a baixa sob estresse no florescimento.
- Relação com rendimento de grão: alta.
- Seleção: para aumentado rendimento de grão.
- Tipo de estresse: ser medido sob estresse de seca no florescimento ou no enchimento de grão.
- Medida: debulhado, ajustado para umidade de grão.

Observação: A relação peso de grão/sabugo, ou seja, a porcentagem de debulha, varia consideravelmente sob seca. Peso de grão, não o peso de espiga, deve ser usado para

calcular o rendimento de grão.

b) Número de espigas por planta (prolificidade):

- Herdabilidade: alta e aumentando com a intensidade do estresse.
- Relação com rendimento de grão: alta sob estresse no florescimento.
- Seleção: para mais espigas por planta (i.e., menos abortamento).
- Tipo de estresse: ser medido sob estresse de seca no florescimento; herdabilidade e variância genética é maior quando o estresse no florescimento é intenso o suficiente para que a média de espigas por planta seja de 0,3 a 0,7 em todo o experimento.
- Medida: contar o número de espigas com no mínimo um grão completamente desenvolvido e dividir pelo número de plantas colhidas.

c) Intervalo entre Florescimentos Masculino e Feminino (*IFMF*)

- Herdabilidade: média, mantendo razoavelmente alto nível sob estresse severo no florescimento.
- Relação com rendimento de grão: alta sob estresse de florescimento.
- Seleção é para um reduzido ou mesmo negativo *IFMF*.
- Tipo de estresse: ser medido sob estresse de seca no florescimento; herdabilidade e variância genética é maior quando o estresse no florescimento é intenso o suficiente para que a média de *IFMF* seja de quatro a cinco dias em todo o experimento.
- Medida: determinar o número de dias da semeadura até 50% de plantas que tenham extrusado as anteras (data da antese, *DA*), e o número de dias da semeadura até 50% de plantas que mostram os estilos-estigmas (data dos cabelos do milho, *DC*); cálculo: $IFMF = DC - DA$.

d) Senescência foliar

- Herdabilidade: média.
- Relação com rendimento de grão: média sob estresse no enchimento de grão.
- Seleção: para atrasada senescência foliar (*stay-green*).
- Tipo de estresse: estresse no enchimento de grão.
- Medida: nota na escala de 0 a 10, dividindo a porcentagem do total estimado da área foliar morta por 10.

1 = 10% da área foliar morta 6 = 60% da área foliar morta

2 = 20% da área foliar morta 7 = 70% da área foliar morta

3 = 30% da área foliar morta 8 = 80% da área foliar morta

4 = 40% da área foliar morta 9 = 90% da área foliar morta

5 = 50% da área foliar morta 10 = 100% da área foliar morta

Observação: Senescência foliar poderia ser medida em duas a três ocasiões, sete a dez dias, em separado, durante o final do enchimento de grão.

e) Tamanho de pendão

- Herdabilidade: média para alta.
- Relação com rendimento de grão: média sob estresse no florescimento.
- Seleção: para um menor pendão, com poucas ramificações.
- Tipo de estresse: essa característica pode ser medida sob condições bem irrigadas, mas é indicativa de tolerância a seca, no estágio de florescimento.
- Medida: nota na escala de 1 (poucas ramificações, pequeno pendão) a 5 (algumas ramificações, grande pendão).

Observação: indicado apenas com progênies que têm um grau de endogamia de, no mínimo, S1; mais difícil para determinar em material com completo vigor. Dois

independentes escores são recomendados.

f) Enrolamento de folha

- Herdabilidade: média a alta.
- Relação com rendimento de grão: média a baixa.
- Seleção: para folhas não enroladas.
- Tipo de estresse: estresse no florescimento.
- Medida: notas plotadas na escala de 1 a 5.

1 = não-enroladas, túrgidas

2 = borda da folha começa a enrolar

3 = folha tem o formato de um V

4 = borda da folha enrolada cobre parte da lâmina da folha

5 = folha está enrolada como uma cebola

Observação: ser medida antes do florescimento, quando as folhas estão ainda mais eretas verticalmente; é menos provável que as folhas enrolarem após o florescimento, quando elas tornam-se mais moles e mais grossas. Dois ou três escores são recomendados.

9. Mapeamento Genético para Tolerância a Seca em Milho: Estratégia

A maioria das respostas para estresses ambientais, a exemplo de estresse hídrico, é devido a efeitos de alguns genes agindo juntos (Wang et al., 2003). Quando um cruzamento é feito entre plantas cujos fenótipos são contrastantes para uma característica, por exemplo, alto e baixo IFMF, as progênies resultantes tendem a segregar amplamente para a característica. Isto é devido à variação entre progênies de plantas para alelos de vários ou alguns locos que agem juntos para produzir o fenótipo da planta. Quando vários genes estão envolvidos, a variação tende a ser contínua, seguindo uma distribuição normal. Por essa razão, tais características, como o IFMF, são conhecidas como poligênicas ou de herança genética quantitativa. Os genes ou regiões

genômicas individuais condicionando tais características são chamados de QTLs (Quantitative Trait Loci).

A determinação de ligação genética entre marcadores e QTLs depende da existência de desequilíbrio de ligação entre alelos no loco marcador e alelos do QTL. Esse desequilíbrio gera efeitos quantitativos associados ao marcador, que podem ser detectados e estimados por meio de análises adequadas. Desequilíbrio de ligação entre dois locos ocorre quando as frequências genotípicas dos gametas diferem do produto das frequências dos alelos componentes, denotando a existência de uma associação significativa entre os dois locos. A ligação física entre os dois locos do mesmo cromossomo é apenas uma das causas de desequilíbrio de ligação. Entretanto, em experimentos de mapeamento, uma associação significativa entre marcador e gene é normalmente interpretada como sendo evidência de proximidade física, apesar de a distância genética não ser diretamente correlacionada com distância física.

A maioria das estratégias de mapeamento de QTLs está baseada no uso de populações segregantes tradicionalmente utilizadas para a construção de mapas genéticos. Tais populações são ideais, pois maximizam a quantidade de desequilíbrio de ligação entre marcadores e QTLs. Operacionalmente, duas linhagens puras fenotipicamente extremas em relação à característica de interesse são identificadas e cruzadas, obtendo-se uma população segregante (F_2 , retrocruzamento, linhagens puras recombinantes) a partir de híbrido F_1 . Os indivíduos dessa população segregante são avaliados para as características de interesse e genotipadas para algumas dezenas ou centenas de marcadores moleculares distribuídos a intervalos regulares (10 a 30 cM) ao longo do genoma. As análises são conduzidas para serem detectadas associações significativas entre os marcadores segregantes e as características de interesse.

As características de herança quantitativa são normalmente de grande importância econômica. A capacidade de se detectar um QTL é função da magnitude do seu efeito sobre a característica, do tamanho da população segregante, da frequência de recombinação entre o marcador e QTL, da herdabilidade da característica, de ambientes que expressem a característica estudada, interação QTL x população e QTL x ambiente.

Idealmente, marcadores serão usados para selecionar simultaneamente para rendimento e características secundárias importantes, incluindo o grau de abortamento medido, o número de espigas por planta (prolificidade) e o intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF) (Ribaut et al., 1996; Ingram et al., 1996; Nguyen, 1997; Quarrie et al., 1999; Zhang et al., 2001).

10. Fenotipagem e Genotipagem de Milho para Tolerância a Seca: Estudos de caracterização morfofisiológica e genômica

Esforços de ações de pesquisa dentro de um programa de melhoramento de plantas visando tolerância a seca cumprem, obrigatoriamente, a mensuração em larga escala de parâmetros fenotípicos que expressem, de forma mais acurada, a característica de interesse no caso, a tolerância a déficits hídricos.

Os genótipos submetidos à análise fenotípica (p.ex., acessos de banco de germoplasma, populações segregantes e linhagens) podem ser genotipados com marcadores moleculares, explorando também o polimorfismo de nucleotídeo único ("*single nucleotide polymorphism*" – *SNP*), com base nas informações das sequências de DNA. Estratégias de mapeamento genético e de testes de associação fenótipo-genótipo podem também ser utilizados para identificação de genes e regiões genômicas associadas ao controle da tolerância a esses estresses.

O mapeamento genético permite dissecar o controle genético de uma característica complexa, possibilitando identificar o número e a localização de genes que atuam na expressão de uma característica, mensurando o seu efeito na variação fenotípica da característica e suas interações. Esse passo é de fundamental importância para o desenvolvimento de variedades melhoradas através de seleção indireta para a característica de interesse, através de análise de polimorfismo de DNA. Os testes de associação, de forma complementar ao mapeamento de QTLs, permitem identificar genes associados com tais características quantitativas, possibilitando a identificação de variações nucleotídicas associadas à variação fenotípica, levando ao isolamento de regiões de DNA que contenham os genes de interesse.

Ações de pesquisa com esse enfoque estão em andamento em uma rede de colaboração científica, atuando na interface das ciências genômicas e do melhoramento genético. O *Projeto Orygens – Inovações genômicas para o descobrimento de genes e melhoramento genético de gramíneas* (inicialmente, com arroz, milho e sorgo) objetiva a identificação e o possível isolamento de genes relacionados ao controle da tolerância aos estresses abióticos (seca e temperatura), em gramíneas, utilizando estratégias genômicas para detecção e mapeamento de polimorfismo diretamente associado aos genes de interesse. A estrutura do projeto permite que os dados de variações alélicas obtidos sejam empregados na análise de outros caracteres de importância econômica fenotipados nas mesmas linhagens selecionadas para o estudo, base para considerável avanço na utilização de ferramentas genômicas em programas de melhoramento (Ferreira et al., 2003).

11. Considerações Finais

Água é um insumo escasso para fins agrícolas e crescentemente tem sido considerado um

recurso finito para a humanidade. Sua distribuição e uso, com qualidade, têm-se tornado um enorme desafio para tomadores de decisão e gestores, em todos os níveis de competência.

Do ponto de vista da produção vegetal, água é um insumo fundamental para os processos vitais da planta e sua utilização e eficiência de uso são tecnologicamente parâmetros de produtividade e competitividade. Desenvolver e disponibilizar genótipos comerciais tolerantes a estresses hídricos cíclicos e/ou contínuos, bem como eficientes para o uso de água, é uma estratégia desafiadora e adequada.

Como o rendimento de grãos sob estresse hídrico constitui uma característica complexa, a identificação e a caracterização de genótipos contrastantes (tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico), baseando-se em características secundárias de planta e associadas ao rendimento de grãos, tornam-se ferramentas potentes para o melhoramento vegetal. Alia-se a isto a necessidade de caracterização da deficiência hídrica, em fases críticas do ciclo da cultura, buscando-se respostas das plantas e possíveis mecanismos de tolerância ao estresse.

Em milho, tem-se buscado um amplo esforço de melhoramento visando tolerância a seca, utilizando-se técnicas clássicas do melhoramento convencional de plantas, associadas às técnicas moleculares e celulares. Os resultados atuais são promissores e aliados, às ampliações do conhecimento científico para o melhoramento de milho, as tecnologias e produtos gerados nesse enfoque de *P&DI* têm contribuído de forma crescente e diretamente para a segurança alimentar ou sustentabilidade ambiental.

12. Referências Bibliográficas

- ALLEN, R. G.; PEREIRA, L. S.; RAES, D.; SMITH, M. **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998, 300 p. (FAO. Irrigation and Drainage Paper, 56).
- BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G. O.; BECK, D.; BELLON, M. **Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: from theory to practice**. México, DF: CIMMYT, 2000. 68 p.
- BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H. R. Efficiency of secondary traits for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 1110-1117, 1997a.
- BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H. R. Breeding for N-stressed environments: How useful are N-stressed selection environments and secondary traits? In: SYMPOSIUM OF DEVELOPPING DROUGHT AND LOW N-TOLERANCE MAIZE, 1996, Mexico. **Proceedings...** Mexico: CIMMYT, 1997. p.401-404. Editado por G.O. Edmeades; M. Banziger; H.R. Mickelson; C.B. Pena-Valdivia.
- BASSETTI, P.; WESTGATE, M. E. Senescence and receptivity of maize silks. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 275-278, 1993a.
- BASSETTI, P.; WESTGATE, M. E. Water deficit affects receptivity of maize silks. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 279-282, 1993b.
- BETRÁN, F. J.; BECK, D.; BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G. O. Secondary traits in parental inbreds and hybrids under stress and non-stress environments in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 83, p. 51-65, 2003.
- BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G. O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. I. Responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 233-252, 1993a.
- BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G. O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 253-268, 1993b.
- BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G. O.; MARTINEZ, L. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. III. Responses in drought-adaptive

- physiological and morphological traits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 269-286, 1993.
- BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G. O. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 65-80, 1996.
- BRAY, E. A. Molecular response to water deficit. **Plant Physiologist**, Bethesda, v. 103, p. 1035-1040, 1993.
- BRUCE, W. B.; EDMEADES, G. O.; BARKER, T. C. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 53, n. 366, p. 13-25, 2002.
- BRUNINI, O.; CAMARGO, M. B. P.; MIRANDA, L. T.; SAWASAKI, E. Resistência estomatal e potencial de água em variedades de milho em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 2., 1981, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Sociedade Brasileira de Agrometeorologia, 1981. p. 134-138.
- CAMPBELL, G. S. **An introduction to environmental biophysics**. New York: Spring Verlag, 1977. 159 p.
- CAMPBELL, S. A.; CLOSE, T. J. Dehydrins: genes, proteins, and associations with phenotypic traits. **New Phytologist**, Oxford, v. 137, p. 61-74, 1997.
- CHAPMAN, S. C.; EDMEADES, G. O. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations. II. Direct and correlated responses among secondary traits. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1315-1324, 1999.
- CLAASEN, M. M.; SHAW, R. H. Water deficit effects on corn. II. Grain components. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, p. 652-655, 1970.
- DENMEAD, O. T.; SHAW, R. H. The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 52, p. 272-274, 1960.
- DOW, E. W.; DAYNARD, T. B.; MULDOON, J. F.; MAJOR, D. J.; THURTELL, G. W. Resistance to drought and density stress in Canadian and European maize (*Zea mays* L.) hybrids. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 64, p. 575-585, 1984.
- DUPLESSIS, D. P.; DIJKHUIS, F. J. The influence of the time lag between pollen-shedding and silking on the yield of maize. **South African Journal Agricultural Science**, Pretoria, v. 10, p. 667-674, 1967.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; PITTA, G. V. E.; GAMA, E. E. G.; OLIVEIRA, A. C. Respostas para características fisiológicas e morfológicas de adaptação à seca em plantas de três linhagens de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia. **Centro-Oeste; cinturão do milho e do sorgo no Brasil: resumos Goiânia: ABMS; Emgopa; Embrapa; UFG; Emater-GO, 1994. p. 200.**
- DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X. dos; PEREIRA, J. J.; LABORY, C. R. G. Critérios morfo-fisiológicos utilizados para seleção de genótipos de milho visando tolerância à seca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém. **Resumos ... Belém: SBFV, 1997. p. 291.**
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X. dos; LOPES, M. A.; PAIVA, E. Intervalo entre florescimentos masculino e feminino como parâmetro fenotípico útil ao melhoramento de milho tropical para tolerância à seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife. **Globalizacao e segurança alimentar: resumos... Recife: IPA, 1998. p. 27**
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X. dos; LOPES, M. A.; PAIVA, E. Seleção de Genótipos de Milho visando tolerância à seca: estratégia de fenotipagem e utilização de marcadores moleculares. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.22, p. 718, 1999. Suplemento. Edição de Resumos do XLV Congresso Nacional de Genética, Gramado-RS, 1999a.

- DURÃES, F. O. M.; MACHADO, R. A. F.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X.; SILVA, R.; MOLINA, M. Adaptação de milho às condições de seca: 1. Caracterização de genótipos contrastantes quanto ao parâmetro fenotípico *IFMF* (*Intervalo entre florescimentos masculino e feminino*). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.11, p. 53, 1999b. Suplemento.
- DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X. dos; PAIVA, E.; COUTO, L.; OLIVEIRA, A. C. Estratégia de melhoramento de milho visando tolerância à seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia. **A inovação tecnológica e a competitividade no contexto dos mercados globalizados**: resumos. Sete Lagoas: ABMS, Embrapa Milho e Sorgo, Universidade Federal de Uberlândia, 2000. p. 93
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X.; OLIVEIRA, A. C. Adaptação de milho às condições de seca: 4. Identificação e caracterização de genótipos, estudos de mecanismos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilheus. **Anais...** Ilheus: SBFV, 2001. CD-ROM. Secao de Trabalhos.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; OLIVEIRA, A. C.; SANTOS, M. X. dos; GAMA, E. E. G.; GUIMARÃES, C. T. Combining ability of tropical maize inbred lines under drought stress conditions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 291-298, 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, 2003, Mexico. **Proceedings...** México: CIMMYT, 2003. p.38- 39.
- EDMEADES, G. O.; BOLAÑOS, J.; HERNÁNDEZ, M.; BELLO, S. Causes for silk delay in lowland tropical maize. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 1029-1035, 1993.
- EDMEADES, G. O.; BOLAÑOS, J.; BÄNZIGER, M.; RIBAUT, J.-M.; WHITE, J. W.; REYNOLDS, M. P.; LAFITTE, H. R. Improving crop yields under water deficits in the tropics. In: INTERNATIONAL CROP SCIENCE CONGRESS, 2., 1996, New Delhi. **Crop productivity and sustainability – Shaping the future: proceedings**. New Delhi: Oxford and IBH, 1998. p. 437-451.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. Milho: fisiologia da produção. In: SEMINÁRIO SOBRE FISILOGIA DA PRODUÇÃO E MANEJO DA AGUA E DE NUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO DE ALTA PRODUTIVIDADE, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba : POTAFOS, 1996. p. 9-20.
- FERREIRA, M. E. (Coord.). **Projeto Orygens - Inovações genômicas para o descobrimento de genes e melhoramento genético de gramíneas**. Brasília: Embrapa, 2003. (Embrapa-Sede, Macroprograma 1: Grandes Desafios Nacionais)
- FUKAI, S.; COOPER, M. Development of drought-resistant cultivars using physiological traits in rice. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 40, p. 67-86, 1995.
- GOMIDE, R. L. **A transient heat probe sensor for measuring transpiration in the stem of woody plants**. 1990. 166 f. Dissertation (Ph.D.) - University of Arizona, Tucson.
- GOMIDE, R. L.; DURÃES, F. O. M.; KOBAYASHI, M. K.; MACHADO, R. A. F. Monitoramento automático de fluxo de seiva com sondas de balanço de energia e caracterização de estresse hídrico de duas linhagens de milho (*Zea mays* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 31., 2002, Salvador. **A engenharia agrícola para o desenvolvimento sustentável: água, energia e meio ambiente: anais**. Salvador: SBEA, 2002. CD-rom
- GRANT, R. F.; JACKSON, B. S.; KINIRY, J. R.; ARKIN, G. F. Water deficit timing effects on yield components in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 61-65, 1989.
- HALL, A. J.; LEMCOFF, J. H.; TRAPANI, N. Water stress before and during flowering in

maize and its effects on yield, its components, and their determinants.

Maydica, Bergamo, v. 26, p.19-38, 1981.

HALL, A. J.; VILELLA, F.; TRAPANI, N.; CHIMENTI, C. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 5, p. 349-363, 1982.

HEISY, P. W.; EDMEADES, G. O. (Ed.). **1997/98 CIMMYT world maize facts and trends** - Maize production in drought-stressed environments: technical options and research resource allocation. Mexico: Cimmyt, 1999. 68 p.

HERRERO, M. P.; JOHNSON, R. R. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 105-110, 1981.

HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 24, p. 519-570, 1973.

INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.

JACKSON, R. D. Canopy temperature and crop water stress. In: HILLEL, D. (Ed.). **Advances in irrigation**. New York: Academic Press, 1982. v. 1, p. 43-85.

KIESSELBACH, T. A. **The structure and reproduction of corn**. Lincoln: University of Nebraska, 1980. 96 p.

LAFITTE, H. R.; EDMEADES, G. O. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize. I. Selection criteria. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 39, p.1-14, 1994a.

LAFITTE, H. R.; EDMEADES, G. O. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize. II. Grain yield, biomass production, and N accumulation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 39, p.15-25, 1994b.

LAFITTE, H. R.; EDMEADES, G. O. Improvement for tolerance to low soil

nitrogen in tropical maize. III. Variation in yield across environments. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 39, p. 27-38, 1994c.

LAFITTE, H. R.; EDMEADES, G. O. Stress tolerance in tropical maize is linked to constitutive changes in ear growth characteristics. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 820-826, 1995.

MACHADO, R. A. F.; DURÃES, F. O. M.; RODRIGUES, J. D.; MAGALHÃES, P. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P. Produção de fitomassa em genótipos contrastantes de milho submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilheus. **Anais...** Ilheus: SBFV, 2001. CD-ROM. Secao de Trabalhos.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1994. 27 p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 20).

NGUYEN, H. T.; BABU, R. C.; BLUM, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 1426-1434, 1997.

NICKELL, L. G. **Plant growth regulating chemicals**. Boca Raton: CRC Press, 1983. v.2.

QUARRIE, S. A.; LAZIC-JANCIC, V.; KOVACEVIC, D.; STEED, A.; PEKIC S. Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 50, p. 1299-1306, 1999.

REICHARDT, K. **Controle da irrigação do milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1993. 20 p.

REICHARDT, K. **Dinâmica da matéria e da energia em ecossistemas**. 2 ed. Piracicaba: USP/ESALQ, 1996. 513 p.

REICHARDT, K. **A água em sistemas agrícolas**. São Paulo: Manole, 1990. 188 p.

RIBAUT, J.-M.; HOISINGTON, D. A.; DEUTSCH, J. A.; JIANG, C.; GONZALEZ-DE-

LEON, D. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. I. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, p. 905-914, 1996.

RIBAUT, J.-M.; BÄNZIGER, M.; HOISINGTON, D. Genetic dissection and plant improvement under abiotic stress conditions: drought tolerance in maize as an example. In: IWANAGA, M. (Comp.) **Genetic engineering of crop plants for abiotic stress**. Tsukuba: JIRCAS, 2002. p. 85-92. (JIRCAS. Working Report, 23).

ROBINS, J. S.; DOMINGO, C. E. Some effects of severe soil moisture deficits at specific growth stages in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 45, p. 618-621, 1953.

SHAW, R. H. Water use and requirements of maize – a review. In: SYMPOSIUM ON THE AGROMETEOROLOGY OF THE MAIZE (CORN) CROP, Ames, Iowa, 1976. **Proceedings...** Geneva: World Meteorological Organization, 1977. p. 119-134. (WMO, 481)

TEIXEIRA, F. F.; LABORY, C. R. G.; SANTOS, M. X. dos; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; COUTO, L.; PAIVA, E. Estimativas de parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à seca. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 669, Oct. 1999. Edição de Resumos do XLIV Congresso Nacional de Genética, out. 1999, Gramado, RS.

TURNER, N. C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. **Plant and Soil**, The Hague, v. 58, p. 339-366, 1981.

VIANA, M. C. M.; QUEIROZ, C.G. S.; SOUZA, I. R. P.; DURÃES, F. O. M. Atividade

de enzimas antioxidantes em linhagem de milho (*Zea mays* L.) submetida a déficit hídrico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: SBFV, 2001. 1 CD-ROM. Seção trabalhos.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v. 218, p.1-14, 2003.

WESTGATE, M. E.; BASSETTI, P. Heat and drought stress in corn: what really happens to the corn plant at pollination? In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45., 1990, Chicago. **Proceedings...** Washington: ASTA, 1990. p. 12-28.

WESTGATE, M. E.; BOYER, J. S. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. **Crop Science**, Madison, v. 26, p. 951-956, 1986.

ZHANG, J.; NGUYEN, H.T. AND BLUM, A. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 50, p. 291-302, 1999.

ZHANG, J.; ZHENG, H. G.; AARTI, A.; PANTUWAN, G.; NGUYEN, T. T.; TRIPATHY, J. N.; SARIAL, A. K.; ROBIN, S.; BABU, R. C.; NGUYEN, B. D.; SARKARUNG, S.; BLUM, A.; NGUYEN, H. T. Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. **Theoretical Applied and Genetics**, Berlin, v. 103, p. 19-29, 2001.

ZINSELMEIER, C.; JEONG, B. R.; BOYER, J. S. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. **Plant**

Circular Técnica, 39

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rod. MG 424 km 45 - Caixa Postal 151
Fone: (31) 3779-1000
Fax: (31) 3779-1088
E-mail: sac@cnpms.embrapa.br

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

1ª edição
1ª impressão (2004): 200 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Jamilton Pereira dos Santos
Secretário-Executivo: Paulo César Magalhães
Membros: Camilo de Lélis Teixeira de Andrade,
Cláudia Teixeira Guimarães, Carlos Roberto Casela,
José Carlos Cruz e Márcio Antônio Rezende Monteiro

Expediente

Revisão de texto: Dilermando Lúcio de Oliveira
Tratamento das ilustrações: Tânia Mara A. Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara A. Barbosa e
Dilermando Lúcio de Oliveira

