

## **Caracterização ecofisiológica e produção de grãos de dois híbridos de milho contrastantes a seca**

**Paulo César Magalhães<sup>(1)</sup>, Thiago Corrêa de Souza<sup>(2)</sup>, Carlos César Gomes Júnior<sup>(3)</sup>**

<sup>(1)</sup>Embrapa Milho e Sorgo [pcesar@cnpms.embrapa.br](mailto:pcesar@cnpms.embrapa.br), <sup>(2)</sup> Universidade Federal de Lavras [thiagonepre@hotmail.com](mailto:thiagonepre@hotmail.com) e <sup>(3)</sup>Graduando Universidade Federal de São João del-Rey e bolsista Funarbe [juninhoiam@yahoo.com.br](mailto:juninhoiam@yahoo.com.br)

**RESUMO** - No Norte do Estado de Minas Gerais, a falta de chuva limita a produção vegetal no campo, sendo o cultivo em certas épocas possível apenas com irrigação. Práticas agronômicas e características fisiológicas têm sido buscadas fortemente para superar a seca e consequentemente aumentar a produção. Dentro deste contexto o objetivo deste trabalho foi caracterizar as modificações morfofisiológicas e avaliar os atributos de produção de grãos em dois híbridos de milho contrastantes à seca em condições de campo. O experimento foi conduzido por dois anos e a deficiência hídrica foi imposta suspendendo a irrigação por 22 dias no pré-florescimento. No final do estresse foram avaliadas as seguintes características: teor de clorofila, porcentagem de folhas secas, área foliar, condutância estomática, fluorescência da clorofila e intervalo entre o florescimento masculino e feminino e os componentes de produção. Para melhor interpretação da tolerância dos híbridos nas características avaliadas, um índice foi utilizado (valor relativo de tolerância, RVT). O híbrido DKB 390 (tolerante) superou o BRS 1030 (sensível) na produção de grãos. Além disso, ele apresentou menor porcentagem de folhas secas, maior sincronismo das inflorescências, maior condutância estomática e maior relação Fv/Fm. Conclui-se que ocorreram significativas modificações morfofisiológicas e morfoanatômicas relacionadas à tolerância à seca no DKB 390, as quais resultaram em maior produtividade no campo.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., estresse hídrico, condutância estomática, índice de colheita.

### **Introdução**

Apesar de necessários alguns requisitos para utilização, as características fisiológicas (ou secundárias) podem ser utilizadas na seleção, pois estas podem aumentar a precisão na identificação de genótipos superiores nesse ambiente (Araus et al., 2011). Na região Norte do Estado de Minas, na cidade de Janaúba, a falta de chuva limita a produção vegetal sendo o cultivo em certas épocas possível apenas com irrigação. Por isso essa região tem sido bastante importante para estudos com seca, pois permite o entendimento da deficiência hídrica e a busca de genótipos tolerantes. Vale ressaltar também que as respostas das plantas ao estresse hídrico observado em condições de campo são geralmente muito mais complexas do que as medidas sob condições ambientais controladas, porque outros fatores acompanham o déficit hídrico influenciando a natureza da resposta do estresse (Lopes et al., 2011).

Dentro deste contexto os objetivos deste trabalho foram caracterizar as modificações morfofisiológicas e avaliar os atributos de produção de grãos em dois híbridos de milho contrastantes ao estresse de seca em condições de campo em Janaúba-MG.

### **Material e Métodos**

Foram utilizados dois híbridos contrastantes ao estresse de seca: DKB 390 (tolerante) BRS 1030 (sensível), esse último oriundo do Programa de Melhoramento da Embrapa. O ensaio foi conduzido nos anos de 2010 e 2011 em condições de campo na estação experimental de Janaúba, Minas Gerais, localizada a 15°47' de latitude S, longitude 43°18' W e 516 m de altitude. As médias de temperatura máxima, temperatura mínima e umidade relativa são representadas na Fig. 1. A precipitação pluviométrica foi praticamente zero com exceções para os meses de setembro (0.5 mm) outubro (19.7 mm) em 2010 e os meses de maio (1.3 mm) e outubro (2.5 mm) de 2011 (dados não mostrados).

As plantas foram irrigadas regularmente mantendo uma ótima umidade do solo até a imposição do estresse. O teor de água no solo foi monitorado diariamente nos períodos da manhã e da tarde (9 e 15 horas), com o auxílio de um sensor de umidade *watermark* (tensiômetro) modelo 200SS – 5'' (IRROMETER, Califórnia – USA), instalado no centro das parcelas de cada repetição, na profundidade de 20 cm.

No pré-florescimento, foram impostos dois tratamentos hídricos: irrigado e estressado. No primeiro, a reposição hídrica foi realizada diariamente até o solo atingir a umidade próxima a CC, enquanto no segundo tratamento não houve reposição hídrica. Esse estresse foi mantido por 22 dias. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro tratamentos (DKB 390 irrigado e estressado, BRS 1030 irrigado e estressado) e cinco repetições. As dimensões da parcela experimental foram de 6m x 5,4m; com 6 fileiras de plantio, espaçadas de 0,90m, perfazendo uma área total de 32,4 m<sup>2</sup>. As duas fileiras externas foram utilizadas como bordadura, enquanto as duas centrais para a coleta de dados de produtividade e as duas intermediárias para as avaliações morfofisiológicas, realizadas no final da imposição do estresse.

A característica de senescência foliar foi avaliada através da porcentagem de folhas secas. O teor relativo de clorofila (unidades de *spad*) foi determinado na folha bandeira utilizando um clorofilometro (*Model SPAD 502*, Minolta, Japan), sendo realizadas 10 leituras por planta. A concentração de clorofila total em ug mL<sup>-1</sup>, obtida, foi feita através de curvas de calibrações para cada híbrido de leituras de *spad* e teor de clorofila total pelo método de Arnon

(1949). A área foliar (AF) foi estimada pela medição do comprimento (C) e largura (L) de todas as folhas que apresentavam pelo menos 50% de sua área verde. O intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF) foi calculado como a diferença, em dias, entre o florescimento masculino e feminino.

A condutância estomática foliar foi obtida através de um porômetro (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA). Cinco leituras por folha por repetição foram feitas entre 8 e 10h da manhã na folha bandeira. A eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) foi determinada em folhas adaptadas ao escuro por meio de um fluorímetro (Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments King's Lynn, UK).

Na colheita os seguintes dados foram analisados: rendimento de grãos (RG), peso de 100 sementes (P100) e índice de colheita (IC) [peso seco do grão/(peso seco da planta+peso seco do grão)\*100].

Para todos os parâmetros analisados foram calculadas as médias e o  $\pm$  erro padrão (SE). Para análise estatística dos resultados, utilizou-se a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 0,05% de significância ( $P < 0.05$ ), no programa Sisvar versão 4.3. Para expressar a tolerância de cada híbrido foi criado um índice: valor relativo de tolerância (RVT), em que os valores de cada característica avaliada na condição estressada foram divididos pelos valores da condição irrigada (Souza et al., 2011).

## **Resultados e Discussão**

Com relação à porcentagem de folhas secas, apenas no ano de 2010 ocorreram diferenças entre os tratamentos, sendo que os estressados resultaram em maior porcentagem de folhas secas (Tabela 1). Ressalta-se que o valor relativo de tolerância (RVT) para porcentagem de folhas secas foi maior para o BRS 1030 estressado nos dois anos de avaliação. Não houve diferenças entre os tratamentos nos dois anos de condução dos ensaios para a concentração de clorofila total (CT), contudo, o BRS 1030 apresentou, principalmente no ano de 2010, maior RVT (Tabela 1).

A senescência foliar é um dos primeiros sintomas visíveis a serem observados em estresse de seca (Smit e Singels, 2006). O híbrido DKB 390 apresentou menor RVT para porcentagem de senescência foliar, contudo, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos para a concentração de clorofila total (CT), observou-se maior valor do RVT no BRS 1030. Esta senescência da folha pode ser causada por uma maior degradação dos pigmentos pelas espécies reativas de oxigênio (ERO), que em condição de déficit hídrico

tem sua produção aumentada (Karuppanapandian et al., 2011). Híbridos tolerantes tendem a ter um maior sistema antioxidante (Moussa e Abdel-Aziz, 2008) podendo ser a razão de menor senescência no DKB 390.

O DKB 390 estressado apresentou menor média para área foliar (AF) e o BRS 1030 irrigado a maior no ano de 2010 (Tabela 1). Já no ano de 2011, o BRS 1030 irrigado foi significativamente maior do que o restante dos tratamentos. Quanto ao valor relativo de tolerância (RVT) para AF, observa-se que o BRS 1030 apresentou maior valor no ano de 2010. O estresse hídrico significativamente afetou o intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF) nos anos de 2010 e 2011 (Tabela 2). No primeiro ano de avaliação observou-se que o BRS 1030 apresentou maior IFMF, sendo que o DKB 390 apresentou menor RVT no primeiro e segundo ano de avaliação. Menor área foliar (AF) encontrada no DKB 390 pode diminuir a superfície de transpiração foliar ajudando na sobrevivência da planta pela manutenção e controle do uso da água frente ao estresse hídrico (Shao et al., 2008).

O intervalo entre o florescimento masculino e feminino vem sendo uma das principais características secundárias para discriminar genótipos de milho em programas de melhoramento para a seca. Definitivamente, no ano de 2010 houve uma maior falta de sincronismo entre as inflorescências no BRS 1030 sendo, portanto, um dos fatores que podem ter afetado a produção neste híbrido (Dubey et al., 2010).

Nos dois anos agrícolas a maior condutância estomática ( $g_s$ ) foi encontrada nos tratamentos irrigados enquanto que para os estressados, no ano de 2010, o BRS 1030 apresentou a menor  $g_s$  (Tabela 2). O DKB 390 se destacou com maior RVT nos dois anos. O BRS 1030 estressado resultou na menor eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) no ano de 2010 e no ano de 2011 não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Tabela 2). Na avaliação do RVT nos anos de 2010 e 2011, o DKB 390 também apresentou maior valor.

De acordo com Mutava et al. (2011), genótipos tolerantes à seca com altos rendimentos têm sido identificados pelo resfriamento do dossel através de uma maior condutância estomática. Uma significativa diminuição na relação Fv/Fm foi verificada no BRS 1030. Com o aumento do déficit hídrico, as folhas murcham devido ao fechamento dos estômatos, a fotossíntese decresce e a atividade fotoquímica é perdida (danos no fotossistema) devido ao excesso de energia. Assim, a relação Fv/Fm é um dos principais parâmetros utilizados para as avaliações dos danos no sistema fotossintético, uma vez que a eficiência quântica máxima do fotossistema II indica quando todos os centros de reação estão abertos

(Baker e Rosenqvist, 2004).

Na Tabela 3 pode-se verificar que o estresse no primeiro ano de avaliação (2010) levou a menores rendimentos de grãos (RG) do que no segundo ano (2011). Nos dois anos o BRS 1030 estressado apresentou menor RG e menor RVT do que o DKB 390 estressado (Tabela 4). Na avaliação do peso de 100 sementes (P100) observou-se que os tratamentos estressados foram menores do que os irrigados no ano de 2010 e não houve diferenças no ano de 2011 e nem na avaliação do RVT (Tabela 3). Já para o índice de colheita (IC), no ano de 2010, BRS 1030 estressado apresentou menor valor e não houve diferenças entre os tratamentos no ano de 2011 (Tabela 3). Com relação ao RVT para o IC nos dois anos o DKB 390 apresentou maior valor sendo a diferença mais discreta no segundo ano.

Os resultados encontrados no DKB 390 para o rendimento de grãos (GY) nos dois anos de avaliação confirmaram maior tolerância em relação ao BRS 1030. Um dos motivos que podem ter levado a um melhor rendimento no DKB 390 é o aumento do índice de colheita (HI), ou seja, uma maior alocação diferencial de fotoassimilados para a espiga durante seu ciclo de vida. Esta diferença na alocação entre os híbridos realça ainda mais a ideia de que milhos tropicais são fortemente limitados pelo dreno (Borrás et al., 2004).

Finalmente conclui-se que a seca afetou significativamente os híbridos de milho estudados, sendo que o DKB 390 apresentou modificações nos caracteres morfofisiológicos, os quais favoreceram sua sobrevivência em ambientes com deficiência hídrica resultando consequentemente em maior produtividade.

### **Literatura citada**

Araus J.L., Sánchez C, Edmeades G.O., 2011. Phenotyping maize for adaptation to drought. In: Monneveux P., Ribaut, J-M., eds. Drought phenotyping in crops: from theory to practice. CGIAR Generation Challenge Programme, Texcoco, México, pp. 263–283

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24, 1–15.

Baker, N.R., Rosenqvist, E., 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. J. Exp. Bot. 55, 1607-1621.

Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: quantitative reappraisal. Field Crop Res. 86, 131–146.

Dubey, L., Prasanna, B.M., Hossain, F., Verma, D.K., Ramesh, B., 2010. Phenotypic evaluation of a set selected exotic maize inbred lines for drought stress tolerance. Indian J. Genet. Plant Breeding 70, 355–362.

Karuppanapandian, T., Moon, J-C., Kim, C., Manoharan, K., Kim, W., 2011. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 709–725.

Moussa, H.R., Abdel-Aziz, S.M., 2008. Comparative response of drought tolerant and sensitive maize genotypes to water stress. *Aust. J. Crop Sci.* 1, 31–36.

Mutava, R.N., Prasad, P.V.V., Tuinstra, M.R., Kofoid, K.D., Yu, J., 2011. Characterization of sorghum genotypes for traits related to drought tolerance. *Field Crop Res.* 123, 10–18.

Shao, H., Chu, L., Jaleel, C.A., Zhao, C., 2008. Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *C. R. Biol.* 331, 215–225.

Smit, M.A., Singels, A., 2006. The response of sugarcane canopy development to water stress. *Field Crop Res.* 98, 91–97.

Souza, T.C., Magalhães, P.C., Pereira, F.J., Castro, E.M., Parentoni, S. N., 2011. Morpho-physiology and maize grain yield under periodic soil flooding in successive selection cycles. *Acta Physiol. Plant.* 33, 1877–1885.

**Tabela 1** Porcentagem de folhas secas, concentração de clorofila total (CT), área foliar (AF) e seus respectivos RVT durante a imposição do estresse hídrico em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030)

Tratamentos/ano	Folhas secas (%)		CT ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		AF ( $\text{cm}^2$ )	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011
<b>DKB estressado</b>	22.88±2.9 a	19.06±1.4 a	6,00±4.0 a	8.28±3.0 a	5312±1269 c	6488±900 b
<b>BRS estressado</b>	23.68±1.1 a*	19.98±3.6 a	9,28±2.8 a	11.00±2.3 a	7081±1300 b	7701±950 b
<b>DKB irrigado</b>	13.51±2.5 b	15.96±5.0 a	9,05±3.6 a	8.59±3.0 a	7198±800 b	7071±410 b
<b>BRS irrigado</b>	12.52±3.0 b	11.60±4.0 a	12,59±5.5 a	11.31±4.0 a	8370±364 a	8544±221 a
<b>RVT DKB</b>	1.69	1.50	0.66	0.94	0.74	0.91
<b>RVT BRS</b>	1.89	1.72	0.73	0.95	0.83	0.90

\* Médias seguidas por mesma letra nas colunas para os tratamentos não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ( $P < 0.05$ ). Cada valor indica a média do tratamento  $\pm$ S.E. RVT = valor relativo de tolerância (estressado/irrigado)

**Tabela 2** Intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), condutância estomática ( $g_s$ ), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) e seus respectivos RVT durante a imposição do estresse hídrico em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030)

Tratamentos/ano	IFMF		$g_s$ ( $\text{mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ )		Fv/Fm	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011
<b>DKB estressado</b>	2.50±0.8 <b>b</b>	2.75±1.0 <b>a</b>	44.5±5.0 <b>b</b>	67.0±30 <b>b</b>	0.74±0.4 <b>a</b>	0.74±1.4 <b>a</b>
<b>BRS estressado</b>	4.25±0.5 <b>a*</b>	3.00±0.6 <b>a</b>	21.1±1.8 <b>c</b>	50.0±23 <b>b</b>	0.63±0.3 <b>b</b>	0.70±1.6 <b>a</b>
<b>DKB irrigado</b>	1.50±0.5 <b>c</b>	1.50±0.8 <b>b</b>	198±16 <b>a</b>	205±25 <b>a</b>	0.77±0.2 <b>a</b>	0.79±5.0 <b>a</b>
<b>BRS irrigado</b>	1.75±1.0 <b>c</b>	1.50±0.5 <b>b</b>	235±25 <b>a</b>	210±40 <b>a</b>	0.78±0.3 <b>a</b>	0.79±4.0 <b>a</b>
<b>RVT DKB</b>	1.69	1.50	0.26	0.33	0.96	0.90
<b>RVT BRS</b>	1.89	1.72	0.05	0.25	0.80	0.85

\* Médias seguidas por mesma letra nas colunas para os tratamentos não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ( $P < 0.05$ ). Cada valor indica a média do tratamento  $\pm$ S.E. RVT = valor relativo de tolerância (estressado/irrigado)

**Tabela 3** Rendimento de grãos (RG), peso de 100 sementes (P100), índice de colheita (IC) e seus respectivos RVT durante a imposição do estresse hídrico em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030)

Tratamentos/ano	RG ( $\text{Kg ha}^{-1}$ )		P100 (g)		IC	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011
<b>DKB estressado</b>	2.963±230 <b>b</b>	7.063±149 <b>b</b>	32.12±0.8 <b>b b</b>	40.70±02 <b>a</b>	0.30±0.03 <b>b</b>	0.37±0.1 <b>a</b>
<b>BRS estressado</b>	2.204±110 <b>c*</b>	5.980±113 <b>c</b>	32.47±0.5 <b>b</b>	37.60±01 <b>a</b>	0.20±0.01 <b>c</b>	0.35±0.1 <b>a</b>
<b>DKB irrigado</b>	7.674±209 <b>a</b>	9.600±750 <b>a</b>	36.01±0.5 <b>a</b>	40.80±01 <b>a</b>	0.43±0.05 <b>a</b>	0.44±0.09 <b>a</b>
<b>BRS irrigado</b>	6.725±410 <b>a</b>	8.962±160 <b>a</b>	36.54±0.2 <b>a</b>	39.21±0.4 <b>a</b>	0.40±0.03 <b>a</b>	0.40±0.05 <b>a</b>
<b>RVT DKB</b>	0.42	0.74	0.89	0.89	0.69	0.82
<b>RVT BRS</b>	0.33	0.66	0.89	0.88	0.50	0.80

\* Médias seguidas por mesma letra nas colunas para os tratamentos não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ( $P < 0.05$ ). Cada valor indica a média do tratamento  $\pm$ S.E. RVT = valor relativo de tolerância (estressado/irrigado)