

**DESENVOLVIMENTO RADICULAR E CARACTERIZAÇÃO  
FISIOLÓGICA DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA EFICIENTES E  
INEFICIENTES NO USO DA ÁGUA**

**JHEAN TORRES LEITE**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2019**

DESENVOLVIMENTO RADICULAR E CARACTERIZAÇÃO  
FISIOLÓGICA DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA EFICIENTES E  
INEFICIENTES NO USO DA ÁGUA

**JHEAN TORRES LEITE**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Orientador: Prof. Antonio Teixeira do Amaral Junior

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2019

## FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

L533

Leite, Jhean Torres.

DESENVOLVIMENTO RADICULAR E CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA EFICIENTES E INEFICIENTES NO USO DA ÁGUA / Jhean Torres Leite. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

74 f. : il.

Bibliografia: 48 - 57.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.

Orientador: Antonio Teixeira do Amaral Junior.

1. Seca. 2. Raízes. 3. Fotossíntese. 4. Estresse abiótico. 5. Melhoramento vegetal.  
I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233


DESENVOLVIMENTO RADICULAR E CARACTERIZAÇÃO  
FISIOLÓGICA DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA EFICIENTES E  
INEFICIENTES NO USO DA ÁGUA

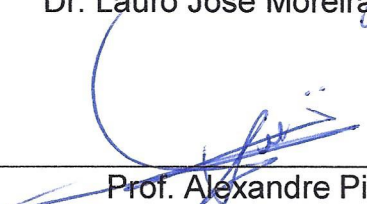
**JHEAN TORRES LEITE**


“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”.


Aprovada em 12 de março de 2019.

Comissão Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Lauro José Moreira Guimarães (D.Sc., Genética e Melhoramento)  
EMBRAPA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Marcelo Vivas (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc., Genética e Melhoramento) - UENF  
(Orientador)

**A Deus** por me dar a benção da vida e permitir que eu realizasse esse trabalho.

**À minha família**, em especial aos meus amados pais Joaquim e Carla e ao meu irmão Joaquim Junior.

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, pela infraestrutura e possibilidade de realizar o curso;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) pela concessão de bolsas e auxílios;

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, na pessoa da professora Telma Nair Santana Pereira;

Ao meu orientador Antônio Teixeira do Amaral do Junior, pela dedicação, apoio, orientação e amparo;

Aos professores Marcelo Vivas e Eliemar Campostrini, pela coorientação nesse estudo;

Ao Grupo de Melhoramento em Milho-Pipoca, representado por Pedro, Fernando, Ismael, Yure, Fábio, Valdinei, Gabrielle, Juliana, Shahid, Carolina, Rosimeire, Talles, pelo apoio, dedicação e amparo;

Aos bons amigos Tiago, Bruno, Valter, Samuel, Divino, Flávia, Ravena e Rafaela, pelo carinho, momentos de descontração e amparo;

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, José Daniel Valle de Almeida;

Aos colegas do curso de mestrado;

A todos, meu muito obrigado!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL.....	5
2.1 Objetivos específicos.....	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1 Aspectos gerais da cultura.....	6
3.2 Estresse por deficit hídrico em milho .....	8
3.3 Fisiologia e morfologia de raiz em resposta ao estresse hídrico .....	10
3.4 Melhoramento genético para tolerância ao deficit hídrico em milho .....	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1 Condições experimentais.....	14
4.2 Genótipos .....	15
4.3 Delineamento experimental .....	16
4.4 Preparo do ensaio, semeadura e tratamentos culturais .....	17
4.5 Características avaliadas.....	18
4.5.1 Avaliações morfológicas .....	18
4.5.2 Avaliações fisiológicas .....	19
4.6 Análises estatísticas .....	20
4.7 Estimativa da heterose relativa nos híbridos F <sub>1</sub> .....	20
4.8 Análise de trilha .....	21



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
5.1 Análise de variância conjunta .....	22
5.2 Análise de variância individual.....	22
5.2.1 Características morfológicas.....	22
5.2.2 Características fisiológicas.....	28
5.2.3 Características radiculares.....	31
5.3 Análise de trilha com características morfofisiológicas.....	34
5.3.1 Correlações genotípicas .....	34
5.3.2 Efeitos diretos e indiretos entre variáveis da primeira cadeia	37
5.3.3 Efeitos diretos e indiretos entre as variáveis selecionadas DF e	
caracteres fisiológicos de segunda cadeia .....	39
5.3.4 Efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas de segunda	
cadeia sobre a variável principal CR, via DC.....	41
6. CONCLUSÕES.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

## RESUMO

Leite, Jhean Torres; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2019. Desenvolvimento radicular e caracterização fisiológica de linhagens de milho-pipoca eficientes e ineficientes no uso da água. Orientador: Prof. Antonio Teixeira do Amaral Júnior. Conselheiros: Prof. Eliemar Campostrini e Prof. Marcelo Vivas.

A restrição hídrica revela-se como o estresse abiótico de potencial mais danoso à agricultura, gerando inúmeras perdas na produção de alimentos. Programas de melhoramento genético de milho-pipoca devem compreender as respostas morfofisiológicas das plantas sob condição de estresse, no intento de se praticar, de forma eficiente, seleção para maior tolerância à seca. Para tanto, objetivou-se caracterizar linhagens de milho-pipoca eficientes e ineficientes no uso de água quanto a atributos radiculares e fisiológicos. Foram utilizadas linhagens eficientes (P2 e P3) e ineficientes no uso de água (L61 e L63), assim como dois híbridos oriundos do cruzamento entre essas linhagens (P2xL61 e P3xL63), sob dois regimes hídricos distintos (bem irrigado – WW; e estresse hídrico – WS). O experimento foi conduzido em esquema fatorial (6x2), com cinco repetições, em casa de vegetação localizada na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Cada unidade experimental foi composta por tubos de PVC, com diâmetro de 0,20 e 1,00 m de comprimento, com uma planta por tubo. As plantas receberam irrigação plena até o estágio V6; a partir desse

período, foi imposto o estresse, com a suspensão da irrigação. Foram avaliadas as seguintes características: largura de folha (DF); comprimento de folha (CF); altura média de plantas (AP); comprimento de raiz (CR); ângulo (ARS), número (NRS) e densidade (DRS) de raízes de suporte e da coroa (ARC, NRC e DRC, respectivamente); diâmetro de colmo (DC); área foliar (AF); massa da matéria seca de raízes (MSR), de colmo (MSC) e de folhas (MSF); relação biomassa da parte aérea e raiz (PA/R); eficiência agrônômica no uso da água (EAUA); “pegada hídrica” (PH); teor relativo de clorofila (SPAD); taxa fotossintética líquida (A); taxa de transpiração (E); taxa da condutância estomática (gs); deficit de pressão de vapor folha/ar ( $DPV_{\text{folha/ar}}$ ); concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ); relação entre a concentração interna e externa de  $CO_2$  ( $C_i/C_a$ ); fluorescência da clorofila ( $F_v/F_m$ ) e temperatura foliar (TF). Foram feitas análises de variância individual e conjunta e calculadas as estimativas de heterose relativa e análise de trilha. A análise de variância conjunta revelou diferença significativa para a maioria das características. O desdobramento da variância entre os grupos genitores (eficientes x ineficientes x híbridos) revelou superioridade das linhagens eficientes – P2 e P3, sobretudo para CR, MSR e A no ambiente WS. As características mais expressivas nas estimativas de heterose – MSC, DF, CF e EAUA – expressaram valores de 20,82 %, 13,35 %, 10,55 % e 12,16 %, respectivamente. A análise de trilha revelou efeito direto e positivo para as características A e SPAD, na trilha via DC, para o ambiente com estresse hídrico. As características CR, MSR, A e SPAD foram as principais variáveis que influenciaram a caracterização radicular e fisiológica das linhagens e híbridos testados nesse experimento. Contudo, novos estudos com características relacionadas a características do sistema radicular em programas de melhoramento com milho-pipoca são importantes para direcionar demais experimentos visando à fidedigna seleção de genótipos eficientes no uso da água.

**Palavras-chave:** Seca, raiz, fotossíntese, Estresse abiótico, Melhoramento vegetal.

## **ABSTRACT**

Leite, Jhean Torres; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March 2019. Radicular and physiological expression of efficient and inefficient lines of popcorn in water use. Advisor: Antonio Teixeira do Amaral Júnior. Co-advisors: Prof. Eliemar Campostrini and Prof. Marcelo Vivas.

The water restriction reveals itself as the most potential abiotic stress that is harmful to agriculture, abiotic stress of potential most harmful to agriculture, generating numerous losses in food production. Genetic and breeding program of popcorn should understand the morphophysiological responses of plants under stress conditions, in order to ensure that selection is practiced efficiently. The objective of this study was to characterize efficient and inefficient popcorn inbred lines in the use of water for root and physiological attributes. Efficient inbred lines (P2 and P3) and water-inefficient inbred lines (L61 and L63) were used, as well as two hybrids from the crossing of these lineages (P2xL61 and P3xL63) under two different water regimes (well-watered – WW and water-stressed – WS). Each experimental unit was composed of Polyvinyl chloride (PVC) tubes, with a diameter of 0.20 and 1.00 m in length, with one plant per tube. The experiment was conducted in a factorial design (6x2), with five replications, in a greenhouse located at the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF. The plants received full irrigation until the V6 stage; from that period, stress was applied. The following characteristics were evaluated: leaf width (LW); leaf length (LL); plant height (PH); root length (RL); root angle (ARS), number (NRS) and density (DRS) of support

roots and crown (ARC, NRC and DRC, respectively); stem diameter (DC); leaf area (FA); root dry mass (RDM), stalk (SDM) and leaf dry mass (LDM); shoot dry mass and shoot root ratio (SDMS/SDMR); water use efficiency (WUE); "Water footprint" (WF); relative chlorophyll content (SPAD); liquid photosynthetic rate (A); transpiration rate (E); stomatal conductance rate (gs); leaf / air vapor pressure deficit ( $VPD_{leaf/air}$ ); internal CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>i</sub>); relation between internal and external CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>); chlorophyll fluorescence (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) and foliar temperature (FT). Analyses of individual and joint variance were performed. In addition, estimates of relative heterosis and track analysis were calculated. The analysis of joint variance revealed a significant difference for most of the characteristics. The split of variance between the groups revealed superiority of the efficient inbred lines – P2 and P3, especially for RL, RDM and A in the WS environment. The most expressive characteristics in the estimates of heterosis were - SDM, LD, LL and WUE - expressed values of 20.82%, 13.35%, 10.55% and 12.16%, respectively. The track analysis revealed a direct and positive effect for the characteristics A and SPAD, in the pathway through LL, for WS environment. The characteristics RL, RDM, LW A and SPAD were the main variables for the determination of the root and physiological expression of the inbred lines and hybrids tested in this experiment. However, new studies with characteristics related to the expression of the root system in breeding programs with popcorn become important to direct other experiments aiming at the reliable selection of tolerant and efficient genotypes that use water efficiently.

**Key-words:** Drought, root, photosynthesis, Abiotic stress, Plant breeding.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca (*Zea mays L. var. Everta*) é de grande interesse comercial, por se tratar de um alimento nutritivo e de baixo custo, consumido *in natura* ou na forma industrializada em diversas ocasiões, mas, sobretudo, nas salas de cinema (Amaral Júnior et al., 2013; Lima et al., 2016). Constatado o aumento do consumo desse cereal bem como de alguns dos seus segmentos industriais, torna-se necessário expandir a área de cultivo e disponibilizar cultivares mais adaptadas para atender à crescente demanda (Catapatti et al., 2008; Freitas Junior et al., 2009; Vieira et al., 2016). Há um vasto mercado a ser explorado pelos profissionais que trabalham com a cultura do milho-pipoca no país, haja vista que a maior parte das sementes e grãos consumidos no Brasil se originada de importação, principalmente, dos Estados Unidos e da Argentina (Miranda et al., 2012; Silva et al., 2012; Ribeiro et al., 2016).

No Brasil, a estimativa de produção de milho no ano agrícola 2018/2019 é de 94,50 milhões de toneladas, especulando-se que 29,00 mil toneladas sejam exportadas (CONAB). Em se tratando de milhos especiais, em específico o milho-pipoca, não há estudos relatando sua produção nacional, no entanto, por estimativas de mercado, o Estado do Mato Grosso (MT) caracteriza-se como o maior produtor do país, com, aproximadamente, 252 mil toneladas produzidas em 60 mil hectares, representando mais de 80 % da produção nacional (IBGE, 2018).

Para elevar a produção das culturas agrícolas, são necessárias cultivares de elevado potencial agrônômico e condições favoráveis ao pleno desenvolvimento da

espécie. As mudanças climáticas ocorridas nos últimos anos têm provocado instabilidade no cenário agrícola (Izumi e Ramankutty, 2016). Fundamentadas no aumento de temperatura e irregularidade de chuvas, as mudanças climatológicas, além da queda de produção, promovem a modificação do zoneamento agroclimático (Schleussner et al., 2018). A seca é, inquestionavelmente, o principal fator preocupante nessa relação, pois, embora a seleção natural tenha favorecido mecanismos de adaptação e sobrevivência, ainda há inequívoca necessidade de selecionar genótipos adaptados e produtivos à condição de estresse hídrico (Zipper et al., 2016).

Em se tratando de tolerância a ambientes com escassez hídrica, o milho é o terceiro cereal em importância, sendo superado hierarquicamente apenas pelo trigo e arroz (Ali et al., 2014). A disponibilidade de água tornou-se um sério problema, ocorrendo em nível global em inúmeras regiões de clima tropical e subtropical (Durães et al., 2004; Ogliari et al., 2007; Zia et al., 2013; Adebayo et al., 2014). Esses autores citam a desuniformidade dos solos, drenagem ineficaz do sistema, bem como a escassez de água, como os principais fatores limitantes ao desenvolvimento normal das culturas. O desenvolvimento de cultivares mais tolerantes ao estresse abiótico de maior importância, déficit hídrico, revela-se de fundamental importância, visto 80 % de todas as terras agricultáveis no mundo serem dependentes da precipitação pluviométrica (Ali et al., 2017).

Partindo dessa premissa, alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com ganhos significativos na compreensão das respostas fisiológicas e moleculares para adaptação ao déficit hídrico (Osakabe et al., 2014a; Osakabe et al., 2014b; Fang e Xiong, 2015; Ali et al., 2017; Kamphorst et al., 2018b). Vale salientar a importância da seleção indireta por meio de características relacionadas à produção, que também estariam vinculadas à adaptação aos ambientes com escassez de chuvas, a exemplo de: tamanho de planta, área foliar, precocidade, fechamento estomático prolongado, temperatura foliar, arquitetura e comprimento de raiz (Araus et al., 2002; Cattivelli et al., 2008).

A caracterização dos acessos genéticos é primordial para selecionar genótipos tolerantes ao estresse e/ou eficientes agronomicamente no uso da água e esclarecer a ação do ambiente sobre as plantas. No entanto, existem diversos desafios enfrentados nessa etapa do processo, haja vista que a capacidade de tolerar um ambiente adverso envolve inúmeros genes, sendo manifestada por

respostas morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares (Nemali et al., 2015). Para isso, as técnicas de fenotipagem, pelo uso de aparelhos acessíveis, baratos e portáteis, têm se revelado uma estratégia eficiente na compreensão da tolerância ao estresse hídrico. Estudos relacionados vêm sendo conduzidos com ganhos significativos na compreensão das respostas morfofisiológicas para adaptação ao déficit hídrico (Osakabe et al., 2014a; Fang e Xiong, 2015). Gao e Lynch, (2016), tendo sido esclarecido o ideótipo radicular designado por “íngreme, barato e profundo”, o qual está relacionado ao maior ângulo de crescimento da raiz em relação à superfície do solo, com menor gasto metabólico para o desenvolvimento do sistema radicular e exploração mais eficiente de regiões subsuperficiais.

A seleção de um sistema radicular profundo e extenso tem sido preconizada para aumentar a produtividade de inúmeras culturas sob condições de déficit hídrico, uma vez que possibilita otimizar a capacidade de absorção de água (Witcombe et al., 2008). Esse estudo é dificultado nos experimentos a campo por impedir o desenvolvimento do sistema radicular, associado às características físicas do solo, além de danos às raízes durante a sua coleta.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF vem desenvolvendo um programa de melhoramento de milho-pipoca com diferentes vertentes, entre as quais se inclui a adaptação de genótipos ao estresse hídrico (Kamphorst et al., 2018b), cuja parceria com a EMBRAPA/Sete Lagoas, com a Universidad de Talca (Chile) e com a Universitat de Barcelona (Espanha) vem potencializando a perspectiva de resultados alvissareiros.

O grupo de pesquisa em melhoramento genético de milho-pipoca da UENF desenvolveu um estudo envolvendo a adaptação ao estresse hídrico em genótipos presentes no Banco de Germoplasma da UENF, avaliando as características morfológicas florescimento masculino e feminino, tamanho e número de ramificação de pendão e ângulo foliar e os atributos fisiológicos – índice de verde, senescência foliar por meio de assinatura espectral, e índice de estresse hídrico da cultura (diferença entre a temperatura do ambiente e do dossel). Na tentativa de explicar a variabilidade genética observada no rendimento de grãos e nos atributos fisiológicos, foram aferidas as características arquitetônicas de raízes, ou seja, número de anéis de raízes adventícias, número, densidade e ângulo das raízes adventícias, de suporte e da coroa (Kamphorst et al., 2018b).



De posse de estimativas de médias dos caracteres morfoagronômicos, dos atributos fisiológicos e da arquitetura de raízes, o grupo de pesquisa com melhoramento de milho-pipoca da UENF utilizou técnicas multivariadas para elencar genótipos classificados como eficientes, intermediários e ineficientes no uso da água (Kamphorst et al., 2018b). A título de informação, a redução média da produtividade de grãos foi de 55,0 % e da capacidade de expansão, de 29,0 %. Em valores absolutos, isto significa redução no rendimento de grãos e da capacidade de expansão de 2.548,08 kg.ha<sup>-1</sup> e 29,53 mL.g<sup>-1</sup>, obtidos no ambiente irrigado, para 1.139,11 kg.ha<sup>-1</sup> e 20,91 mL.g<sup>-1</sup>, respectivamente, observados no ambiente com deficiência hídrica. Nesse contexto, as linhagens P2, P3, P6 e P7, de adaptação climática temperada/tropical, foram classificadas como genótipos mais eficientes no uso da água; e as linhagens L61, L63, L65 e L75, de adaptação climática tropical, foram classificadas como ineficientes no uso da água (Kamphorst et al., 2018a).

Esses resultados encorajam a equipe a dar prosseguimento aos estudos nesta importante linha de pesquisa, com o intento de compreender a resposta radicular de genótipos quando submetidos ao deficit hídrico e, mesmo, ir além, como, por exemplo, investigar as relações fisiológicas que influenciam ou determinam a superioridade de genótipos previamente caracterizados como eficientes e ineficientes no uso da água.

## 2. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar linhagens e híbridos de milho-pipoca eficientes e ineficientes no uso da água quanto a atributos radiculares e fisiológicos em condições controladas e contrastantes de disponibilidade hídrica.

### 2.1 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar características morfológicas do sistema radicular e da parte aérea em regime de *stress* hídrico e de condições de boa disponibilidade de água;
- ✓ Avaliar características fisiológicas em linhagens e híbridos de milho pipoca sob ambiente de *stress* hídrico e de boa disponibilidade de água, para investigar a adaptação ao deficit hídrico; e
- ✓ Estimar parâmetros genéticos nas linhagens e  $F_{1s}$  relacionados a características vinculadas à eficiência no uso da água.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Aspectos gerais da cultura

O milho-pipoca (*Zea mays* L. var. *Everta*), pertence à família Poaceae, sub-família Panicoideae, tribo Maydeae. É espécie de crescimento herbáceo, anual e monoica. Via de regra, o milho-pipoca apresenta menor porte, grãos menores, maior fragilidade em seus órgãos vegetativos, susceptibilidade a pragas e doenças, maior prolificidade e menor número de folhas, quando comparado ao milho comum (Sawazaki, 2001). Contudo, a principal característica que distingue os dois tipos de milho é a capacidade de expansão (CE) que ocorre com o milho-pipoca em condições específicas (Linares, 1987; Larish e Brewbaker, 1999).

O milho-pipoca tem como origem o Sul do México e a América Central, incluindo as Antilhas (Vavilov, 1951), tendo sido utilizado pelos indígenas da América Central e do Norte (Flint-Garcia, 2017). Trata-se de uma cultura americana típica, que, segundo estudos arqueológicos, tem enorme valor cultural (Luz et al., 2005), tendo sido responsável pela aglutinação de indígenas na realização de festas e adoração religiosa, bem como para os adeptos de cultos que exaltam divindades afrodescendentes (Blake, 2015); e, mais recentemente, nas salas de cinema (Gupta et al., 2016). Há duas teorias mais aceitas pelos historiadores sobre a origem do milho-pipoca. Uma delas o associa à genealogia do milho “flint” e a outra, que tenha surgido do teosinte, sendo modificado pelo homem, ao longo dos

anos, por seleção massal (Kantety et al., 1995; Heiser Jr, 1997; Matteucci et al., 2009; Kistler et al., 2018).

Segundo o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), milho-pipoca compreende os grãos provenientes da espécie *Zea mays* L., subespécie *mays*, com capacidade de estourar, transformando-se em pipoca quando submetido a temperatura superior a 180 °C. Essa propriedade intrínseca do milho-pipoca é caracterizada pelo aumento de pressão interna, que promove o extravasamento dos grânulos de amido em detrimento do pericarpo dos grãos, formando a “flor” da pipoca (Silva et al., 1993; Sawazaki, 2001).

A CE é um índice que relaciona o volume de pipoca estourada com a massa de grãos utilizada, expressa em mL.g<sup>-1</sup>. O milho-pipoca pode ser classificado em três tipos (Tipo I, II e III), de acordo com a capacidade de expansão dos grãos e o nível de contaminação aceito pela legislação, que considera a porcentagem de grãos danificados (carunchados, avariados, ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados, gessados, mofados, trincados), contaminantes micro e macroscópicos, substâncias nocivas à saúde e organismos geneticamente modificados (Brasil, 2014).

O MAPA considera o valor mínimo de 30 mL.g<sup>-1</sup> para a capacidade de expansão de uma amostra-padrão para comercialização de milho-pipoca. Altos índices de CE em milho-pipoca estão correlacionados com a qualidade do grão, sendo seu conhecimento muito útil no melhoramento, auxiliando na seleção prévia das plantas ou progênies com melhor qualidade da pipoca (Sawazaki, 2001). Entre as características que afetam a CE, destacam-se a quantidade e a distribuição do amido farináceo no endosperma, tamanho e formato dos grãos, tamanho da ponta do grão e do germe (Fantin et al., 1991; Sawazaki, 1995; Sawazaki, 2001). Alguns fatores, como a umidade presente nos grãos e o tipo de secagem, assim como danos sofridos no pericarpo e endosperma, podem interferir de forma a comprometer essa propriedade do milho-pipoca.

Juntamente com a capacidade de expansão, o rendimento de grãos tem grande importância para a cultura do milho-pipoca, sendo a característica agrônômica de maior interesse para os produtores. Existem três componentes essenciais que afetam mais diretamente o rendimento de grãos, quais sejam: o número de espigas por planta, o número de grãos por espiga e a massa de 100 grãos (Bortolini et al., 2001).

### 3.2 Estresse por deficit hídrico em milho

Em diversas espécies vegetais, observa-se redução ou paralisação da expansão celular quando ocorre estresse por deficiência hídrica, momento em que uma pequena redução no potencial de pressão causa, aparentemente, uma desaceleração do alongamento celular (Costa et al., 2008). O estresse hídrico reduz o turgor das células e, conseqüentemente, seu crescimento, além de limitar a atividade da redutase do nitrato e ocasionar um incremento na síntese de ácido abscísico, culminando com o fechamento estomático e a diminuição na assimilação de CO<sub>2</sub> (Hsiao et al., 1976; Taiz e Zeiger, 2015). A resposta da cultura do milho ao estresse hídrico é rápida, sinalizada pelo incremento no conteúdo de ácido abscísico (ABA), alterando o balanço osmótico que regula a transpiração, pela abertura e fechamento dos estômatos (Santos et al., 1998; Taiz e Zeiger, 2015).

Em uma condição de estresse nas plantas, ocorrem mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, entre elas, redução de tamanho e área foliar, maturidade precoce e fechamento estomático prolongado, o que leva à redução da transpiração e do potencial produtivo (Durães et al., 2004; Bergamaschi et al., 2006; Araus et al., 2012; Zia et al., 2013; Farooq et al., 2014; Binott et al., 2017).

O estresse por deficiência hídrica é o principal fator abiótico responsável pela queda de produção na cultura do milho, apresentando um período crítico, que se estende da pré-floração ao início do enchimento de grãos. Nessa fase fenológica, a sensibilidade da cultura ao deficit hídrico é observada nos processos fisiológicos relacionados à formação do zigoto, vez que no início do enchimento de grãos há elevada transpiração, em razão do maior índice de área foliar, podendo, por consequência, ocorrer o ressecamento dos estilo-estigmas, impedindo a fecundação de óvulos, o que resulta em aborto de óvulos e ou de grãos de pólen (Farooq et al., 2014).

Nesse contexto, as técnicas de fenotipagem, auxiliadas por dispositivos de baixo custo, portáteis e de fácil utilização, foram integradas no melhoramento de plantas para caracterização de genótipos tolerantes a escassez hídrica. Araus et al. (2018), destacam como desafios no uso de técnicas de fenotipagem: (i) a identificação rigorosa das prioridades, (ii) a montagem de perfis de marcadores, e

(iii) os objetivos a curto e longo prazo das pesquisas relacionadas às mudanças climáticas que atuam sobre a produção de alimentos.

A correlação significativa e positiva entre os caracteres maior rendimento de grãos e elevados índices de NDVI (Índice de Vegetação Normalizada por Diferença) é observada em alguns trabalhos (Araus et al., 2010; Lu et al., 2011; Adebayo et al., 2014). Segundo citações, a fase adequada de avaliação dos índices médios de NDVI para identificar as diferenças entre os genótipos, ocorre no estágio fenológico de enchimento de grãos (Zia et al., 2013; Adebayo et al., 2014). Zia et al. (2013) relatam também que o melhor estágio fenológico para observar a resposta ao estresse hídrico, via termografia, é a fase de enchimento de grãos.

Golbashy et al. (2010) conduziram experimentos para determinar os efeitos da seca sobre o rendimento de grãos e os componentes de rendimento em milho e relataram que a produção econômica de grãos do milho diminuiu significativamente em condições de seca. Essa redução de produção ocorreu pela diminuição no número de grãos por espiga e do número de espigas por planta, os componentes mais afetados em condição de estresse por déficit hídrico. Em geral, essa diminuição promove mudanças no balanço dos principais nutrientes requeridos pelos vegetais, diminuindo o conteúdo de nitrogênio e fósforo, sobretudo, na parte aérea (Garg, 2003; Farooq et al., 2009).

O milho é cultivado em clima tropical, subtropical e até mesmo temperado, quando se têm verões quentes. Em regiões tropicais, verifica-se que 95 % dos cultivos estão localizados em áreas sujeitas ao estresse por déficit hídrico, que causa queda de 10 a 50 % na produção, em 80 % da área cultivada (Edmeades et al., 1995; Pimentel, 1999; Fathi et al., 2016; Korres et al., 2016; Huffman et al., 2018). No Brasil, estima-se que 15 % das áreas agricultáveis sejam afetadas pela seca e as previsões climatológicas indicam que em 2050, a área favorável para plantio de milho deverá ser 15 % menor (Assad e Pinto; 2008, citado por Guimarães et al., 2013). Em estudos conduzidos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), constatou-se redução média de 55,0 % na produtividade de grãos; e de 29,0% na capacidade de expansão, em linhagens de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico (Kamphorst et al., 2018b). Em valores absolutos, isto significou redução no rendimento de grãos e de capacidade de expansão de 1.408,95 kg.ha<sup>-1</sup> e de 8,62 mL.g<sup>-1</sup>, respectivamente (Kamphorst et al., 2018b).

A exposição de plantas a estresses abióticos causa danos oxidativos às células, pela acumulação de espécies reativas de oxigênio, como radicais hidroxila, íons superóxido ou peróxidos de hidrogênio, gerados por células vivas como subprodutos do metabolismo celular (Gechev et al., 2006). A produção excessiva desses compostos em células de vegetais é prejudicial aos ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, podendo levar à morte celular (Gill e Tuteja, 2010).

Segundo Taiz e Zeiger (2015), há quatro enzimas - sacarose sintase, adenosinadifosfato-glicose-pirofosforilase, amido sintase e enzima de ramificação de amido - que desempenham papel fundamental nos principais processos fisiológicos nos vegetais. O crescimento vegetal é o principal processo fisiológico afetado na condição de déficit hídrico, controlado pela atuação da enzima sacarose sintase, seguido do enchimento de grãos, regulado pela enzima adenosina difosfato-glicose-pirofosforilase (Farooq et al., 2009; Taiz e Zeiger, 2015).

### **3.3 Fisiologia e morfologia de raiz em resposta ao estresse hídrico**

Existem diversas estratégias morfofisiológicas adaptativas observadas em vegetais expostos ao estresse por déficit hídrico, que envolvem, principalmente, os processos de absorção de água e nutrientes, bem como, o processo fotossintético. Durante o desenvolvimento do vegetal em condição de déficit hídrico, o solo seca, inicialmente, o topo do perfil, afetando a parte superior do sistema radicular, enquanto raízes mais profundas acessam a água do subsolo para o crescimento da planta. O enraizamento mais profundo é uma competência adaptativa importante para acessar a água armazenada em camadas sub superficiais do solo (Gao e Lynch, 2016).

Um dos mecanismos de adaptação à seca no milho é o acúmulo de solutos osmoticamente ativos nas células, em relação às plantas bem hidratadas. Tal fenômeno, chamado de ajustamento osmótico, permite a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese, mesmo sob baixos valores de potencial hídrico da folha (Morgan e Morgan, 1984; Pimentel, 1999; Fang e Xiong, 2015). Contudo, além da manutenção da turgescência, a partir do ajustamento osmótico, para que haja de fato crescimento celular, é necessário que ocorra outro fator básico, qual seja, a elasticidade da parede celular (Taiz e Zeiger, 2015).

Em um vegetal sob estresse hídrico, a atividade de diversas enzimas é comprometida. A ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (Rubisco), enzima

responsável pela fixação de carbono no processo fotossintético, em condição severa de seca, tem sua atividade catalítica atenuada, limitando a fotossíntese. Outro ponto importante é a diminuição da disponibilidade de CO<sub>2</sub>, que, além de promover a atividade oxigenase da Rubisco e declínio no volume celular, causa alteração no transporte de elétrons do processo fotoquímico e transformações nos aparelhos fotossintéticos (Parry et al., 2002).

O crescimento das plantas é muito afetado em uma condição de seca, sendo os principais órgãos comprometidos as folhas e as raízes. As plantas limitam a área foliar em resposta à falta de água para diminuir a perda por transpiração. Já se sabe que plantas de folhas reduzidas são típicas de ambientes de clima mediterrâneo, onde os invernos são úmidos e frios. Tais plantas resistem muito bem à seca, apesar da baixa taxa de crescimento e adição de biomassa. Outro ponto a destacar é a pubescência, em que a presença de pelos aumenta a reflectância da luz e minimiza a perda de água ao elevar a resistência da camada limítrofe das folhas (Farooq et al., 2009; Mir et al., 2012).

Em condições de estresse por deficit hídrico, ocorre o desbalanceamento da produção de biomassa da raiz/parte aérea, que é controlado pela absorção de água e nutrientes, além da produção de compostos metabólicos no processo fotossintético. As plantas que têm tolerância ao ambiente em que esse recurso natural é escasso permanecem maior período de tempo com raízes secundárias ativas, nas quais se encontram os pelos radiculares, estruturas responsáveis pela absorção de água e sais minerais da solução do solo. Outras estratégias observadas em algumas espécies são o formato arquitetônico das raízes, que tendem a se desenvolver com ângulos maiores em relação à superfície do solo, e seu alongamento no sentido vertical, vez que essas elas estendem em direção às regiões mais profundas do solo (Taiz e Zeiger, 2015).

A cultura do milho-pipoca carece de trabalhos abordando a caracterização radicular das plantas sob condição de estresse hídrico. Assim, buscam-se a identificação e a melhor compreensão de fenótipos de raízes associados à maior tolerância à seca, no sentido de fornecer informações para programas de melhoramento que pesquisam formas de adaptação a esse estresse abiótico. Gao e Lynch (2016) propuseram um ideótipo radicular para plantas de milho comum, composto por três características principais: 'Steep, Cheap, and Deep' (íngreme, barato e profundo). Nesse sentido, os autores descrevem 'barato' como a redução



do custo metabólico da exploração do solo; 'profundo', que se refere à capacidade de alcançar regiões mais profundas do solo; e 'íngreme', que significa ter ângulos de crescimento da raiz próximos de 90° em relação ao solo.

### **3.4 Melhoramento genético para tolerância ao deficit hídrico em milho**

Embora com pesquisas esparsas, desde a década de 1990 características morfológicas e fisiológicas, como área foliar, controle osmótico, resposta estomática, atividade dos cloroplastos, potencial de água foliar e produção de matéria seca têm sido estudadas em genótipos de milho comum cultivados sob condição de estresse por deficit hídrico (Bray, 1993; Smirnov, 1993; Bray, 1997; Zadehbagheri et al., 2014; Kozłowski, 2015; Zhang et al., 2018).

A maioria dos trabalhos de melhoramento nessa linha de pesquisa tem usado características secundárias de fácil medição, em condições de campo, as quais se correlacionam fortemente com a produtividade de grãos (Durães et al., 2004; Câmara et al., 2007; Zia et al., 2013; Adebayo et al., 2014). O uso dessas características, juntamente com o alto valor adaptativo, pode aumentar a eficiência da seleção em condição de estresse (Ali et al., 2014). Esforços consideráveis têm sido direcionados para a análise genética de características secundárias, como a arquitetura do sistema radicular, o potencial de água foliar, o ajuste osmótico e o teor relativo de água (Jongdee et al., 2002). Conforme Edmeades et al. (2000), uma característica secundária adequada é aquela que apresenta alta herdabilidade, que seja de baixo custo e fácil de mensurar, além de ser estável durante o período de mensuração e, principalmente, geneticamente associada com rendimento de grãos sob condição de estresse. Outra vantagem da avaliação de características secundárias é que, sob condições normais de cultivo, é possível o uso dessas características para aumentar a eficiência da seleção para tolerância ao estresse hídrico, em termos de produção de grãos (Durães et al., 2004). No entanto, tais características raramente têm herdabilidades elevadas, como exemplo do rendimento em condição de seca e, muitas vezes, não são altamente correlacionadas (Farooq et al., 2009).

A seleção de um sistema radicular profundo e extenso tem sido preconizada como ideal para aumentar a produtividade de inúmeras culturas sob condições de deficit hídrico, vez que pode otimizar a capacidade de absorção de água (Witcombe et al., 2008). Para a avaliação de genótipos de milho visando à tolerância ao *deficit*

hídrico, consideram-se os principais caracteres agronômicos associados ao estresse, quais sejam: menor intervalo entre florescimentos masculino e feminino (Câmara et al., 2007; Teixeira et al., 2010), senescência foliar tardia (Câmara et al., 2007; Costa et al., 2008), maior prolificidade e menor número de ramificações do pendão (Durães et al., 2004; Câmara et al., 2007). Porém, mais recentemente, características de natureza fisiológicas vêm recebendo destaque, a citar: i) temperatura do dossel (Zia et al., 2013); ii) senescência foliar, estimada por meio de assinatura espectral (Zia et al., 2013; Adebayo et al., 2014); iii) índice de verde (SPAD) (Zia et al., 2013; Kamphorst et al., 2018b); e iv) desenvolvimento e profundidade das raízes (Vaughan et al., 2015; Kamphorst et al., 2018a).

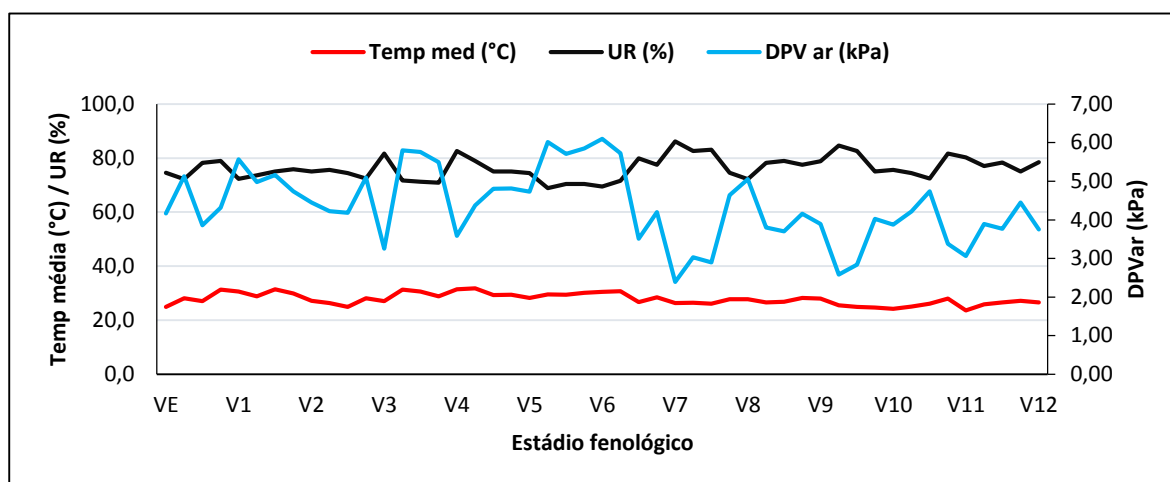
Nos últimos anos, uma atenção considerável está sendo direcionada para esclarecer as bases moleculares da tolerância ao estresse abiótico em plantas (Rejeb et al., 2014). A regulação da expressão gênica tendo como referência condições de estresse está sendo amplamente estudada, e seu papel na resposta aos eventos relacionados tem sido esclarecidos com o auxílio de ferramentas biotecnológicas e utilização de índices de seleção (Ali et al., 2017). No entanto, existem raros estudos com milho-pipoca em condição de seca, sendo mais comuns em trigo, arroz e milho comum. Ademais, o conhecimento concebido considerando os estudos com essas culturas direciona as próximas práticas e alavanca o melhoramento genético para contribuir de forma ainda mais moderna com ganhos seletivos para a cultura do milho-pipoca.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

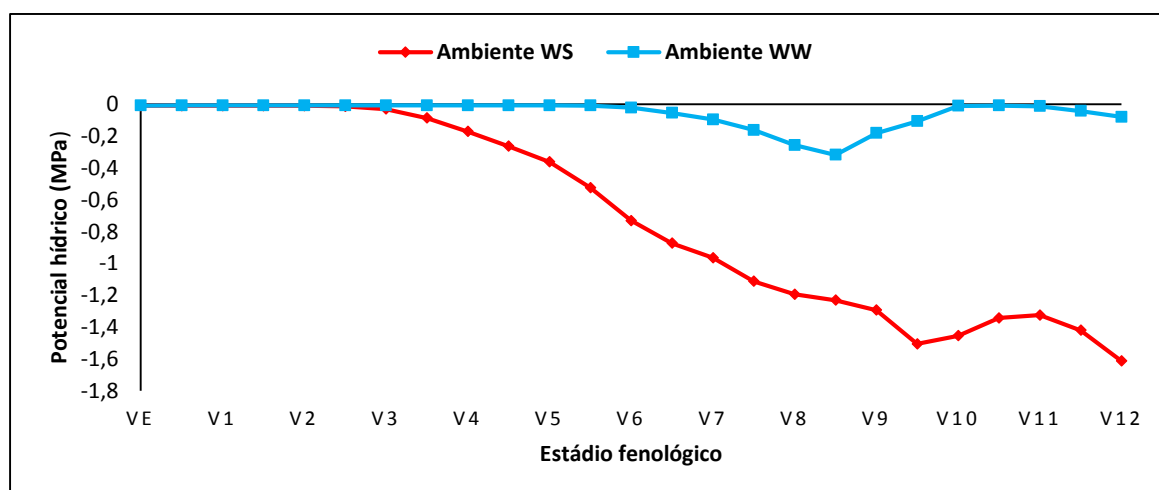
### 4.1 Condições experimentais

As condições climáticas foram aferidas durante todo o experimento, com temperatura variando de 19,1 a 44,4 °C e umidade relativa com média de 76,48 % (Figura 1). O sensor de irradiância registrou 710  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  médio de luz incidente. O experimento se estendeu por 45 dias, com aplicação de 10,80 litros de água/planta nos tratamentos em WS (do inglês “water-stressed”, que indica a imposição do deficit hídrico) e 18,90 litros de água/planta nos tratamentos em WW (do inglês “well-watered”, que indica condição de capacidade de campo). A água disponibilizada às plantas foi calculada de acordo com informações obtidas da evapotranspiração e do  $k_c$  – coeficiente de cultivo do milho. Além dessas informações, para o referido cálculo de estimativas de aplicação de água, também foram considerados o volume do recipiente e a área do bulbo úmido formado pela irrigação por gotejamento.

O potencial hídrico do solo no ambiente WS variou de -0,1 a -1,6 MPa; por outro lado, no ambiente irrigado, variou de -0,1 a 0,25 MPa (Figura 2).



**Figura 1.** Médias diárias de temperatura, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor no período de ocorrência do experimento.



**Figura 2.** Potencial hídrico do solo aferido pelos sensores MPS-6 durante o ciclo da cultura, nos ambientes WW e WS.

## 4.2 Genótipos

Para compor os tratamentos genéticos, foram utilizadas quatro linhagens de milho-pipoca: P2 e P3, eficientes no uso da água e L61 e L63, caracterizadas como ineficientes, o híbrido resultante do cruzamento entre as linhagens P2 e L61 e o híbrido oriundo do cruzamento entre P3 e L63 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Caracterização dos genótipos quanto à descrição, nível de endogamia, genealogia, adaptação climática e produtividade na condição de seca.

<b>Genótipo</b>	<b>Nível de endogamia</b>	<b>Genealogia</b>	<b>Adaptação climática</b>	<b>Produtividade na seca</b>
P2	Linhagem S <sub>7</sub>	Composto CMS-42: EMBRAPA Milho e Sorgo	Tropical	1.900 kg.ha <sup>-1</sup>
P3	Linhagem S <sub>7</sub>	Composto CMS-42: EMBRAPA Milho e Sorgo	Tropical	1.800 kg.ha <sup>-1</sup>
L61	Linhagem S <sub>7</sub>	Composto CMS 43: EMBRAPA Milho e Sorgo	Tropical	400 kg.ha <sup>-1</sup>
L63	Linhagem S <sub>7</sub>	Composto CMS 43: EMBRAPA Milho e Sorgo	Tropical	500 kg.ha <sup>-1</sup>
P2xL61	Híbrido	UENF	Tropical	-----
P3xL63	Híbrido	UENF	Tropical	-----

### 4.3 Delineamento experimental

O experimento foi desenvolvido utilizando o delineamento de blocos casualizados, arranjado em esquema fatorial (6x2), isto é, seis genótipos e dois regimes hídricos distintos, com cinco repetições. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, localizada na Unidade de Apoio a Pesquisa (UAP) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes – RJ, situada a 21° 45' latitude sul e 41° 20' longitude oeste e 11 m de altitude. As condições climáticas foram acompanhadas com o uso do equipamento Data Logger Extech RHT10, que afere temperatura e umidade relativa do ar.

Adicionalmente, foi monitorada a irradiância incidente, por meio do sensor de luz do aparelho MultispeQ<sub>v1.6</sub>.

Cada unidade experimental foi composta por recipientes confeccionados com tubos de PVC, com diâmetro de 0,20 m e 1,00 m de comprimento, contendo uma planta por tubo (Figura 3). Os recipientes foram fechados na parte basal, preenchidos com substrato constituído por uma mistura de solo e areia na proporção de 1:1, previamente analisado e corrigido de acordo com a necessidade nutricional da cultura. Em cada recipiente, foram dispostas três sementes e, por ocasião do desbaste, com aproximadamente 15 dias após a semeadura, mantida apenas uma planta por recipiente.



**Figura 3.** Unidades experimentais compostas por tubos de PVC revestidos com papel alumínio e dispostos em casa de vegetação.

#### **4.4 Preparo do ensaio, semeadura e tratamentos culturais**

Os seis genótipos selecionados foram alocados nos tubos e cultivados em casa de vegetação, naturalmente iluminada e sob condições semi-controladas. Os regimes hídricos foram impostos caracterizados da seguinte forma: i) ambiente com irrigação plena (WW, sigla de “well-watered”), mantido em capacidade de campo a  $-0,01$  MPa; e ii) ambiente com *deficit* hídrico (WS, sigla de “water-stressed”), constituído por suspensão da irrigação com 30 dias após a semeadura, até atingir

o potencial hídrico de -1,5 MPa, ou seja, valor que caracteriza uma condição de *deficit* hídrico severo para a cultura do milho (Bono et al., 2001). O potencial hídrico do solo foi monitorado com o uso de sensores MPS-6 (DECAGON®), instalados nos recipientes à profundidade de 50 cm e registrados pelo equipamento Data Logger Em50® (DECAGON®).

O ajuste da umidade necessária ao desenvolvimento normal da cultura foi feito por um sistema de irrigação por gotejamento independente e automático, com gotejadores de vazão igual a 4 L/h e uso de um *timer* para o ajuste do turno de rega. Durante o período do experimento, foram feitas cinco aplicações ao longo do dia, totalizando 420 mL de água diários. Para a adequação às condições nutricionais das plantas foi feita adubação química à base de NPK, aplicando 15,0 g por planta da formulação 4-14-8 para a adubação de fundação, distribuída e incorporada ao substrato no momento da semeadura.

As plantas foram cultivadas até o estágio fenológico V6, a partir do qual foram retiradas três repetições e avaliadas as características morfológicas. Nesse momento, o deficit hídrico foi imposto e foram iniciadas as avaliações morfofisiológicas. As características foram aferidas de quatro em quatro dias, de acordo com a resposta ao estresse e as condições climáticas durante o período de experimento.

## **4.5 Características avaliadas**

### **4.5.1 Avaliações morfológicas**

#### **4.5.1.1 Mensuração do desenvolvimento da parte área**

As avaliações foram iniciadas a partir da aplicação do deficit hídrico para monitorar a resposta dos genótipos ao estresse. Na parte aérea das plantas, foram avaliados: largura de folha (DF), obtida por meio de régua graduada em centímetros no terço médio da terceira folha completamente desenvolvida; comprimento de folha (CF), mensurado da base à extremidade da terceira folha completamente desenvolvida; altura média de plantas (AP), aferida da superfície do solo até a lígula da última folha desenvolvida; diâmetro de colmo (DC), quantificado em milímetro; área foliar (AF), quantificada em cm<sup>2</sup>, estimada com o auxílio de um medidor de área foliar de bancada (Li-3100); colmo (MSC) e folhas (MSF), bem como a relação biomassa da parte aérea e raiz (PA/R), que foram aferidos em balança de precisão, após secagem em estufa a 80 ° C por 72 horas.

#### **4.5.1.2 Mensuração do desenvolvimento radicular**

Tendo como referência o desenvolvimento das raízes, foram aferidos: comprimento de raiz (CR), mensurado da superfície do ápice radicular até a intersecção com o caule da planta; massa seca da raiz (MSR); ângulo (ARS), número (NRS) e densidade (DRS) de raízes de suporte e da coroa (ARC, NRC e DRC, respectivamente), que foram aferidos com auxílio de uma régua para fenotipagem de raízes de milho (*Maize Shovelomics Scoreboard*). Adicionalmente, foram aferidas a eficiência agronômica no uso da água (EUA), representada pelo quociente entre a produção de biomassa e o volume de água aplicado, e a “pegada hídrica” (PH), característica que relaciona a quantidade de água aplicada por cada unidade de biomassa produzida.

#### **4.5.2 Avaliações fisiológicas**

##### **4.5.2.1 Mensuração do teor relativo clorofila**

Na avaliação do teor relativo de clorofila, foi utilizado um clorofilômetro de mão, com atuação em onda dupla SPAD 502 (Chlorophyll meter, Minolta Company). As mensurações foram feitas no terço médio da última folha completamente desenvolvida, representando a média de três pontos de avaliação nessa região da folha.

##### **4.5.2.2 Mensuração das trocas gasosas**

As avaliações referentes às trocas gasosas foram feitas com o auxílio de um analisador de gás infravermelho – IRGA (LI-6400 system, Li-Cor, Inc., Lincoln, NE, USA) –, com atmosfera controlada (temperatura foliar de 25 °C, 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , 1  $\text{mmol mol}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  e 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de PAR) em câmara de 7  $\text{cm}^2$ . Com esse aparelho, foram feitas as seguintes avaliações fisiológicas: taxa fotossintética líquida (A), taxa de transpiração (E), taxa da condutância estomática (gs), deficit de pressão de vapor folha/ar ( $\text{DPV}_{\text{folha/ar}}$ ), concentração interna de  $\text{CO}_2$  (Ci) e relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  (Ci/Ca).

##### **4.5.2.3 Mensuração da fluorescência da clorofila**

Na avaliação da eficiência de energia de excitação capturada pelos centros de reação do Fotossistema II (Fv/Fm), foi utilizado um fluorômetro/clorofilômetro portátil (MultispeQ<sub>v1.0</sub>). Todos os caracteres fisiológicos citados foram mensurados



no terço médio da última folha completamente desenvolvida e considerado um período temporal compreendido entre 08:00 e 11:00 h para as avaliações.

#### 4.5.2.4 Mensuração da temperatura foliar

A avaliação da temperatura foliar foi feita com o auxílio de uma câmera termográfica de mão (FLIR Série i), e as fotos analisadas no programa FLIR QuickReport. As fotos foram tiradas no momento mais quente do dia, entre 11:00 e 14:00 h.

### 4.6 Análises estatísticas

Foram feitas análises de variância individual e conjunta para decomposição da variação entre os genótipos e ambientes bem como a interação genótipo x ambiente. O modelo estatístico empregado foi  $Y_{ijk} = \mu + G_i + A_j + B/A_{jk} + GA_{ij} + E_{ijk}$ , sendo:  $Y_{ijk}$  o valor fenotípico do caráter  $Y$  quantificado no genótipo  $i$ , no ambiente  $j$ ;  $\mu$  = constante geral do modelo em estudo;  $G_i$  = efeito fixo do  $i$ -ésimo genótipo;  $A_j$  = efeito fixo do  $j$ -ésimo ambiente experimental;  $B/A_{jk}$  = efeito de blocos dentro de ambiente;  $GA_{ij}$  = efeito da interação do  $i$ -ésimo genótipo com o  $j$ -ésimo ambiente; e  $E_{ijk}$  = erro médio associado à observação  $Y_{ijk}$ . As análises foram feitas com o auxílio computacional dos programas GENES (Cruz, 2013) e SAS® (SAS Institute, 2002).

### 4.7 Estimativa da heterose relativa nos híbridos F<sub>1</sub>

A estimativa da heterose relativa de cada híbrido foi obtida pela expressão:

$$h_{ij}(\%) = \frac{\overline{S}_{ij} - \overline{P}_{ji}}{\overline{P}_{ji}} * 100,$$

em que

$h_{ij}(\%)$  : heterose percentual do cruzamento da  $j$ -ésima linhagem ineficiente com linhagem eficiente 'i';

$\overline{S}_{ij}$  : média do híbrido oriundo da linhagem ineficiente 'j' com a linhagem eficiente 'i'; e

$\overline{P}_{ji}$  : média dos parentais da  $j$ -ésima linhagem ineficiente com a linhagem eficiente 'i'.

#### 4.8 Análise de trilha

Para a análise de trilha, os valores de cada parcela de todos os caracteres foram padronizados e, em seguida, feita a análise de variância para obtenção das variâncias e co-variâncias genóticas, a fim de gerar a matriz de correlações genóticas entre os caracteres avaliados. A matriz de correlação genotípica foi submetida ao teste de colinearidade de acordo com Montgomery e Peck (1981).

Em seguida, as correlações genóticas foram utilizadas para a estimação dos coeficientes de trilha, desdobrando-as em efeitos diretos ( $\mathbf{p}_{jy}$ ) e indiretos ( $\mathbf{r}_{ij}\mathbf{p}_{jy}$ ), por meio das estimativas das equações de regressão, para ambas as condições hídricas, de acordo com o modelo de caracteres primários que explicam a variação de  $\mathbf{Y}$  (CR). Assim,  $r_{ij}$  é o coeficiente de correlação do caráter  $i$  com  $j$  e  $\mathbf{p}_{jy}$  é o efeito direto (ou coeficiente de trilha) do caráter  $j$  no produto final  $\mathbf{Y}$ .

Inicialmente, foi feita a análise de trilha com a formação de dois grupos de características (cadeia dupla), representados pela ação de onze variáveis explicativas, sendo que na primeira cadeia foram utilizadas características morfológicas MSR ( $P_{01}$ ), AP ( $P_{02}$ ), LF ( $P_{03}$ ), CF ( $P_{04}$ ) e DC ( $P_{05}$ ) e, na segunda cadeia, as características fisiológicas A ( $P_{01}$ ), gs ( $P_{02}$ ), Ci ( $P_{03}$ ), TF ( $P_{04}$ ), Fv/Fm ( $P_{05}$ ) e SPAD ( $P_{06}$ ) sobre a variável principal CR.

A resolução em forma de matriz foi obtida pelo sistema de equações normais  $\mathbf{X}'\mathbf{X}\boldsymbol{\beta} = \mathbf{X}'\mathbf{Y}$ , em que  $\mathbf{X}'\mathbf{X}$  é uma matriz não singular de correlações entre variáveis explicativas,  $\boldsymbol{\beta}$  é um vetor-coluna de coeficientes de trilha e  $\mathbf{X}'\mathbf{Y}$  é um vetor-coluna de correlações entre a variável principal e as variáveis explicativas.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Análise de variância conjunta**

A análise de variância conjunta mostrou haver diferença significativa para as fontes de variação relacionadas a Genótipos, Ambientes e à interação Genótipos x Ambientes para a maioria das características avaliadas, revelando a existência de variabilidade genética entre os genótipos bem como distinção entre ambientes, além da classificação diferenciada de genótipos nos ambientes. As variáveis que não apresentaram diferença significativa para Genótipos foram MSF e DC (caracteres morfológicos) e  $g_s$ , E, TF, Ci/Ca e Fv/Fm (caracteres fisiológicos). Em se tratando do fenótipo radicular, apenas CR e MSR apresentaram diferença significativa para a fonte de variação Genótipos (Tabela 2).

### **5.2 Análise de variância individual**

#### **5.2.1 Características morfológicas**

Ao fazer o desdobramento dos efeitos de linhagens eficientes e ineficientes na análise de variância para o ambiente WS, verificou-se que apenas para MSF não ocorreu diferença significativa para o contraste entre as linhagens eficientes e ineficientes no uso da água (Tabela 3).

**Tabela 2.** Análise de variância conjunta de características morfológicas da parte aérea e da raiz assim como das características fisiológicas em genótipos de milho-pipoca avaliadas em ambientes contrastantes.

FV	GL	QM									
		AP	AF	MSC	MSF	PA/R	DF	CF	DC	EAUA	PH
Genótipos (Gen)	5	1168,48**	2002803,30**	74,23**	65,17 <sup>ns</sup>	5,94**	259,42**	1511,87**	9,76 <sup>ns</sup>	1,43**	0,02**
Ambientes (Amb)	1	47601,67**	27230967,49**	4176,17**	317,86**	0,75**	15540,04**	1206,02**	105,71**	0,45**	0,01**
Gen x Amb	5	397,07*	951184,39**	39,12**	14,82 <sup>ns</sup>	0,66**	143,49 <sup>ns</sup>	91,50*	3,03 <sup>ns</sup>	0,45**	0,01**
Resíduo	40	155,98	244508,40	10,77	6,17	0,84	60,97	36,28	2,01	0,19	0,00
Média		105,10	2962,12	21,71	16,07	4,76	25,46	87,35	16,24	3,26	0,32
CV (%)		11,88	16,69	15,11	15,46	19,21	30,67	6,90	8,73	13,22	15,59

FV	GL	QM								
		A	gs	Ci	E	DPV <sub>folha/ar</sub>	TF	Ci/Ca	Fv/Fm	SPAD
Genótipos (Gen)	5	70,96*	0,01 <sup>ns</sup>	1482,32**	0,70 <sup>ns</sup>	0,09*	0,66 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	18,18*
Ambientes (Amb)	1	8902,21**	0,53**	68735,33**	123,82**	3,41**	9,49**	0,60**	0,01**	577,22**
Gen x Amb	5	37,60 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	1768,59 <sup>ns</sup>	0,51 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,52 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,01*	11,07 <sup>ns</sup>
Resíduo	40	23,78	0,00	2532,89	0,33	0,03	0,28	0,02	0,01	7,42
Média		20,03	0,13	83,89	2,21	1,87	30,41	0,23	0,78	47,58
CV (%)		24,35	39,84	59,99	26,20	9,33	1,75	58,35	1,94	5,72

**Tabela 2. Cont.**

FV	GL	QM							
		CR	MSR	ARS	NRS	DRS	ARC	NRC	DRC
Genótipos (Gen)	5	1493,72*	31,77**	204,30 <sup>ns</sup>	1,16 <sup>ns</sup>	1,15 <sup>ns</sup>	214,39 <sup>ns</sup>	12,42 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>
Ambientes (Amb)	1	3681,67*	370,56*	58,02**	41,67**	36,30**	11,27**	98,82**	0,36**
Gen x Amb	5	327,95 <sup>ns</sup>	24,05*	90,94 <sup>ns</sup>	2,87 <sup>ns</sup>	0,58 <sup>ns</sup>	132,23**	3,54 <sup>ns</sup>	2,29 <sup>ns</sup>
Resíduo	40	443,23	7,17	84,24	4,01	1,94	36,32	17,04	1,04
Média		135,20	9,10	35,48	6,90	5,20	32,57	19,08	4,91
CV (%)		15,57	29,43	25,87	29,03	26,80	18,50	21,63	20,80

AP = altura média de planta; AF = área foliar; MSC = massa seca de colmo; MSF = massa seca foliar; PA/R = relação parte aérea/raiz; LF = Largura de folha; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; EAU = eficiência agrônômica no uso da água; PH = relação entre o consumo de água pela produção de biomassa; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; E = transpiração; DPV<sub>folha/ar</sub> = deficit de pressão de vapor; TF = temperatura foliar; Ci/Ca = relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; CR = comprimento de raiz; MSR = massa seca de raiz; ARS = ângulo de raízes de suporte; NRS = número de raízes de suporte DRS = densidade de raízes de suporte; ARC = ângulo de raízes da coroa; NRC = número de raízes da coroa; DRC = densidade de raízes da coroa; \* = diferença significativa a 5 %; \*\* = diferença significativa a 1 %; e ns = não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 3.** Médias fenotípicas e desvio padrão com a decomposição dos efeitos entre linhagens eficientes, ineficientes e híbridos, e as estimativas de heterose percentual para características morfológicas nos ambientes WS e WW.

	Características	Eficientes		Ineficientes		Le x Li	Híbridos		H x L	Heterose (%)
Ambiente WS	AP	79,12**	± 4,20	68,8**	± 1,80	**	78,9 <sup>ns</sup>	± 5,36	ns	7,87
	AF	2283,38**	± 311,06	2145,51 <sup>ns</sup>	± 137,22	*	2436,43 <sup>ns</sup>	± 144,42	**	4,89
	MSC	7,0 <sup>ns</sup>	± 1,48	12,01 <sup>ns</sup>	± 2,16	*	13,80*	± 0,69	ns	20,82
	MSF	13,35*	± 1,29	12,41 <sup>ns</sup>	± 1,94	ns	15,56 <sup>ns</sup>	± 1,93	***	-58,05
	PA/R	4,03**	± 0,03	4,15 <sup>ns</sup>	± 0,03	**	4,50 <sup>ns</sup>	± 0,03	**	7,31
	DF	16,67 <sup>ns</sup>	± 2,64	17,99 <sup>ns</sup>	± 7,84	**	4,60 <sup>ns</sup>	± 9,06	**	13,35
	CF	92,5 <sup>ns</sup>	± 6,27	70,1**	± 2,76	***	92,01 <sup>ns</sup>	± 4,86	***	10,55
	DC	14,56**	± 1,61	14,4 <sup>ns</sup>	± 0,55	**	15,77**	± 0,93	**	8,83
	EAUA	3,35**	± 0,25	3,08 <sup>ns</sup>	± 0,43	*	3,60 <sup>ns</sup>	± 1,28	**	12,16
	PH	0,30**	± 0,02	0,33 <sup>ns</sup>	± 0,06	*	0,28 <sup>ns</sup>	± 0,02	**	-11,51
Ambiente WW	AP	147,50**	± 18,54	116,20 <sup>ns</sup>	± 7,58	**	136,10 <sup>ns</sup>	± 14,00	ns	3,69
	AF	3647,62 <sup>ns</sup>	± 539,70	2827,41 <sup>ns</sup>	± 561,52	ns	4432,39 <sup>ns</sup>	± 808,63	**	17,95
	MSC	31,32*	± 2,42	25,53 <sup>ns</sup>	± 5,48	**	33,32 <sup>ns</sup>	± 5,19	***	42,58
	MSF	17,05 <sup>ns</sup>	± 2,21	15,14 <sup>ns</sup>	± 2,85	ns	22,93 <sup>ns</sup>	± 2,89	***	7,09
	PA/R	3,66 <sup>ns</sup>	± 0,08	4,60 <sup>ns</sup>	± 0,06	*	4,43 <sup>ns</sup>	± 0,0627	*	17,95
	DF	36,59 <sup>ns</sup>	± 6,53	44,49 <sup>ns</sup>	± 8,30	**	43,41 <sup>ns</sup>	± 6,87	ns	14,51
	CF	101,30 <sup>ns</sup>	± 7,37	75,30 <sup>ns</sup>	± 5,99	***	101,10 <sup>ns</sup>	± 5,71	***	37,13
	DC	17,51 <sup>ns</sup>	± 2,00	16,63 <sup>ns</sup>	± 1,88	**	4432,39 <sup>ns</sup>	± 808,63	***	10,59
	EAUA	3,07 <sup>ns</sup>	± 0,17	2,66 <sup>ns</sup>	± 0,55	*	3,80 <sup>ns</sup>	± 0,65	***	32,70
	PH	0,33 <sup>ns</sup>	± 0,02	0,39 <sup>ns</sup>	± 0,08	*	0,27 <sup>ns</sup>	± 0,05	***	-24,70

AP = altura média de planta; AF = área foliar; MSC = massa seca de colmo; MSF = massa seca foliar; PA/R = relação parte aérea/raiz; LF = diâmetro foliar; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; EAUA = eficiência agrônômica no uso da água; PH = relação entre o consumo de água pela produção de biomassa; Le x Li = contraste entre grupos de Linhagem eficientes x Linhagem ineficientes; H x L = contraste entre grupos de Híbridos x Linhagens; \* = diferença significativa a 5 %; \*\* = diferença significativa a 1 %; \*\*\* = diferença significativa a 0,1 %; e ns = não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

Para as demais características – AP, AF, CF, DC e EAUA – observou-se superioridade das linhagens eficientes em relação às ineficientes, com expressão de significância para a fonte de variação Genótipos.

No grupo das linhagens eficientes, houve diferença significativa para as características AP, AF, MSF, PA/R, DC, EAUA e PH, o que demonstra um desempenho distinto entre as duas linhagens estudadas, ao passo que no grupo das linhagens ineficientes, houve diferença significativa apenas para AP e CF, demonstrando, neste caso, um desempenho mais similar (Tabela 3).

No desdobramento dos efeitos de híbridos em relação às linhagens no ambiente WS, Tabela 3, apenas AP e MSC não possibilitaram detecção de significância para o contraste entre estes grupos de genótipos. Em relação às demais variáveis estudadas, houve superioridade, com estimativas de médias significativas dos híbridos em relação às linhagens. Entre os híbridos, observou-se diferença significativa para as características MSC e DC; por sua vez, para as demais características, não houve diferença entre os genótipos, o que revela tendência à similaridade entre os híbridos.

De forma semelhante, na análise entre híbridos não se observou diferença significativa, entretanto, houve diferença significativa para o contraste Híbridos x Linhagens em relação às características AF, MSC, MSF, PA/R, resultado que corrobora os valores de heterose observados – 17,95 %, 42,58 %, 7,09 % e 17,95 %, respectivamente, para essas características, denotando a superioridade dos híbridos em relação à média dos genitores.

Na análise de variância do ambiente irrigado (WW), as características morfológicas AP, MSC, PA/R, LF, CF e DC expressaram diferenças significativas entre as linhagens, com maior influência das eficientes, por expressarem as maiores estimativas de médias (Tabela 3).

Entre as linhagens eficientes, houve diferença significativa para as características AP e MSC; por outro lado, entre as ineficientes não houve diferença significativa para quaisquer das características analisadas.

O estresse hídrico causou decréscimos de 21,29 % e 42,90 % na biomassa da parte aérea (BPA) – somatório de MSF e MSC – e altura de planta (AP), respectivamente, em comparação com a condição bem irrigada. As linhagens foram os genótipos que mais sofreram decréscimos, com percentuais de 26,46 % e 46,42 % para BPA e AP, respectivamente, quando comparadas aos híbridos, para os

quais as reduções foram de 16,25 % e 40,55 %, nessa ordem, para as mesmas características. Outro fato relevante quanto à caracterização morfológica é a relação PA/R, que sofreu reduções de 8,01 % e 0,29 % nas linhagens P2 e P3, e de 12,37 % e 12,9 % em L61 e L63, respectivamente. Por outro lado, os híbridos apresentaram acréscimos de 11,06 % e 24,42 %, demonstrando que, neste caso, houve aumento da biomassa da parte aérea na condição WS em relação a WW. Para as características relacionadas com o uso de água, houve acréscimo para EAUA, de 9,45 % e 8,70 % para as linhagens P2 e P3 e de 3,30 % e 0,39 % para L61 e L63, respectivamente. Em contrapartida, os híbridos P2xL61 e P3xL63 apresentaram reduções percentuais respectivas de 6,29 % e 4,20 %, quando comparados os ambientes WW e WS. Outra característica que mensura as relações hídricas e de produção, PH, revelou reduções de 8,43 % e 8,65 % para as linhagens P2 e P3 e acréscimo de 6,40 % e 0,58 % para L61 e L63, assim como para os híbridos P2xL61 e P3xL63, com percentuais de 4,20 % e 3,71 %, respectivamente.

Outra consideração que merece destaque se relaciona com a característica eficiência agrônômica no uso da água (EAUA), que retrata o incremento de biomassa vegetal decorrente da quantidade de água aplicada. Essa característica representa o aumento de produtividade mediante o menor consumo de água, por conseguinte, trata-se de uma importante informação para cultivos agrícolas mais sustentáveis com relação ao déficit hídrico (Zhao et al., 2018). Nessa circunstância, os genótipos que têm maiores estimativas de EAUA consomem menores quantidades de água que os demais, os quais apresentaram valores menos expressivos dessa característica. Com base nessa premissa, para o presente trabalho, as linhagens eficientes expressaram acréscimo de 9,08 % de EAUA em ambiente WS quando comparado ao ambiente WW, revelando, assim, maior desempenho destas linhagens no ambiente com déficit hídrico. Já as linhagens ineficientes apresentaram acréscimos percentuais de 1,85 %, quando comparados ao ambiente WS em relação ao WW. Por outro lado, os híbridos manifestaram diminuição de EAUA em 5,25 % na comparação entre o ambiente WW e WS.

Nemali et al. (2015) reportaram a importância da eficiência agrônômica no uso da água em relação ao consumo desse recurso natural, associando essa característica ao adequado enchimento de grãos em milho. Os autores destacaram também a importância de EAUA nas relações hídricas atuantes no sistema planta-



solo-atmosfera, com respostas na condutância estomática e, conseqüentemente, no processo fotossintético.

Nessa relação de incremento de biomassa por consumo de água, pode-se destacar outra importante característica: a PH, ou “pegada hídrica”. A “pegada hídrica” mensura o consumo de água, em litros, pelo incremento de biomassa, em kg ou g (Galli et al., 2012). Essa relação é extremamente importante para a conservação dos mananciais hídricos e diminuição do gasto com irrigação (Finogenova et al., 2019). O conceito de “pegada hídrica” tem sido usado como indicador do consumo de água de pessoas e produtos em diversas partes do mundo (Zhao et al., 2009; Romaguera et al., 2010; Hao et al., 2011). Além do mais, essa característica pode servir de base, juntamente com EAUA, para o estudo de eficiência no uso da água, associando com maior desempenho a exploração do solo e produção de grãos.

Analisando a heterose relativa dos híbridos formados, destacam-se as características MSC, DF, CF e EAUA, que apresentaram estimativas de 20,82 %, 13,35 %, 10,55 % e 12,16 %, respectivamente (Tabela 2). As características AP, AF, PA/R e DC também apresentaram valores percentuais positivos de heterose, mas pouco representativos para a diferenciação dos híbridos em relação às linhagens genitoras.

### **5.2.2 Características fisiológicas**

No desdobramento dos efeitos relacionados às características fisiológicas, apenas a variável  $C_i$ , que no ambiente com estresse hídrico (WS) apresentou diferença significativa entre o grupo de linhagens eficientes; por outro lado, as características para com A, E,  $DPV_{folha/ar}$ , TF, Fv/Fm e SPAD apresentaram significância entre o grupo de linhagens ineficientes (Tabela 4). Para a característica  $C_i/C_a$  não se observou diferença significativa entre linhagens, híbridos nem dentro do grupo de linhagens eficientes e ineficientes. Entre os híbridos não houve diferença significativa entre quaisquer características avaliadas.

**Tabela 4.** Médias e desvio padrão na decomposição dos efeitos entre as observações e a heterose relativa para as características fisiológicas nos ambientes WS e WW.

	Características	Eficientes		Ineficientes		Le x Li	Híbridos		H x L	Heterose (%)
Ambiente WS	A	11,53 <sup>ns</sup>	± 2,31	7,31 <sup>***</sup>	± 4,78	***	4,45 <sup>ns</sup>	± 1,50	***	-47,43
	gs	0,04 <sup>ns</sup>	± 0,02	0,03 <sup>ns</sup>	± 0,02	*	0,02 <sup>ns</sup>	± 0,02	*	-30,84
	Ci	22,83 <sup>**</sup>	± 13,52	57,51 <sup>ns</sup>	± 46,45	**	41,05 <sup>ns</sup>	± 50,76	**	-26,57
	E	0,83 <sup>ns</sup>	± 0,38	0,94 <sup>*</sup>	± 0,81	ns	0,45 <sup>ns</sup>	± 0,15	**	-49,01
	DPV <sub>folha/ar</sub>	2,01 <sup>ns</sup>	± 0,72	2,11 <sup>***</sup>	± 0,13	*	2,20 <sup>ns</sup>	± 0,13	**	7,10
	TF	30,47 <sup>ns</sup>	± 0,77	30,89 <sup>**</sup>	± 0,24	*	31,06 <sup>ns</sup>	± 0,50	ns	1,25
	Ci/Ca	0,13 <sup>ns</sup>	± 0,20	0,15 <sup>ns</sup>	± 0,12	ns	0,14 <sup>ns</sup>	± 0,13	ns	-11,54
	Fv/Fm	0,76 <sup>ns</sup>	± 0,02	0,78 <sup>**</sup>	± 0,02	*	0,77 <sup>ns</sup>	± 0,01	ns	-0,95
	SPAD	44,54 <sup>ns</sup>	± 1,23	45,48 <sup>***</sup>	± 3,35	**	44,14 <sup>ns</sup>	± 1,28	ns	-1,86
Ambiente WW	A	34,16 <sup>ns</sup>	± 2,24	30,21 <sup>ns</sup>	± 5,45	ns	31,90 <sup>ns</sup>	± 6,30	ns	-0,78
	gs	0,26 <sup>ns</sup>	± 0,05	0,22 <sup>ns</sup>	± 0,08	ns	0,18 <sup>ns</sup>	± 0,02	**	-26,60
	Ci	134,55 <sup>ns</sup>	± 22,39	101,22 <sup>ns</sup>	± 46,97	ns	112,79 <sup>ns</sup>	± 43,68	ns	-4,51
	E	3,97 <sup>ns</sup>	± 0,27	3,31 <sup>ns</sup>	± 0,82	ns	3,58 <sup>ns</sup>	± 0,70	ns	-1,50
	DPV <sub>folha/ar</sub>	1,55 <sup>ns</sup>	± 0,19	1,71 <sup>ns</sup>	± 0,19	ns	1,66 <sup>ns</sup>	± 0,20	ns	1,76
	TF	29,92 <sup>*</sup>	± 0,10	30,25 <sup>ns</sup>	± 0,61	ns	29,90 <sup>ns</sup>	± 0,62	ns	-0,61
	Ci/Ca	0,38 <sup>ns</sup>	± 0,06	0,28 <sup>ns</sup>	± 0,02	ns	0,31 <sup>ns</sup>	± 0,12	ns	-4,70
	Fv/Fm	0,79 <sup>ns</sup>	± 0,02	0,79 <sup>ns</sup>	± 0,01	ns	0,80 <sup>ns</sup>	± 0,006	ns	0,98
	SPAD	51,17 <sup>ns</sup>	± 1,67	50,93 <sup>ns</sup>	± 3,14	ns	49,59 <sup>ns</sup>	± 3,11	ns	-2,84

A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; E = transpiração; DPV<sub>folha/ar</sub> = deficit de pressão de vapor; TF = temperatura foliar; Ci/Ca = relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; Le x Li = contraste entre grupos de Linhagem eficientes x Linhagem ineficientes; H x L = contraste entre grupos de Híbridos x Linhagens; \* = diferença significativa a 5 %; \*\* = diferença significativa a 1 %; \*\*\* = diferença significativa a 0,1 %; e ns = não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

Contudo, vale destacar os danos causados pela condição de estresse hídrico sobre os principais processos metabólicos, sobretudo, capitalizados pelo aumento de temperatura foliar, alteração das trocas gasosas e diminuição no incremento de biomassa. O conceito de estresse é reportado por Taiz e Zeiger (2015) como uma condição na qual determinado fator externo impede a manifestação de potencial genético do vegetal. Obata et al. (2015), avaliando perfis metabólicos em folhas de milho sob regimes hídricos distintos, reportaram decréscimos de 35,2 a 45,8 % na produção de grãos, quando comparados os ambientes bem irrigado e com estresse hídrico. Os mesmos autores destacam alteração na produção de metabólicos primários e secundários em ambiente com estresse hídrico, condição em que a produção foi drasticamente afetada.

Em ambiente com estresse hídrico (WS), em se tratando da heterose relativa nos híbridos, é importante salientar as estimativas negativas para  $C_i$  e  $E$ , com valores de -26,57 % e -49,01 %, respectivamente para as combinações P2xL61 e P3xL63, que representaram menores conteúdos de  $CO_2$  interno, bem como menores perdas de água pelos estômatos, demonstrando a superioridade dos híbridos nos processos de trocas gasosas, quando comparados às linhagens. Esse resultado é importante para direcionar futuras ações quanto ao melhoramento genético visando à eficiência no uso da água. De forma similar, as características  $A$  e  $g_s$  expressaram estimativas negativas para essas características, com valores respectivos de -47,43 % e -30,84 % para a heterose relativa. No entanto, esse resultado se revela desinteressante, haja vista a perspectiva de heterose negativa para taxa fotossintética líquida ( $A$ ) e para a condutância estomática ( $g_s$ ). Resultado contundente foi reportado por Araus et al. (2010) em experimento com híbridos de milho, na avaliação da condutância estomática ( $g_s$ ), em que foram obtidas estimativas de -8,8 % e -13,0 % de heterose relativa aos 55 e 62 dias após a semeadura, respectivamente, em ambiente com estresse hídrico. Por outro lado, as características  $DPV_{folha/ar}$ ,  $TF$  e  $F_v/F_m$  proporcionaram expressões de valores positivos de heterose relativa, com estimativas de 4,43 %, 0,32 % e 0,01 %, respectivamente; todavia, foram percentuais pouco expressivos para a diferenciação entre os híbridos e as linhagens genitoras.

### 5.2.3 Características radiculares

Na análise do fenótipo radicular no ambiente WS, ocorreu significância para as características CR e MSR, que representam o desenvolvimento contrastante do sistema radicular entre os grupos de linhagens eficientes e ineficientes (Tabela 5). Outra consideração de destaque é a diferenciação pela significância estatística de ARS entre as linhagens eficientes e de ARC entre as linhagens ineficientes, o que demonstra a distinção da arquitetura radicular dentro dos grupos de linhagens. Por sua vez, as características NRS, DRS, NRC e DRC não apresentaram diferença significativa (Tabela 5). Na análise entre os híbridos, não se observou diferença significativa, de forma análoga ao que ocorreu para com as variáveis morfofisiológicas.

O grupo formado por linhagens previamente selecionadas como eficientes no uso de água apresentou maiores médias de CR e MSR, demonstrando maior potencial na exploração do solo no ambiente WS. Por isso, pode-se pressupor que estas características podem estar relacionadas com maior eficiência no uso da água. Em plantas adultas, em condição de campo, observou-se correlação positiva entre a produtividade de grãos e o maior desenvolvimento do sistema radicular, isto é, os genótipos mais produtivos foram os mesmos que apresentaram maior exploração de camadas subsuperficiais do solo (Ali et al., 2016).

Na análise do ambiente WW, observou-se diferença significativa para as características CR, ARS, ARC e DRC no contraste linhagens eficientes x ineficientes no uso da água. Por outro lado, no contraste híbridos x linhagens, foram significativas MSR e ARC (Tabela 5). Quando as linhagens eficientes foram comparadas entre si, houve diferença significativa para ARS e DRC, denotando distinção entre o ângulo de desenvolvimento das raízes em relação à superfície do solo e a formação de raízes secundárias, ativas na captação de água. Por outro lado, nas linhagens ineficientes, as características que apresentaram diferenças significativas foram CR e ARC.

**Tabela 5.** Estimativas de médias, desvio padrão e contrastes entre grupos de genótipos na decomposição dos efeitos entre as observações e a heterose relativa em relação ao fenótipo radicular nos ambientes WS e WW.

	Características	Eficientes		Ineficientes		Le x Li	Híbridos		H x L	Heterose (%)
Ambiente WS	CR	131,20*	± 18,44	124,2*	± 22,75	*	126,10 <sup>ns</sup>	± 20,01	ns	8,77
	MSR	6,86**	± 2,17	5,88*	± 1,19	**	6,90 <sup>ns</sup>	± 1,06	ns	4,03
	ARS	42,30*	± 9,99	34,12 <sup>ns</sup>	± 9,81	ns	32,80 <sup>ns</sup>	± 10,12	ns	-13,39
	NRS	6,40 <sup>ns</sup>	± 1,51	6,22 <sup>ns</sup>	± 1,96	ns	5,60 <sup>ns</sup>	± 1,58	ns	-11,06
	DRS	4,23 <sup>ns</sup>	± 1,03	4,22 <sup>ns</sup>	± 1,45	ns	4,80 <sup>ns</sup>	± 1,99	ns	14,03
	ARC	34,20 <sup>ns</sup>	± 3,32	35,75*	± 6,11	ns	26,70 <sup>ns</sup>	± 6,66	**	-23,21
	NRC	17,40 <sup>ns</sup>	± 2,91	17,85 <sup>ns</sup>	± 3,89	ns	18,20 <sup>ns</sup>	± 4,61	ns	3,41
	DRC	5,07 <sup>ns</sup>	± 1,00	4,55 <sup>ns</sup>	± 1,19	ns	4,93 <sup>ns</sup>	± 0,44	ns	3,5
Ambiente WW	CR	149,80 <sup>ns</sup>	± 19,34	132,20**	± 24,16	*	155,30 <sup>ns</sup>	± 12,77	ns	10,17
	MSR	13,21 <sup>ns</sup>	± 2,15	8,84 <sup>ns</sup>	± 3,59	ns	15,53 <sup>ns</sup>	± 4,42	***	20,12
	ARS	31,50*	± 8,75	38,90 <sup>ns</sup>	± 8,50	*	33,10 <sup>ns</sup>	± 11,35	ns	-5,85
	NRS	7,50 <sup>ns</sup>	± 1,73	7,50 <sup>ns</sup>	± 2,04	ns	8,20 <sup>ns</sup>	± 1,22	ns	9,53
	DRS	5,87 <sup>ns</sup>	± 1,11	5,73 <sup>ns</sup>	± 1,33	ns	6,33 <sup>ns</sup>	± 0,93	ns	9,19
	ARC	31,60 <sup>ns</sup>	± 4,22	35,10*	± 5,94	*	27,60*	± 4,92	**	-2,56
	NRC	22,00 <sup>ns</sup>	± 3,13	19,20 <sup>ns</sup>	± 4,35	ns	19,90 <sup>ns</sup>	± 2,58	ns	-3,23
	DRC	5,27**	± 0,83	4,67 <sup>ns</sup>	± 0,81	*	5,03 <sup>ns</sup>	± 0,76	ns	2,1

CR = comprimento de raiz; MSR = massa seca de raiz; ARS = ângulo de raízes de suporte; NRS = número de raízes de suporte; DRS = densidade de raízes de suporte; ARC = ângulo de raízes da coroa; NRC = número de raízes da coroa; DRC = densidade de raízes da coroa; Le x Li = contraste entre grupos de Linhagem eficientes x Linhagem ineficientes; H x L = contraste entre grupos de Híbridos x Linhagens; \* = diferença significativa a 5 %; \*\* = diferença significativa a 1 %; \*\*\* = diferença significativa a 0,1 %; e ns = não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

Cabe destacar que se trata de características associadas à extensão do sistema radicular e à sua penetração no solo. Assim, o ângulo radicular foi incrementado no ambiente WS, isto é, as raízes se apresentaram mais íngremes. Essa competência adaptativa é reportada em experimentos a campo e em casa de vegetação, nos quais a exploração de camadas subsuperficiais do solo está associada à maior produção de biomassa (Uga et al., 2013). Ademais, as linhagens eficientes apresentaram incrementos do ângulo de raízes da coroa e suporte de 34,29 % e 8,23 %, respectivamente; superiores às linhagens ineficientes, cujas estimativas de acréscimos foram de 12,34 % e 1,71 %, para ARS e ARC, respectivamente, quando comparados os ambientes WW e WS. Outros autores destacam o maior ângulo de desenvolvimento radicular em relação à superfície do solo, assim como o maior comprimento de raiz por parte das linhagens mais permissivas à adaptação ao déficit hídrico (Trachsel et al., 2011; Lynch, 2013), corroborando os resultados obtidos no presente trabalho. No que se refere à redução das estimativas de médias das características radiculares no ambiente WS em relação a WW, a aplicação do déficit hídrico promoveu reduções de 16,86 % e 4,40 % nas linhagens P2 e P3, respectivamente, para a característica CR. De outra forma, nas linhagens L61 e L63, houve redução de 5,00 % e de 10,53 %, respectivamente, para essa mesma característica.

Quando se comparam os grupos eficientes e ineficientes, a diminuição foi de 12,41 % e 6,05 %, respectivamente. Os híbridos P2x61 e P3xL63 apresentaram diminuição de 10,59 % e 15,82 %, respectivamente. Isso denota que, na comparação entre ambientes, as linhagens eficientes apresentaram decréscimo mais expressivo, no entanto, quando os ambientes são analisados separadamente, as linhagens ineficientes expressaram menores médias para comprimento de raiz. Vale destacar o acréscimo em ARS de 34,29 % para as linhagens ineficientes, o que demonstra, neste caso, a ocorrência de maior ângulo de desenvolvimento do sistema radicular em relação à superfície do solo, isto é, presença de raízes mais íngremes. Em contrapartida, linhagens e híbridos apresentaram valores de decréscimo para essa característica de 12,34 % e 0,30 %, respectivamente. Outra característica relacionada ao fenótipo radicular e que apresentou acréscimo no grupo de linhagens eficientes foi a ARC, com aumento de 8,23 %. Para essa mesma característica, observou-se decréscimo de 17,96 % quando foram considerados os híbridos. Ademais, a absorção de água por parte das raízes é essencial para o

enchimento dos grãos e, conseqüentemente, para a produtividade. Assim, o potencial de exploração em estratos mais profundos do solo é confirmado como estratégia importante para a caracterização de genótipos sob regime de *deficit* hídrico (Ali et al., 2016).

Em relação aos demais fenótipos radiculares, houve redução em MSR de 21,10 % e de 40,47 % nas linhagens L61 e L63, respectivamente. Nas linhagens P2 e P3, as reduções foram de 38,67 % e 41,88 %, respectivamente. As linhagens ineficientes no uso de água apresentaram menores médias para produção de biomassa – somatório de MSC, MSR e MSF – na magnitude de 30,30 e 49,52 g, enquanto nas eficientes o valor de biomassa total foi de 34,51 e 61,58 g, nos ambientes WS e WW, respectivamente. Essa característica está diretamente associada à aquisição de água por parte das raízes e a eficiência do processo fotossintético (Nemali et al., 2015). Em adição, as linhagens eficientes também apresentaram maiores taxas fotossintéticas líquidas – de 11,53 e 34,17  $\mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  – quando comparadas às ineficientes, nas quais foram aferidas estimativas de 7,31 e 30,21  $\mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , nos ambientes WS e WW, respectivamente. Significativas reduções em A e gs, na magnitude de 66,22 %, e 76,47 %, respectivamente, foram reportadas por Silva et al. (2012) na avaliação de genótipos de cana-de-açúcar submetidos a regimes hídricos distintos. Os autores também destacaram grandes danos nos aparelhos fotossintéticos, manifestados pela diminuição da eficiência fotoquímica do Fotossistema II, por meio da relação Fv/Fm.

### **5.3 Análise de trilha com características morfofisiológicas**

#### **5.3.1 Correlações genotípicas**

Analisando os coeficientes de correlação genotípica no ambiente WS, a característica CR expressou estimativa significativamente positiva para com CF (0,79), DC (0,70) e A (0,76); e negativa para com LF (-0,52) e Ci (-0,59), em nível de 1 % de probabilidade (Tabela 6). Para MSR, houve correlação significativa e positiva na interação em relação a DF (0,57), A (0,66), gs (0,98), Ci (0,97) e Fv/Fm (0,88); e negativa somente para com TF (-0,64).

**Tabela 6.** Estimativas das correlações genótípicas entre características morfoagronômicas em linhagens de milho-pipoca eficientes e ineficientes no uso de água, sob os ambientes WS e WW.

Variáveis	Ambiente	MSR	AP	LF	CF	DC	A	gs	Ci	TF	Fv/Fm	SPAD
CR	WS	-0,08 <sup>ns</sup>	-0,25 <sup>ns</sup>	-0,52*	0,79**	0,70**	0,76**	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,59**	-0,48*	0,48*	0,33 <sup>ns</sup>
	WW	0,04 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	-0,62**	-0,02 <sup>ns</sup>	-0,62**	-0,43*	0,00 <sup>ns</sup>	-0,64**	-0,22 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	-0,67**
MSR	WS		-0,50*	0,57**	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,42 <sup>ns</sup>	0,66**	0,98**	0,97**	-0,64**	0,88**	-0,11 <sup>ns</sup>
	WW		0,45*	-0,80**	0,78**	0,34 <sup>ns</sup>	0,82**	0,65**	0,70**	-0,63**	-0,14 <sup>ns</sup>	-0,20 <sup>ns</sup>
AP	WS			-0,81**	0,42 <sup>ns</sup>	-0,70**	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,55**	-0,18 <sup>ns</sup>	-0,32 <sup>ns</sup>	-0,95**	-0,89**
	WW			-0,52*	0,90**	-0,52*	0,04 <sup>ns</sup>	0,96**	0,47*	-0,97**	-0,83**	-0,80**
LF	WS				-0,93**	0,08 <sup>ns</sup>	-0,33 <sup>ns</sup>	0,75**	0,72**	0,51*	0,68**	0,49*
	WW				-0,66**	0,18 <sup>ns</sup>	-0,35 <sup>ns</sup>	-0,59**	-0,19 <sup>ns</sup>	0,70**	-0,01 <sup>ns</sup>	0,63**
CF	WS					0,00 <sup>ns</sup>	0,78**	-0,30 <sup>ns</sup>	-0,51*	-0,78**	-0,06 <sup>ns</sup>	-0,38 <sup>ns</sup>
	WW					-0,13 <sup>ns</sup>	0,47*	0,98**	0,74**	-0,95**	-0,69**	-0,57**
DC	WS						0,00 <sup>ns</sup>	-0,33 <sup>ns</sup>	-0,77**	0,61**	0,46*	0,95**
	WW						0,80**	-0,28 <sup>ns</sup>	0,49*	0,43*	0,35 <sup>ns</sup>	0,85**
A	WS							0,44*	0,15 <sup>ns</sup>	-0,96**	0,59**	-0,19 <sup>ns</sup>
	WW							0,31 <sup>ns</sup>	0,81**	-0,18 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>
gs	WS								0,92**	-0,37 <sup>ns</sup>	0,79**	-0,03 <sup>ns</sup>
	WW								0,67**	-0,97**	-0,79**	-0,66**
Ci	WS									-0,25 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	-0,38 <sup>ns</sup>
	WW									-0,50*	-0,58**	0,12 <sup>ns</sup>
TF	WS										-0,26 <sup>ns</sup>	0,72**
	WW										0,70**	0,80**
Fv/Fm	WS											0,60**
	WW											0,44*
R <sup>2</sup>								1,00				1,22
Efeito residual					WS			0,00		WW		0,00
Colinearidade								100,25				49,47

CR = comprimento de raiz; AP = altura média de planta; AF = área foliar; MSR = massa seca de raiz; LF = ; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; TF = temperatura foliar; Ci/Ca = relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico; Amb = ambiente; \* = significativo em 5 %; \*\* = significativo em 1 %; e ns = não significativo em 5 % de probabilidade pelo teste t.



A característica taxa fotossintética líquida (A) se correlacionou positivamente com gs (0,44) e Fv/Fm (0,59), além das já citadas CR e MSR. Por outro lado, expressou estimativa negativa para com TF (-0,95), demonstrando os danos do aumento de temperatura sobre o processo fotossintético. AP, por sua vez, proporcionou correlação significativa e negativa com LF (-0,81), DC (-0,70), gs (-0,55), Fv/Fm (-0,95) e SPAD (-0,89) (Tabela 6). Ali et al. (2016), avaliando o sistema radicular de genótipos de milho a campo e em casa de vegetação, sob regimes hídricos distintos, reportaram correlações genotípicas significativas e positivas entre incremento de biomassa e características do fenótipo radicular – peso total de raízes secas (0,95), relação entre profundidade de raiz e altura de planta (0,87), massa seca de raízes profundas (0,86) e profundidade de raiz (0,85).

Analisando o ambiente WW, a característica CR expressou correlação significativa e negativa para com DF (-0,62), DC (-0,62), A (-0,43), Ci (-0,64) e SPAD (-0,67) (Tabela 8). Para MSR, houve correlações positivas e significativas com AP (0,45), CF (0,78), A (0,82), gs (0,65) e Ci (0,70). Entretanto, apresentou correlações negativas e significativas com DF (-0,80) e TF (-0,63). A característica AP apresentou correlações positivas com CF (0,90), gs (0,96), Ci (0,47) e MSR (0,45) e negativas com DF (-0,52), DC (-0,52), TF (-0,97), Fv/Fm (-0,83) e SPAD (-0,80). Para a característica taxa fotossintética (A), as correlações significativas e positivas foram observadas com CF (0,47), DC (0,80), Ci (0,81), além da já mencionada MSR (Tabela 6).

Para a análise de trilha das variáveis morfofisiológicas, procedeu-se ao diagnóstico de colinearidade entre as características, com o objetivo de determinar a relação linear entre a variável básica (CR) e as demais características. O diagnóstico de multicolinearidade indicou colinearidade fraca em ambos os ambientes WS (100,25) e WW (49,47); isto posto, não foi necessária a transformação de dados para a melhoria das relações entre as variáveis, nem a exclusão de variáveis (Tabela 6). Vale ressaltar ainda o baixo efeito residual (0,00 para WS e WW) e elevado coeficiente de determinação (1,00 para WS e 1,22 para WW) no diagnóstico de multicolinearidade, mostrando que foi explicada 100 % da variação de CR (Montgomery e Peck, 1981).

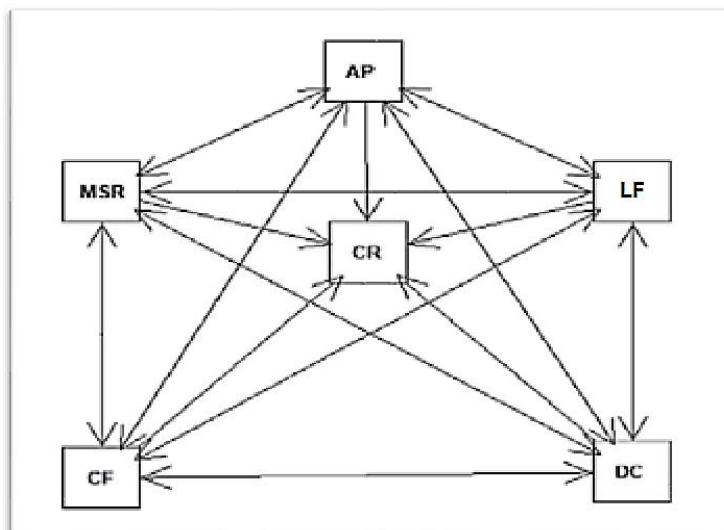
### 5.3.2 Efeitos diretos e indiretos entre variáveis da primeira cadeia

Os coeficientes de trilha ( $R^2$ ), em ambos os ambientes, foram significativos pelo teste t, o que indica uma confiável configuração do modelo para explicar os efeitos genéticos, refletindo em alta contribuição dos caracteres explicativos utilizados no modelo relacionado a cada variável de primeira cadeia (Figura 7).

**Tabela 7.** Desdobramentos das correlações genóticas em componentes de efeitos diretos e indiretos obtidos entre os caracteres morfológicos de primeira cadeia e a variável principal (CR), avaliados em linhagens de milho-pipoca sob condições de WW e WS.

Variáveis / efeitos	CR		Variáveis / efeitos	CR			
	WS	WW		WS	WW		
MSR	Efeito direto sobre CR	1,32	0,03	Efeito direto sobre CR	0,90	-0,36	
	Efeito indireto via AP	-0,39	-0,31	Efeito indireto via MSR	-0,57	0,03	
	Efeito indireto via DF	-0,41	2,42	AP	Efeito indireto via DF	0,56	1,01
	Efeito indireto via CF	0,02	-1,43		Efeito indireto via CF	-0,08	-0,98
	Efeito indireto via DC	-0,60	-0,52		Efeito indireto via DC	-1,03	0,43
	Total	-0,06	0,19		Total	-0,22	0,12
LF	Efeito direto sobre CR	-0,76	-1,51	Efeito direto sobre CR	-0,18	-0,99	
	Efeito indireto via MSR	0,71	-0,05	Efeito indireto via MSR	-0,14	0,05	
	Efeito indireto via AP	-0,66	0,24	CF	Efeito indireto via AP	0,37	-0,36
	Efeito indireto via CF	0,16	0,74		Efeito indireto via DF	0,66	1,13
	Efeito indireto via DC	0,07	-0,24		Efeito indireto via DC	0,06	0,13
	Total	-0,49*	-0,83**		Total	0,77**	-0,05
DC	Efeito direto sobre CR	1,68	-0,64				
	Efeito indireto via MSR	-0,47	0,03				
	Efeito indireto via AP	-0,55	0,24				
	Efeito indireto via DF	-0,03	-0,57				
	Efeito indireto via CF	-0,01	0,19				
Total	0,62**	-0,76**					
R <sup>2</sup> :		1,00			1,23		
Efeito residual:	WS	0,00		WW	0,00		

AP = altura de planta; AF = área foliar; MSR = massa seca de raiz; LF = largura de folha; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico; \* = significativo em 5 %; \*\* = significativo em 1 %; e ns = não significativo em 5 % de probabilidade pelo teste t.



**Figura 5.** Diagrama causal da análise de trilha com variável principal – comprimento de raiz (CR) – e variáveis explicativas de primeira cadeia – massa seca de raiz (MSR), altura média de plantas (AP), largura de folha (LF), diâmetro de colmo (DC) e comprimento foliar (CF).

De posse das estimativas de correlações genóticas e do diagnóstico de multicolinearidade, procedeu-se à análise de trilha com os desdobramentos dos efeitos diretos e indiretos das variáveis de primeira cadeia sobre a variável principal (CR). Na Análise do ambiente estressado (WS), as variáveis que apresentaram efeitos totais significativos sobre CR foram LF (-0,49), CF (0,77) e DC (0,62). Entretanto, as variáveis MSR, AP, DC e DF apresentaram efeitos diretos significativos sobre CR, nas magnitudes de 1,32; 0,90; 1,68 e -0,76, respectivamente (Tabela 9).

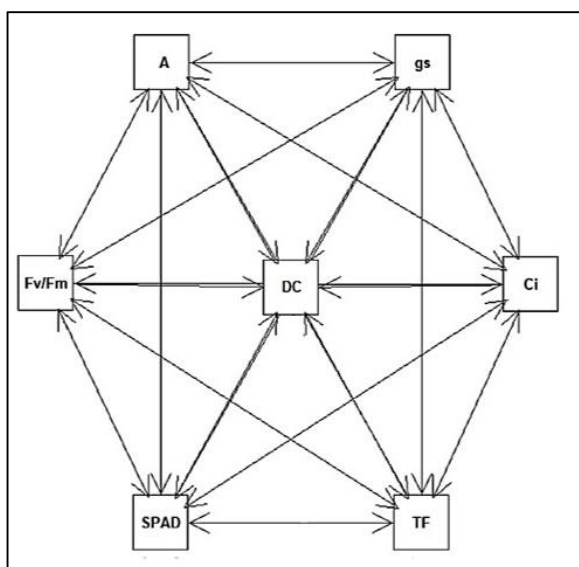
Na análise do ambiente bem irrigado (WW), as variáveis com efeitos totais significativos sobre a característica principal (CR) foram DF (-0,83) e DC (-0,76). De forma similar ao ambiente WS, algumas características apresentaram efeito direto de altas magnitudes sobre a variável básica (CR), apesar de o efeito total ter sido indiferente, podendo ser citada a variável CF (-0,99) (Tabela 7).

A variável DC apresentou os efeitos diretos e totais mais interessantes – por seu efeito direto de alta magnitude e total significativo – mas somente no ambiente com estresse hídrico (WS) e, deste modo, será trabalhada apenas nesse ambiente para os próximos desdobramentos. A variável LF apresentou efeitos totais e diretos significativo, porém com sinais contrários (negativos), e as demais variáveis ora expressaram efeito total, ora efeito direto significativos, para com a característica

comprimento de raiz (CR), não sendo assim consideradas nos próximos desdobramentos.

### 5.3.3 Efeitos diretos e indiretos entre as variáveis selecionadas DF e caracteres fisiológicos de segunda cadeia

Nessa etapa, tendo como referência a análise dos efeitos diretos e totais da primeira cadeia sobre a variável principal – CR –, foi selecionada a característica DC, que apresentou efeitos mais expressivos sobre o comprimento de raiz (Figura 6).



**Figura 6.** Diagrama causal com variável selecionada de primeira cadeia – diâmetro de colmo (DC) – associada com variáveis de segunda cadeia – taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci), temperatura foliar (TF), teor relativo de clorofila (SPAD) e fluorescência da clorofila (Fv/Fm).

Cabe destacar o efeito direto mais proeminente de A sobre a variável de primeira cadeia, de valor 0,97 para DC. Em se tratando dos efeitos indiretos sobre DC, ocorreu ação indireta mais contundente para com TF e Ci, via SPAD, nas magnitudes de 0,74 e -0,38, respectivamente (Tabela 7).

**Tabela 8.** Desdobramento das correlações genóticas em componentes de efeitos diretos e indiretos obtidos entre a característica DC de primeira cadeia e fisiológicos de segunda cadeia, avaliados em linhagens de milho-pipoca, sob condições WW e WS.

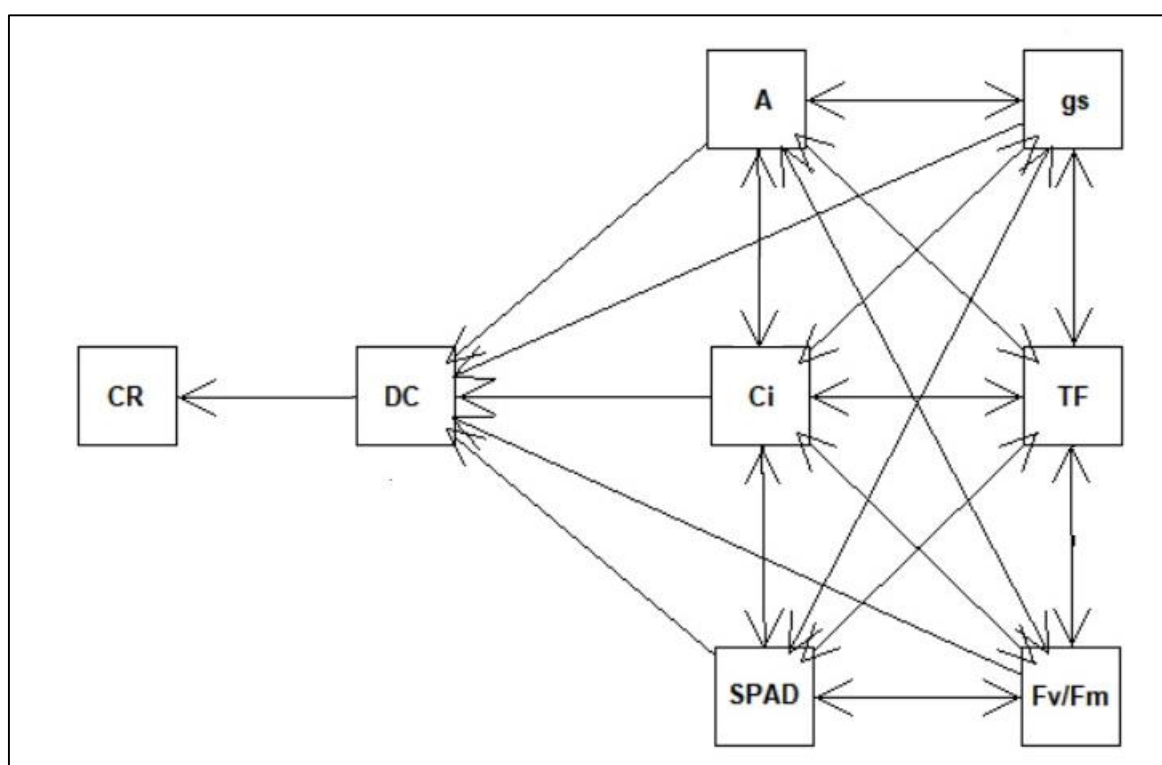
Variáveis / efeitos	DC		Variáveis / efeitos	DC			
	WS	WW		WS	WW		
A	Efeito direto sobre CR	0,97	0,62	gs	Efeito direto sobre CR	-0,05	0,15
	Efeito indireto via gs	-0,02	0,05		Efeito indireto via A	0,41	0,22
	Efeito indireto via Ci	0,00	0,21		Efeito indireto via Ci	-0,01	0,18
	Efeito indireto via TF	-0,37	0,00		Efeito indireto via TF	-0,14	-0,51
	Efeito indireto via Fv/Fm	-0,35	-0,02		Efeito indireto via Fv/Fm	-0,47	-0,21
	Efeito indireto via SPAD	-0,25	0,13		Efeito indireto via SPAD	-0,02	-0,22
	Total	-0,02	0,99**		Total	-0,29	-0,38
C	Efeito direto sobre CR	-0,02	0,23	TF	Efeito direto sobre CR	0,41	0,38
	Efeito indireto via A	0,10	0,59		Efeito indireto via A	-0,86	0,00
	Efeito indireto via gs	-0,04	0,12		Efeito indireto via gs	0,02	-0,20
	Efeito indireto via TF	-0,10	-0,20		Efeito indireto via Ci	0,00	-0,12
	Efeito indireto via Fv/Fm	-0,22	-0,15		Efeito indireto via Fv/Fm	0,14	0,23
	Efeito indireto via SPAD	-0,38	0,04		Efeito indireto via SPAD	0,74	0,28
	Total	-0,65**	0,62**		Total	0,44*	0,55**
Fv/Fm	Efeito direto sobre CR	-0,63	0,23	SPAD	Efeito direto sobre CR	1,17	0,28
	Efeito indireto via A	0,54	-0,06		Efeito indireto via A	-0,20	0,28
	Efeito indireto via gs	-0,04	-0,14		Efeito indireto via gs	0,00	-0,12
	Efeito indireto via Ci	-0,01	-0,15		Efeito indireto via Ci	0,01	0,03
	Efeito indireto via TF	-0,09	0,37		Efeito indireto via TF	0,26	0,37
	Efeito indireto via SPAD	0,61	0,13		Efeito indireto via Fv/Fm	-0,33	0,11
	Total	0,39	0,39		Total	0,91**	0,96**
R <sup>2</sup> :			1,01		1,01		
Efeito residual:		WS	0,00	WW	0,00		

DC = diâmetro de colmo; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; TF = temperatura foliar; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico; \* = significativo em 5 %; \*\* = significativo em 1 %; e ns = não significativo em 5 % de probabilidade pelo teste t.

Os coeficientes de trilha ( $R^2$ ) em ambos os ambientes foram significativos pelo teste t, Tabela 8, o que indica uma confiável configuração do modelo para explicar os efeitos genéticos, refletindo a alta contribuição dos caracteres explicativos utilizados no procedimento.

### 5.3.4 Efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas de segunda cadeia sobre a variável principal CR, via DC

Nessa secção, as variáveis de segunda cadeia (fisiológicas) foram associadas a DC, selecionada dentro da primeira cadeia (morfológicas) para averiguar os efeitos diretos, indiretos e totais sobre a variável principal comprimento de raiz (CR) (Figura 7). As demais relações de efeitos diretos e indiretos entre as variáveis de primeira e segunda cadeias estão apresentadas no Apêndice 2, em Material Suplementar.



**Figura 7.** Diagrama causal da variável principal comprimento de raiz (CR) em relação às variáveis selecionadas de primeira cadeia – diâmetro de colmo (DC) – associada a variáveis de segunda cadeia – taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci), temperatura foliar (TF), teor relativo de clorofila (SPAD) e fluorescência da clorofila (Fv/Fm).

No ambiente estressado (WS), a taxa fotossintética líquida (A) apresentou alto efeito direto total (1,45) sobre a variável principal, associado à característica de primeira cadeia (DC), com magnitude de 1,62, e efeito residual nulo (0,00), mostrando a importância do efeito dessa característica em relação ao comprimento de raiz (CR), nas condições estudadas (Tabela 9).

No ambiente WS, Ci apresentou baixo efeito direto total (-0,16); no entanto, os efeitos indiretos via SPAD (-0,20) e Fv/Fm (-0,17) promoveram a ocorrência de efeito total sobre a variável principal (CR), com efeito residual nulo (0,00). Ademais, para a variável Fv/Fm, observou-se efeito total de valor 0,41, apesar de seus efeitos diretos para com a variável de primeira cadeia (DC) terem sido negativos, com estimativa de -1,06, respectivamente, e efeito residual nulo.

No ambiente WS, o teor relativo de clorofila (SPAD) não apresentou efeito total significativo (0,30), apesar do alto efeito direto (0,62), efeito residual nulo, bem como semelhante efeito na associação com DC, com valor de 1,97. Por outro lado, no ambiente WW, SPAD apresentou efeito total significativo, com estimativa de -0,74, associado inversamente, entretanto, mais contundentemente para com o efeito direto (-0,77) dessa característica com as selecionadas da primeira cadeia, além de baixo efeito residual (0,07). Esse resultado mostra a interessante e relevante associação entre CR e SPAD.

Para fins de melhoramento, é importante identificar, entre os caracteres de alta correlação com a variável básica, aqueles de maior efeito direto em sentido favorável à seleção, de tal forma que a resposta correlacionada por meio da seleção indireta seja eficiente (Cruz et al., 2012). A condução adequada da análise de trilha deve respeitar a composição dos diagramas causais e o diagnóstico de multicolinearidade entre as características (Cruz et al., 2012). Dessa forma, verificou-se que o diagrama utilizado, dividido em duas cadeias, permitiu explicar, predominantemente, 100 % ( $R^2$ ) da variação em CR. Ademais, os valores de multicolinearidade dos dados permitiram inferir acerca dos efeitos das características de primeira cadeia (morfológicas) e segunda (fisiológicas), haja vista que apresentaram colinearidade fraca, de 100,25 para WS e de 49,47 para WW.

**Tabela 9.** Desdobramento das correlações genóticas em componentes de efeitos diretos e indiretos entre a variável principal e a variável morfológica de primeira cadeia (DC) e as fisiológicas de segunda cadeia, avaliadas em linhagens de milho-pipoca sob condições de WW e WS.

Variáveis / efeitos		DC		Efeito residual		Total	
		WS	WW	WS	WW	WS	WW
A	Direto CR	1,62	-0,40	-1,58	0,39	1,45	0,09
	Indireto gs	-0,03	-0,03	0,20	0,03	-0,06	0,22
	Indireto Ci	0,00	-0,14	-0,10	-0,95	-0,02	-0,46
	Indireto TF	-0,61	0,00	0,81	0,00	-0,26	0,00
	Indireto Fv/Fm	-0,59	0,01	0,54	0,12	-0,27	-0,09
	Indireto SPAD	-0,42	-0,08	0,12	0,25	-0,13	-0,35
	Total	-0,04	-0,64**	0,00	-0,16	0,70**	-0,59**
gs	Direto CR	-0,08	-0,10	0,48	0,07	-0,15	0,61
	Indireto A	0,68	-0,14	-0,67	0,14	0,61	0,03
	Indireto Ci	-0,02	-0,11	-0,87	-0,78	-0,14	-0,38
	Indireto TF	-0,24	0,33	0,32	-0,20	-0,10	-0,04
	Indireto Fv/Fm	-0,80	0,13	0,73	1,17	-0,37	-0,92
	Indireto SPAD	-0,03	0,14	0,01	-0,42	-0,01	0,59
	Total	-0,48*	0,24	0,00	-0,03	-0,16	-0,10
Ci	Direto CR	-0,03	-0,15	-0,99	-1,00	-0,16	-0,48
	Indireto A	0,16	-0,38	-0,16	0,37	0,15	0,09
	Indireto gs	-0,07	-0,08	0,42	0,06	-0,13	0,48
	Indireto TF	-0,16	0,13	0,22	-0,08	-0,07	-0,02
	Indireto Fv/Fm	-0,36	0,10	0,33	0,86	-0,17	-0,67
	Indireto SPAD	-0,63	-0,02	0,19	0,07	-0,20	-0,10
	Total	-1,09**	-0,40	0,00	0,28	-0,59**	-0,70**



**Tabela 9. Cont.**

Variáveis / efeitos		DC		Efeito residual		Total	
		WS	WW	WS	WW	WS	WW
TF	Direto CR	0,69	-0,24	-0,91	0,15	0,29	0,03
	Indireto A	-1,45	0,00	1,41	0,00	-1,30	0,00
	Indireto gs	0,03	0,13	-0,17	-0,10	0,05	-0,82
	Indireto Ci	0,01	0,08	0,24	0,53	0,04	0,26
	Indireto Fv/Fm	0,23	-0,15	-0,21	-1,28	0,10	1,00
	Indireto SPAD	1,24	-0,18	-0,36	0,55	0,39	-0,77
	Total	0,74**	-0,36	0,00	-0,14	-0,41	-0,30
Fv/Fm	Direto CR	-1,06	-0,15	0,97	-1,30	-0,49	1,02
	Indireto A	0,91	0,04	-0,88	-0,04	0,81	-0,01
	Indireto gs	-0,06	0,09	0,36	-0,07	-0,11	-0,55
	Indireto Ci	-0,01	0,10	-0,34	0,66	-0,05	0,32
	Indireto TF	-0,15	-0,24	0,19	0,15	-0,06	0,03
	Indireto SPAD	1,02	-0,09	-0,30	0,26	0,32	-0,37
	Total	0,65**	-0,25	0,00	-0,34	0,41	0,44*
SPAD	Direto CR	1,97	-0,18	-0,58	0,55	0,62	-0,77
	Indireto A	-0,34	-0,18	0,33	0,18	-0,31	0,04
	Indireto gs	0,00	0,07	-0,01	-0,06	0,00	-0,47
	Indireto Ci	0,01	-0,02	0,32	-0,13	0,05	-0,06
	Indireto TF	0,43	-0,24	-0,57	0,15	0,18	0,03
	Indireto Fv/Fm	-0,55	-0,07	0,50	-0,62	-0,25	0,49
	Total	1,52**	-0,62**	0,00	0,07	0,30	-0,74**

DC = diâmetro de colmo; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; TF = temperatura foliar; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico; significativo em 5 %; \*\* = significativo em 1 %; e ns = não significativo em 5 % de probabilidade pelo teste t.

Na análise do ambiente estressado (WS), a variável DC (primeira cadeia) apresentou efeitos totais significativos sobre CR, de 0,62, o que permite classificá-la como característica interessante para seleção indireta da variável básica. Segundo Cruz et al. (2013), caracteres que apresentam efeito direto no mesmo sentido da correlação com o caráter principal indicam presença de causa e efeito, sugerindo que o caráter auxiliar é o principal determinante das alterações no caráter básico. Portanto, além das características já mencionadas, as variáveis MSR e AP, que apresentaram efeitos diretos significativos sobre CR, na magnitude de 1,32 e 0,90, respectivamente, também podem ser elencadas como promissoras para a seleção indireta.

Na etapa seguinte, considerando a análise da primeira cadeia, foi selecionada a variável e DC para prosseguir com a trilha, utilizando como critério os efeitos diretos e totais sobre a variável básica. Dos componentes da cadeia secundária, apenas Ci apresentou efeito total negativo significativo sobre DC, na condição WS, com estimativa de -0,65, evidenciando, assim, que não há ganho com a variável principal, selecionando-a via Ci. No entanto, a seleção via Ci deve ser feita buscando valores menores de concentração interna de CO<sub>2</sub>. Vale salientar ainda a ação direta de A (0,97) e SPAD (1,17) via DC, indicando presença de causa e efeito sobre a variável básica (CR) (Tabela 9).

Prosseguindo com a análise e abordando o efeito das variáveis de segunda cadeia sobre a variável básica, cabe destacar a associação entre o teor relativo de clorofila foliar (SPAD) e o processo fotossintético. A relação entre esses dois caracteres é explorada por alguns autores, sobretudo em experimentos a campo, nos quais a avaliação da taxa fotossintética líquida (A) é dificultada, assim, o conteúdo de clorofila foliar por meio do índice SPAD torna-se uma prática eficiente na análise do processo fotossintético (Nemali et al., 2015; Ali et al., 2016; Kamphorst et al., 2018b). Hajibabae et al. (2012), avaliando caracteres morfofisiológicos e agronômicos em híbridos de milho sob estresse hídrico, reportaram forte correlação e de sinal positivo entre o teor de clorofila foliar e o desenvolvimento vegetativo, associado, sobretudo, à altura de planta e à massa seca da parte aérea. Qi et al. (2012), avaliando caracteres morfofisiológicos em diferentes cultivares de milho, relataram que a maior eficiência do sistema radicular na absorção de água e nutrientes está associada à exploração de camadas

subsuperficiais do solo, além de essa característica estar fortemente correlacionada ao processo fotossintético e ao conteúdo de clorofila nas folhas.

Na próxima etapa envolvendo o ambiente WW, a variável de primeira cadeia selecionada, DC, foi associada aos caracteres fisiológicos da segunda cadeia (Tabela 8). Em se tratando das correlações via DC, destacaram-se A (0,99), Ci (0,62), TF (0,55) e SPAD (0,96), com efeitos totais significativos e positivos. Dessas correlações, somente taxa de fotossíntese líquida (A) apresentou contundente efeito direto, com valor de 0,62, o que torna esse caráter importante e apropriado para a seleção indireta via DC. Ademais, tanto A quanto DC apresentaram correlações genóticas significativas e positivas com CR (Tabela 8).

A inequívoca dificuldade de avaliar o sistema radicular, principalmente, em condição de campo, reforça a necessidade de adotar estratégias indiretas e eficientes para a seleção ideal do fenótipo radicular de interesse (Lynch, 2013). O desenvolvimento de raízes em camadas mais profundas do solo tem sido referenciado por diversos autores como um mecanismo eficiente na absorção de água e nutrientes (Yoshida e Hasegawa, 1982; Fukai e Cooper, 1995; Gowda et al., 2011). Ali et al. (2016), avaliando genótipos de milho em condição de campo e em casa de vegetação, reportaram forte correlação entre a arquitetura de raiz e a produtividade de grãos, além da maior eficiência na absorção de água por um sistema radicular mais profundo, tanto sob estresse hídrico quanto em condições normais de cultivo. Neste cenário, cabe destacar a importância da característica DC, um caráter de fácil mensuração, que apresentou estimativa de correlação genética positiva e significava com CR, além de valores expressivos e significativos de efeito total e direto para com a variável principal na análise de trilha. Ademais, a adoção da seleção indireta pelos caracteres taxa fotossintética líquida (A) e teor relativo de clorofila (SPAD) mostra-se uma estratégia eficiente na busca por um sistema radicular mais desenvolvido na fidedigna descrição de genótipos mais eficientes no uso e na absorção de água.

## 6. CONCLUSÕES

As linhagens previamente selecionadas como eficientes no uso da água apresentaram maior desenvolvimento do sistema radicular, assim como, maior eficiência do maquinário fotossintético. O ambiente WS discriminou com maior precisão a diferença entre os genótipos para as características morfofisiológicas. Apesar de apresentarem maior redução porcentual nas características relacionadas à tolerância ao estresse hídrico, quando os ambientes são comparados, as linhagens P2 e P3 foram mais eficientes no uso da água. As características CR, MSR, DC, A e SPAD foram efetivas para a determinação da expressão radicular e fisiológica das linhagens e híbridos testados nesse experimento. Ademais, o estudo dessas características em um programa de melhoramento de plantas é importante para direcionar outros experimentos com a seleção de genótipos eficientes no uso de água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adebayo, M.A., Menkir, A., Blay, E., Gracen, V., Danquah, E., Hearne, S. (2014) Genetic analysis of drought tolerance in adapted × exotic crosses of maize inbred lines under managed stress conditions. *Euphytica* 196: 261–270.
- Ali, F., Ahsan, M., Ali, Q., Kanwal, N. (2017) Phenotypic Stability of Zea mays Grain Yield and Its Attributing Traits under Drought Stress. *Front Plant Sci* 8: 1–11.
- Ali, M.L., Luetchens, J., Singh, A., Shaver, T.M., Kruger, G.R., Lorenz, A.J. (2016) Greenhouse screening of maize genotypes for deep root mass and related root traits and their association with grain yield under water-deficit conditions in the field. *Euphytica* 207: 79–94.
- Ali, Q., Ali, A., Waseem, M., Muzaffar, A. (2014) Correlation analysis for morpho-physiological traits of maize ( *Zea mays L.* ).
- Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., de Paiva Freitas Júnior, S., Candido, L.S., Vittorazzi, C., Pena, G.F., Ribeiro, R.M., da Conceição Silva, T.R., Pereira, M.G., Scapim, C.A., Viana, A.P., de Carvalho, G.F. (2013) UENF 14: A new popcorn cultivar. *Crop Breed Appl Biotechnol* 13: 218–220.
- Araus, J.L. (2002) Plant Breeding and Drought in C3 Cereals: What Should We Breed For?. *Ann Bot* 89: 925–940.
- Araus, J.L., Sánchez, C., Cabrera-Bosquet, L. (2010) Is heterosis in maize mediated through better water use?. *New Phytol* 187: 392–406.

- Bergamaschi, H.; Dalmago, G. A.; Comiran, F., Bergonci, J. I.; Müller, A. G., França, S.; Santos, A.O; Radin, B; Bianchi, C.A.E; Pereira, P.G. (2006) Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 243–249.
- Binott, J.J., Owuoché, J.O., Bartels, D. (2017) Physiological and molecular characterization of Kenyan barley (*Hordeum vulgare L.*) seedlings for salinity and drought tolerance. *Euphytica* 213: 1–23.
- Blake, M. (2015) *Maize for the Gods: Unearthing the 9,000-year History of Corn*. 17-53p.
- Bortolini, C. G., Silva, P. R. F. D., Argenta, G., Forsthofer, E.L. (2001) Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em resposta a adubação nitrogenada e regime hídrico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 1101–1106.
- Brasil. Ministério da Agricultura, P. e A. (2014) Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal. Instrução normativa MAPA nº 61, de 22.12.2011 com as alterações da Instrução Normativa MAPA nº 04, de 26.02.2014.
- Brasil. Ministério da Agricultura, P. e A. (2016) Capacidade de expansão do milho pipoca.
- Bray, E.A. (1993) Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol* 103: 1035.
- Bray, E.A. (1997) Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci* 2: 48–54.
- Burnham Larish, L. L., Brewbaker, J.L. (1999) Diallel analyses of temperate and tropical popcorns. *Maydica* 44: 279–284.
- Catapatti, T.R., Gonçalves, M.C., Silva Neto, M.R., Sobroza, R. (2008) Tamanho de amostra e número de repetições para avaliação de caracteres agronômicos em milho-pipoca. *Ciência e Agrotecnologia* 32: 855–862.
- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A., Stanca, A.M. (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *F Crop Res* 105: 1–14.

- Costa, J. R., Pinho, J. L., Parry, M.M. (2008) Produção de matéria seca de cultivares de milho sob diferentes níveis de estresse hídrico. *R Bras Eng Agríc Ambient* 12: 443–450.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. Carneiro, P.C.S. (2012) *Métodos biométricos aplicados ao melhoramento*. 181-209p.
- Cruz, C.. (2006) Programa Genes: estatística experimental e matrizes.
- Durães, F.O.M., Santos, M.X. dos., Gama, E.E.G. e., Magalhães, P.C., Albuquerque, P.E.P., Guimarães, C.T. (2004) Fenotipagem Associada à Tolerância à Seca em Milho. 1–15.
- Edmeades, G. O., Bolaños, J., Lafitte, H. R., Listman, G.M. (1995) Progress in breeding for drought tolerance in maize.
- Edmeades, G. O., Cooper, M., Lafitte, R., Zinselmeier, C., Ribaut, J. M., Habben, J. E., Banziger, M. (2000) Abiotic stresses and staple crops. *Crop Sci Prog Prospect* 33: 1029–1035.
- Elazab, A., Molero, G., Serret, M.D., Araus, J.L. (2012) Root traits and  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  of durum wheat under different water regimes. *Funct Plant Biol* 39: 379–393.
- Fang, Y., Xiong, L. (2015) General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell Mol Life Sci* 72: 673–689.
- Fantin, G. M., Sawazaki, E., & Barros, B.C. (1991) Avaliação de genótipos de milho pipoca quanto à resistência a doenças e à qualidade da pipoca. *Summa Phytopathol* 17: 90–99.
- Farooq, M., Hussain, M., Siddique, K.H.M. (2014) Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-filling Periods. *CRC Crit Rev Plant Sci* 33: 331–349.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. (2009) Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. *In: Sustainable Agriculture*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 153–188
- Finogenova, N., Dolganova, I., Berger, M., Núñez, M., Blizniukova, D., Müller-Frank, A., Finkbeiner, M. (2019) Water footprint of German agricultural imports: Local

- impacts due to global trade flows in a fifteen-year perspective. *Sci Total Environ* 662: 521–529.
- Flint-Garcia, S.A. (2017) *Kernel Evolution: From Teosinte to Maize*. 1-18p.
- Freitas Junior, S. de., Amaral Junior, A.T., Rangel, R.M., Viana, A.P. (2009) Predição de ganhos genéticos na população de milho pipoca UNB- 2U sob seleção recorrente, utilizando diferentes índices de seleção Genetic gain prediction on UNB-2U popcorn population under recurrent selection by using different selection indexes. 30: 803–814.
- Fukai, S., Cooper, M. (1995) Development of drought-resistant cultivars, using physiomorphological traits in rice. *F Crop Res* 40: 67–86.
- Galli, A., Wiedmann, T., Ercin, E., Knoblauch, D., Ewing, B., Giljum, S. (2012) Integrating Ecological, Carbon and Water footprint into a “Footprint Family” of indicators: Definition and role in tracking human pressure on the planet. *Ecol Indic* 16: 100–112.
- Gao, Y., Lynch, J.P. (2016) Reduced crown root number improves water acquisition under water deficit stress in maize (*Zea mays L.*). *J Exp Bot* 67: 4545–4557.
- Garg, B.K. (2003) Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. *Curr Agric* 27: 1–8.
- Gechev, T.S., Van Breusegem, F., Stone, J.M., Denev, I., Laloi, C. (2006) Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays* 28: 1091–1101.
- Gill, S.S., Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* 48: 909–930.
- Golbashy, M., Ebrahimi, M., Khorasani, S. K., Choukan, R. (2010) Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays L.*) hybrids in Iran. *African J Agric Res* 5: 2714–2719.
- Gowda, V.R.P., Henry, A., Yamauchi, A., Shashidhar, H.E., Serraj, R. (2011) Root biology and genetic improvement for drought avoidance in rice. *F Crop Res* 122: 1–13.
- Guimarães, L. J. M., Mendes, F. F., GUIMARAES, P. D. O., Pacheco, C. A. P.,



- Meirelles, W. F., MACHADO, J. D. A., Parentoni, S.N. (2013) Desempenho de híbridos de milho sob estresse de seca. In Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE).
- Gupta, T., Crooks, N., Mulhern, W., Setty, S. T., Alvisi, L., & Walfish, M. (2016) Scalable and Private Media Consumption with Popcorn. *NSDI* 16: 91–107.
- Hajibabae, M., Azizi, F., & Zargari, K. (2012) Effect of drought stress on some morphological, physiological and agronomic traits in various foliage corn hybrids. *Am Eurasian J Agric Env Sci* 12: 890–896.
- Hao, Z.-F., Li, X.-H., Su, Z.-J., Xie, C.-X., Li, M.-S., Liang, X.-L., Weng, J.-F., Zhang, D.-G., Li, L., Zhang, S.-H. (2011) A proposed selection criterion for drought resistance across multiple environments in maize. *Breed Sci* 61: 101–108.
- Heiser Jr, C.B. (1997) Sementes para a civilização: a história da alimentação humana.
- Hsiao, T. C., Acevedo, E., Fereres, E., Henderson, D.W. (1976) Water stress, growth, and osmotic adjustment.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2018) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.
- Iizumi, T., Ramankutty, N. (2016) Changes in yield variability of major crops for 1981–2010 explained by climate change. *Environ Res Lett* 11: 034003.
- Institute, S.A.S. (2002) SAS procedures guide.
- Jongdee, B., Fukai, S., Cooper, M. (2002) Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. *F Crop Res* 76: 153–163.
- Kamphorst, S.H., de Lima, V.J., Schimitt, K.F.M., Leite, J.T., Azeredo, V.C., Pena, G.F., Santos, P.H.A.D., Júnior, D.R.S., Júnior, S.B. da S., Bispo, R.B., Santos, T.O., Khan, S., Júnior, A.T. do A. (2018a) Water stress adaptation of popcorn roots and association with agronomic traits. *Genet Mol Res* 17: 1–14.
- Kamphorst, S.H., Lima, V.J. De., Leite, J.T., Carvalho, C.M., Xavier, K.B., Campostrini, E. (2018b) Popcorn breeding for water-stress tolerance or for agronomic water-use efficiency?. *17*: 1–18.

- Kantety, R. V., Zeng, X., Bennetzen, J.L., Zehr, B.E. (1995) Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines, using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Mol Breed* 1: 365–373.
- Kistler, L., Maezumi, S.Y., Gregorio de Souza, J., Przelomska, N.A.S., Malaquias Costa, F., Smith, O., Loiselle, H., Ramos-Madrigal, J., Wales, N., Ribeiro, E.R., Morrison, R.R., Grimaldo, C., Prous, A.P., Arriaza, B., Gilbert, M.T.P., de Oliveira Freitas, F., Allaby, R.G. (2018) Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. *Science* (80- ) 362: 1309–1313.
- Kozłowski, T.T. (2015) *Plant Water Consumption and Response*. 135-325p.
- Lima, V.J., do Amaral Junior, A.T., Kamphorst, S.H., Pena, G.F., Leite, J.T., Schmitt, K.F.M., Vittorazzi, C., de Almeida Filho, J.E., Mora, F. (2016) Combining ability of S3 progenies for key agronomic traits in popcorn: comparison of testers in top-crosses. *Genet Mol Res*. doi: 10.4238/gmr15049319
- Linares, E. (1987) Seleção recorrente recíproca em famílias de meios-irmãos em milho-pipoca (*Zea mays* L.).
- Lu, E., Luo, Y., Zhang, R., Wu, Q., Liu, L. (2011) Regional atmospheric anomalies responsible for the 2009-2010 severe drought in China. *J Geophys Res Atmos*. doi: 10.1029/2011JD015706
- Lynch, J.P. (2013) Steep, cheap and deep: An ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Ann Bot* 112: 347–357.
- Marinho Câmara, T. M., Vieira Bento, D. A., Ferreira Alves, G., Figueiredo Santos, M., Vieira Moreira, J. U., Lopes de Souza, C. (2007) Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. *Bragantia* 66: 595–603.
- Matteucci, M. B. A; Leandro, W. M; Ferreira, J. P; Melo Neto, A.J. (2009) Seleção massal para cor de tegumento de uma variedade crioula de milho pipoca (*Zea mays* L.).
- Mir, R.R., Zaman-Allah, M., Sreenivasulu, N., Trethowan, R., Varshney, R.K. (2012) Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor Appl Genet* 125: 625–645.

- Miranda, D. S., da Silva, R. R., Tanamati, A. A. C., Cestari, L. A., Madrona, G. S., & Scapim, M.R. (2012) Avaliação da qualidade do milho-pipoca. *Rev Tecnológica* 13–20.
- Montgomery, D.C.; Peck, E.. (1981) *Introduction to linear regression analysis*. 500-505p.
- Morgan, J.P., Morgan, K.G. (1984) Alteration of cytoplasmic ionized calcium levels in smooth muscle by vasodilators in the ferret. *J Physiol* 357: 539–551.
- Nemali, K.S., Bonin, C., Dohleman, F.G., Stephens, M., Reeves, W.R., Nelson, D.E., Castiglioni, P., Whitsel, J.E., Sammons, B., Silady, R.A., Anstrom, D., Sharp, R.E., Patharkar, O.R., Clay, D., Coffin, M., Nemeth, M.A., Leibman, M.E., Luethy, M., Lawson, M. (2015) Physiological responses related to increased grain yield under drought in the first biotechnology-derived drought-tolerant maize. *Plant, Cell Environ* 38: 1866–1880.
- Obata, T., Witt, S., Lisek, J., Palacios-Rojas, N., Florez-Sarasa, I., Araus, J.L., Cairns, J.E., Yousfi, S., Fernie, A.R. (2015) Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. *Plant Physiol* pp.01164.2015.
- Ogliari, J.B., Kist, V., Canci, A. (2007) 5 . 7 The participatory genetic enhancement of a local maize variety in Brazil. 265–271.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., Tran, L.-S.P. (2014a) Response of plants to water stress. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2014.00086
- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L.S.P. (2014b) ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytol* 202: 35–49.
- Parry, M.A.J. (2002) Rubisco Activity: Effects of Drought Stress. *Ann Bot* 89: 833–839.
- Pimentel, C. (1999) Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34: 2021–2027.
- Qi, W. Z., Liu, H. H., Liu, P., Dong, S. T., Zhao, B. Q., So, H. B., Zhao, B. (2012) Morphological and physiological characteristics of corn (*Zea mays* L.) roots

- from cultivars with different yield potentials. *Eur J Agron* 38: 54–63.
- Rejeb, I., Pastor, V., Mauch-Mani, B. (2014) Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. *Plants* 3: 458–475.
- Ribeiro, R.M., Amaral Júnior, A.T. do., Pena, G.F., Vivas, M., Kurosawa, R.N., Gonçalves, L.S.A. (2016) Effect of recurrent selection on the variability of the UENF-14 popcorn population. *Crop Breed Appl Biotechnol* 16: 123–131.
- Romaguera, M., Hoekstra, A.Y., Su, Z., Krol, M.S., Salama, M.S. (2010) Potential of Using Remote Sensing Techniques for Global Assessment of Water Footprint of Crops. *Remote Sens* 2: 1177–1196.
- Santiago Luz, M. D. L.; Dalpasquale, A.; Scapim, C. A.; Lucca e Braccini, A. D.; Royer, M. R.; Mora, F. (2005) Influência da umidade das sementes na capacidade de expansão de três genótipos de milho-pipoca (*Zea mays* L.).
- Santos, R. F., Carlesso, R. (1998) Deficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Rev Bras Eng Agrícola e Ambient* 2: 287–294.
- Silva, P.P., Soares, L., da Costa, J.G., da Silva Viana, L., de Andrade, J.C.F., Gonçalves, E.R., dos Santos, J.M., de Souza Barbosa, G.V., Nascimento, V.X., Todaro, A.R., Riffel, A., Grossi-de-Sa, M.F., Barbosa, M.H.P., Sant’Ana, A.E.G., Neto, C.E.R. (2012) Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. *Ind Crops Prod* 37: 11–19.
- Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O agrônomo* 53: 11–13.
- Sawazaki, E. (1995) Melhoramento do milho-pipoca. *Inst Agrônomo* 53: 18–21.
- Schleussner, C., Deryng, D., Sarah, D., Hare, W., Lissner, T., Ly, M., Nauels, A., Noblet, M., Pfleiderer, P., Pringle, P., Rokitzki, M., Saeed, F., Schaeffer, M., Serdeczny, O., Thomas, A. (2018) 1 . 5 C Hotspots : Climate Hazards , Vulnerabilities , and Impacts. *Annu Rev Environ Resour* 43: 135–163.
- Silva, W. J. ; Vidal, B. C. ; Martins, M. L. L. ; Vargas, H. ; Pereira, A. C. ; Zerbetto, M. ; Miranda, L.C.M. (1993) What Makes Popcorn Pop?. *Nat* 362: 417.
- Smirnoff, N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol* 125: 27–58.

- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015) *Plant physiology and development*. 747-759p.
- Teixeira, F. F., Andrade, R. V., Oliveira, A. C., Ferreira, A. D. S., Santos, M.X. (2010) Diversidade no germoplasma de milho coletado na região Nordeste do Brasil. *Rev Bras Milho e Sorgo* 1: 59–67.
- Uga, Y., Sugimoto, K., Ogawa, S., Rane, J., Ishitani, M., Hara, N., Kitomi, Y., Inukai, Y., Ono, K., Kanno, N., Inoue, H., Takehisa, H., Motoyama, R., Nagamura, Y., Wu, J., Matsumoto, T., Takai, T., Okuno, K., Yano, M. (2013) Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. *Nat Genet* 45: 1097–1102.
- Vaughan, M.M., Christensen, S., Schmelz, E.A., Huffaker, A., Mcauslane, H.J., Alborn, H.T., Romero, M., Allen, L.H., Teal, P.E.A. (2015) Accumulation of terpenoid phytoalexins in maize roots is associated with drought tolerance. *Plant Cell Environ* 38: 2195–2207.
- Vavilov, N.I. (1951) The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Med Bot* 72: 482.
- Vieira, R.A., Scapim, C.A., Tessmann, D.J., Ferreira, F.R.A., Vivas, M., Amaral Júnior, A.T. do. (2016) A nonparametric approach to selection popcorn hybrids to resistance to foliar diseases. *Científica* 44: 165.
- Witcombe, J.R., Hollington, P.A., Howarth, C.J., Reader, S., Steele, K.A. (2008) Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 363: 703–716.
- Yoshida, S., Hasegawa, S. (1982) *The rice root system: its development and function*. 97-134p.
- Zadehbagheri, M., Azarpanah, A., & Javanmardi, S. (2014) Proline metabolite transport an efficient approach in corn yield improvement as response to drought conditions. *Nature* 566: 454–461.
- Zhang, X., Lei, L., Lai, J., Zhao, H., Song, W. (2018) Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in maize seedlings. *BMC Plant Biol* 18: 68.

- Zhao, J., Xue, Q., Jessup, K.E., Hao, B., Hou, X., Marek, T.H., Xu, W., Evett, S.R., O'Shaughnessy, S.A., Brauer, D.K. (2018) Yield and water use of drought-tolerant maize hybrids in a semiarid environment. *F Crop Res* 216: 1–9.
- Zhao, X., Chen, B., Yang, Z.F. (2009) National water footprint in an input–output framework—A case study of China 2002. *Ecol Modell* 220: 245–253.
- Zia, S., Romano, G., Spreer, W., Sanchez, C., Cairns, J., Araus, J.L., Müller, J. (2013) Infrared Thermal Imaging as a Rapid Tool for Identifying Water-Stress Tolerant Maize Genotypes of Different Phenology. *J Agron Crop Sci* 199: 75–84.
- Zipper, S.C., Qiu, J., Kucharik, C.J. (2016) Drought effects on US maize and soybean production: spatiotemporal patterns and historical changes. *Environ Res Lett* 11: 094021.

## APÊNDICES

**Apêndice 1.** Desdobramento das correlações genóticas em componentes de efeitos diretos e indiretos entre os caracteres morfológicos de primeira cadeia e caracteres fisiológicos de segunda cadeia, avaliados em linhagens de milho-pipoca sob condições de WW e WS.

Variáveis / efeitos	MSR		AP		DF		CF		DC		
	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	
A	Direto	-0,23	1,93	0,48	0,29	-2,09	-0,49	1,70	0,60	0,97	0,62
	Indireto gs	-0,20	0,04	-0,05	0,04	-0,07	-0,21	-0,13	0,09	-0,02	0,05
	Indireto Ci	0,08	2,55	-0,01	0,37	0,02	-0,59	-0,02	0,22	0,00	0,21
	Indireto TF	0,37	-0,01	-0,40	0,00	0,94	0,00	-0,74	0,00	-0,37	0,00
	Indireto Fv/Fm	0,52	-0,21	-0,29	0,03	0,89	0,14	-0,17	0,01	-0,35	-0,02
	Indireto SPAD	0,04	-2,06	0,16	-0,56	0,02	0,69	0,09	-0,40	-0,25	0,13
A	Total	0,57	2,24	-0,11	0,16	-0,28	-0,46	0,73	0,51	-0,02	0,99
gs	Direto	-0,47	0,12	-0,12	0,11	-0,16	-0,60	-0,31	0,25	-0,05	0,15
	Indireto A	-0,10	0,68	0,20	0,10	-0,88	-0,17	0,71	0,21	0,41	0,22
	Indireto Ci	0,70	2,11	-0,09	0,31	0,17	-0,49	-0,19	0,18	-0,01	0,18
	Indireto TF	0,14	-2,43	-0,16	-0,55	0,37	0,35	-0,29	-0,24	-0,14	-0,51
	Indireto Fv/Fm	0,70	-2,06	-0,39	0,26	1,19	1,33	-0,22	0,05	-0,47	-0,21
	Indireto SPAD	0,00	3,49	0,01	0,94	0,00	-1,18	0,01	0,68	-0,02	-0,22
	Total	0,98	1,91	-0,55	1,17	0,70	-0,77	-0,30	1,14	-0,29	-0,38
Ci	Direto	0,80	2,69	-0,10	0,39	0,19	-0,63	-0,22	0,23	-0,02	0,23
	Indireto A	-0,02	1,83	0,05	0,27	-0,21	-0,47	0,17	0,57	0,10	0,59
	Indireto gs	-0,41	0,09	-0,11	0,08	-0,14	-0,48	-0,27	0,19	-0,04	0,12
	Indireto TF	0,10	-0,97	-0,11	-0,22	0,25	0,14	-0,20	-0,09	-0,10	-0,20
	Indireto Fv/Fm	0,32	-1,51	-0,18	0,19	0,55	0,97	-0,10	0,04	-0,22	-0,15
	Indireto SPAD	0,05	-0,61	0,25	-0,17	0,03	0,21	0,14	-0,12	-0,38	0,04
	Total	0,84	1,52	-0,20	0,55	0,67	-0,25	-0,47	0,82	-0,65	0,62



**Apêndice 1. Cont.**

Variáveis / efeitos		MSR		AP		DF		CF		DC	
		WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW
TF	Direto	-0,41	1,81	0,45	0,41	-1,05	-0,26	0,83	0,17	0,41	0,38
	Indireto A	0,21	-0,01	-0,42	0,00	1,87	0,00	-1,52	0,00	-0,86	0,00
	Indireto gs	0,16	-0,16	0,04	-0,15	0,05	0,81	0,11	-0,33	0,02	-0,20
	Indireto Ci	-0,19	-1,44	0,02	-0,21	-0,05	0,34	0,05	-0,12	0,00	-0,12
	Indireto Fv/Fm	-0,20	2,24	0,11	-0,29	-0,34	-1,45	0,06	-0,06	0,14	0,23
	Indireto SPAD	-0,11	-4,56	-0,49	-1,23	-0,06	1,54	-0,28	-0,89	0,74	0,28
	Total	-0,54	-2,12	-0,28	-1,46	0,43	0,98	-0,74	-1,23	0,44	0,55
Fv/Fm	Direto	0,93	2,29	-0,52	-0,29	1,59	-1,48	-0,30	-0,06	-0,63	0,23
	Indireto A	-0,13	-0,18	0,27	-0,03	-1,17	0,05	0,95	-0,06	0,54	-0,06
	Indireto gs	-0,35	-0,11	-0,09	-0,10	-0,12	0,54	-0,23	-0,22	-0,04	-0,14
	Indireto Ci	0,28	-1,77	-0,04	-0,26	0,07	0,41	-0,07	-0,15	-0,01	-0,15
	Indireto TF	0,09	1,77	-0,10	0,40	0,22	-0,25	-0,18	0,17	-0,09	0,37
	Indireto SPAD	-0,09	-2,18	-0,40	-0,59	-0,05	0,73	-0,23	-0,43	0,61	0,13
	Total	0,72	-0,18	-0,88	-0,86	0,55	0,01	-0,06	-0,74	0,39	0,39
SPAD	Direto	-0,17	-4,56	-0,78	-1,23	-0,09	1,54	-0,45	-0,89	1,17	0,28
	Indireto A	0,05	0,87	-0,10	0,13	0,44	-0,22	-0,36	0,27	-0,20	0,28
	Indireto gs	0,01	-0,09	0,00	-0,08	0,00	0,46	0,00	-0,19	0,00	-0,12
	Indireto Ci	-0,26	0,36	0,03	0,05	-0,06	-0,08	0,07	0,03	0,01	0,03
	Indireto TF	-0,26	1,80	0,28	0,41	-0,66	-0,26	0,52	0,17	0,26	0,37
	Indireto Fv/Fm	0,48	1,09	-0,27	-0,14	0,83	-0,71	-0,15	-0,03	-0,33	0,11
	Total	-0,15	-0,53	-0,83	-0,86	0,46	0,73	-0,36	-0,63	0,91	0,96
R <sup>2</sup> :	1,00	6,80	1,00	1,10	1,00	1,71	1,00	1,16	1,00	1,27	
Efeito residual:	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	

AP = altura média de planta; DF = diâmetro foliar; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; TF = temperatura foliar; Ci/Ca = relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; CR = comprimento de raiz; MSR = massa seca de raiz; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico.

**Apêndice 2.** Desdobramento das correlações genóticas em componentes de efeitos diretos e indiretos entre o caráter principal (CR) e caracteres morfológicos de primeira cadeia e fisiológicos de segunda cadeia, avaliados em linhagens de milho-pipoca sob condições de WW e WS.

Variáveis / efeitos	MSR		AP		DF		CF		DC		Ef,residual		Total		
	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	
A	Direto	-0,31	0,06	0,43	-0,10	1,60	0,74	-0,31	-0,59	1,62	-0,40	-1,58	0,39	1,45	0,09
	Indireto gs	-0,26	0,00	-0,05	-0,01	0,05	0,32	0,02	-0,09	-0,03	-0,03	0,20	0,03	-0,06	0,22
	Indireto Ci	0,11	0,08	-0,01	-0,13	-0,01	0,90	0,00	-0,22	0,00	-0,14	-0,10	-0,95	-0,02	-0,46
	Indireto TF	0,48	0,00	-0,36	0,00	-0,72	0,00	0,14	0,00	-0,61	0,00	0,81	0,00	-0,26	0,00
	Indireto Fv/Fm	0,69	-0,01	-0,26	-0,01	-0,68	-0,21	0,03	-0,01	-0,59	0,01	0,54	0,12	-0,27	-0,09
	Indireto SPAD	0,05	-0,06	0,15	0,20	-0,01	-1,05	-0,02	0,40	-0,42	-0,08	0,12	0,25	-0,13	-0,35
	Total	0,76	0,07	-0,10	-0,06	0,22	0,70	-0,13	-0,50	-0,04	-0,64	0,00	-0,16	0,70	-0,59
S	Direto	-0,62	0,00	-0,11	-0,04	0,12	0,91	0,06	-0,24	-0,08	-0,10	0,48	0,07	-0,15	0,61
	Indireto A	-0,13	0,02	0,18	-0,04	0,67	0,26	-0,13	-0,21	0,68	-0,14	-0,67	0,14	0,61	0,03
	Indireto Ci	0,93	0,07	-0,08	-0,11	-0,13	0,74	0,03	-0,18	-0,02	-0,11	-0,87	-0,78	-0,14	-0,38
	Indireto TF	0,19	-0,08	-0,14	0,20	-0,28	-0,52	0,05	0,23	-0,24	0,33	0,32	-0,20	-0,10	-0,04
	Indireto Fv/Fm	0,92	-0,06	-0,35	-0,10	-0,91	-2,01	0,04	-0,05	-0,80	0,13	0,73	1,17	-0,37	-0,92
	Indireto SPAD	0,00	0,11	0,01	-0,34	0,00	1,78	0,00	-0,67	-0,03	0,14	0,01	-0,42	-0,01	0,59
	Total	1,29	0,06	-0,49	-0,42	-0,53	1,17	0,05	-1,12	-0,48	0,24	0,00	-0,03	-0,16	-0,10
Ci	Direto	1,06	0,08	-0,09	-0,14	-0,14	0,95	0,04	-0,23	-0,03	-0,15	-0,99	-1,00	-0,16	-0,48
	Indireto A	-0,03	0,06	0,04	-0,10	0,16	0,70	-0,03	-0,56	0,16	-0,38	-0,16	0,37	0,15	0,09
	Indireto gs	-0,54	0,00	-0,09	-0,03	0,10	0,72	0,05	-0,19	-0,07	-0,08	0,42	0,06	-0,13	0,48
	Indireto TF	0,13	-0,03	-0,10	0,08	-0,19	-0,21	0,04	0,09	-0,16	0,13	0,22	-0,08	-0,07	-0,02
	Indireto Fv/Fm	0,42	-0,05	-0,16	-0,07	-0,42	-1,47	0,02	-0,04	-0,36	0,10	0,33	0,86	-0,17	-0,67
	Indireto SPAD	0,07	-0,02	0,22	0,06	-0,02	-0,31	-0,03	0,12	-0,63	-0,02	0,19	0,07	-0,20	-0,10
	Total	1,11	0,05	-0,18	-0,20	-0,51	0,37	0,09	-0,81	-1,09	-0,40	0,00	0,28	-0,59	-0,70

**Apêndice 2. Cont.**

Variáveis / efeitos	MSR		AP		DF		CF		DC		Ef,residual		Total		
	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	
TF	Direto	-0,54	0,06	0,40	-0,15	0,80	0,39	-0,15	-0,17	0,69	-0,24	-0,91	0,15	0,29	0,03
	Indireto A	0,27	0,00	-0,38	0,00	-1,43	-0,01	0,28	0,00	-1,45	0,00	1,41	0,00	-1,30	0,00
	Indireto gs	0,22	-0,01	0,04	0,05	-0,04	-1,23	-0,02	0,33	0,03	0,13	-0,17	-0,10	0,05	-0,82
	Indireto Ci	-0,25	-0,05	0,02	0,08	0,03	-0,51	-0,01	0,12	0,01	0,08	0,24	0,53	0,04	0,26
	Indireto Fv/Fm	-0,26	0,07	0,10	0,10	0,26	2,19	-0,01	0,06	0,23	-0,15	-0,21	-1,28	0,10	1,00
	Indireto SPAD	-0,14	-0,14	-0,44	0,45	0,04	-2,32	0,05	0,88	1,24	-0,18	-0,36	0,55	0,39	-0,77
	Total	-0,71	-0,07	-0,25	0,53	-0,33	-1,49	0,14	1,22	0,74	-0,36	0,00	-0,14	-0,41	-0,30
Fv/Fm	Direto	1,23	0,07	-0,46	0,11	-1,22	2,23	0,05	0,06	-1,06	-0,15	0,97	-1,30	-0,49	1,02
	Indireto A	-0,17	-0,01	0,24	0,01	0,89	-0,07	-0,17	0,05	0,91	0,04	-0,88	-0,04	0,81	-0,01
	Indireto gs	-0,46	0,00	-0,08	0,04	0,09	-0,82	0,04	0,22	-0,06	0,09	0,36	-0,07	-0,11	-0,55
	Indireto Ci	0,36	-0,06	-0,03	0,09	-0,05	-0,62	0,01	0,15	-0,01	0,10	-0,34	0,66	-0,05	0,32
	Indireto TF	0,12	0,06	-0,09	-0,15	-0,17	0,38	0,03	-0,17	-0,15	-0,24	0,19	0,15	-0,06	0,03
	Indireto SPAD	-0,12	-0,07	-0,36	0,21	0,04	-1,11	0,04	0,42	1,02	-0,09	-0,30	0,26	0,32	-0,37
	Total	0,95	-0,01	-0,78	0,31	-0,42	-0,01	0,01	0,73	0,65	-0,25	0,00	-0,34	0,41	0,44
SPAD	Direto	-0,23	-0,14	-0,70	0,45	0,07	-2,33	0,08	0,88	1,97	-0,18	-0,58	0,55	0,62	-0,77
	Indireto A	0,06	0,03	-0,09	-0,05	-0,34	0,33	0,07	-0,27	-0,34	-0,18	0,33	0,18	-0,31	0,04
	Indireto gs	0,01	0,00	0,00	0,03	0,00	-0,70	0,00	0,19	0,00	0,07	-0,01	-0,06	0,00	-0,47
	Indireto Ci	-0,34	0,01	0,03	-0,02	0,05	0,13	-0,01	-0,03	0,01	-0,02	0,32	-0,13	0,05	-0,06
	Indireto TF	-0,34	0,06	0,25	-0,15	0,51	0,39	-0,09	-0,17	0,43	-0,24	-0,57	0,15	0,18	0,03
	Indireto Fv/Fm	0,64	0,03	-0,24	0,05	-0,63	1,07	0,03	0,03	-0,55	-0,07	0,50	-0,62	-0,25	0,49
	Total	-0,20	-0,02	-0,74	0,31	-0,35	-1,11	0,07	0,63	1,52	-0,62	0,00	0,07	0,30	-0,74

AP = altura média de planta; DF = diâmetro foliar; CF = comprimento da nervura central foliar; DC = diâmetro de colmo; A = taxa fotossintética líquida; gs = condutância estomática; Ci = concentração interna de CO<sub>2</sub>; TF = temperatura foliar; Ci/Ca = relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>; Fv/Fm = fluorescência da clorofila; SPAD = teor relativo de clorofila; CR = comprimento de raiz; MSR = massa seca de raiz; WW = ambiente bem irrigado; WS = ambiente com estresse hídrico.