

INFERÊNCIAS GENÉTICO-FISIOLÓGICAS DA TOLERÂNCIA À
SECA EM MILHO

AMANDA OLIVEIRA MARTINS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO - 2012

INFERÊNCIAS GENÉTICO-FISIOLÓGICAS DA TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO

AMANDA OLIVEIRA MARTINS

Tese 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 Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas

Orientador: Prof. Eliemar Campostrini
Co-orientador: Dr. Paulo César Magalhães

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO - 2012

INFERÊNCIAS GENÉTICO-FISIOLOGICAS DA TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO

AMANDA OLIVEIRA MARTINS

Tese 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 Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 16 de fevereiro de 2012

Comissão Examinadora:

Dr. Paulo César Magalhães (Ph.D., Fisiologia Vegetal) - EMBRAPA

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

Dr. Leandro Hespanhol Viana (D.Sc., Fisiologia Vegetal) - UENF

Prof. Eliemar Campostrini (D.Sc., Fisiologia Vegetal) - UENF
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP), pela realização de um sonho e pelo excelente curso, o qual contribuiu, significativamente, para a minha formação científica.

À FAPERJ, pela concessão da bolsa de estudo.

À Empresa Brasileira Agropecuária Brasileira (EMBRAPA), especificamente à Embrapa Milho e Sorgo, por ter me proporcionado a oportunidade de realização desta tese.

Ao meu orientador, prof. Mazinho, pelo incentivo, ajuda e amizade durante o período de convivência do mestrado e que vem perdurando no doutorado.

Ao Dr. Paulo César Magalhães, pelo privilégio de sua orientação na EMBRAPA, pelos ensinamentos indispensáveis e valiosos que me serviram tanto para minha vida tanto profissional como pessoal e ao Dr. Lauro José Moreira Guimarães, que, apesar de não ter sido meu co-orientador oficialmente, exerceu, copiosamente, esse papel. Muito obrigada pelo incondicional apoio nos momentos de dúvidas e pelos valiosos ensinamentos. Com vocês vivenciei, no campo, o que aprendi na teoria, ou seja, aprendi a ser uma melhor profissional.

Ao pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sidney Netto Parentoni, pela concessão das linhagens de milho estudadas neste trabalho.

Aos docentes do Programa de GMP, em especial à prof^a Telma Nair Pereira, pela ajuda na concretização deste trabalho, e ao prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pelos ensinamentos adquiridos durante a minha vida acadêmica.

Aos colegas de laboratório LMGV/Setor Fisiologia Vegetal, Tiago, Tati, Geórgia, Tarcísio, Roberta, Marcelo, Luciana, Leandro, Daniel, Cássia, Jeferson, Fabão, Juliana, Gleidson, Débora, Camila. Em especial, à Bruninha, pelo carinho, amizade, ajuda e ótima convivência em todos os momentos.

À Dr^a Alena Torres Netto, à Dr^a Mara Menezes de A. Gomes e ao Prof Ricardo Enrique Bressan-Smith, pela ótima convivência no laboratório e sugestões para o enriquecimento deste trabalho.

A todos os colegas do LMGV. Aos amigos Marilene, Silvana, Miriam, Vanessa, Patrícia, Elba, Fernanda. Em especial, à minha amiga Cíntia e ao Roberto pela amizade fora e dentro da Uenf, em todos os momentos.

Ao Daniel da secretaria do PGMP, pela eficiência do seu trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Milho e Sorgo, Gilberto, Fabio Padilha, Arley Figueiredo, Fábio Rabello, Zé Eduardo, Moreira, Flávia Mendes, às bolsistas de milho Kênia, Denise e aos estagiários Clarisse e Carlinhos. Em especial, ao doutorando Thiago Corrêa de Souza pela ajuda e cooperação na realização das atividades de casa de vegetação. Sem a colaboração de vocês, eu não poderia ter feito tudo o que fiz e com qualidade.

Em Sete Lagoas, às amigas de república Ivana, Márcia e Rita, pela ajuda nos momentos difíceis, fazendo-me sentir em casa, mesmo longe.

Aos meus familiares, minha mãe Maria Lúcia, meu pai João, minhas irmãs, Alê e Angélica, meu cunhado Val, e meus lindos sobrinhos Carol e Pedro, que me fizeram dar continuidade nessa dura jornada, fazendo-me sorrir mesmo em momentos tristes e desesperançosos. Todos foram uma recarga de energia para a continuação desta caminhada.

A meu noivo Felipe C. Brito, pelo companheirismo e compreensão nos momentos de ausência, o que me fez continuar mesmo com a saudade, durante esta caminhada e com as inúmeras barreiras que a vida nos coloca no caminho.

A todos não-mencionados, mas que contribuíram, de forma direta e indiretamente, para a concretização deste trabalho.

Muito Obrigada!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. CULTURA DO MILHO: BOTÂNICA E ORIGEM	4
2.2. ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA DO MILHO: ABORDAGEM GERAL	5
2.3. DEFICIÊNCIA HÍDRICA: EFEITOS E RESPOSTAS NO METABOLISMO DAS PLANTAS	7
2.3.1. Efeitos gerais da limitação hídrica	7
2.3.2. Alterações nas trocas gasosas e na eficiência fotoquímica	8
2.3.3. Alterações no sistema radicular	10
2.3.4. Respostas morfológicas e fisiológicas das plantas à deficiência hídrica	12
2.4. ANÁLISE DIALÉLICA: CONCEITOS, TIPOS E APLICABILIDADE	14

3. TRABALHOS	17
3.1. CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE GENÓTIPOS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA A SECA	17
3.1.1. RESUMO	17
3.1.2. ABSTRACT	18
3.1.3. INTRODUÇÃO	19
3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1.4.1. Histórico e pré-seleção de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca na Embrapa-CNPMS	21
3.1.4.2. Obtenção das sementes dos híbridos dialélicos	22
3.1.4.3. Avaliação dos híbridos dialélicos	23
3.1.4.3.1. Condições experimentais	23
3.1.4.3.2. Características morfo-agronômicas avaliadas	26
3.1.4.3.3. Análise estatística	27
3.1.4.3.3.1. Análise de variância	27
3.1.4.3.3.2. Análise dialélica de Griffing e determinação da capacidade combinatória	28
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1.5.1. Análise estatística	31
3.1.5.2. Análise dialélica de Griffing	38
3.1.6. CONCLUSÕES	47
3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
3.2. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA PARTE AÉREA E DO SISTEMA RADICULAR DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	53
3.2.1. RESUMO	53
3.2.2. ABSTRACT	54
3.2.3. INTRODUÇÃO	55
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS	56
3.2.4.1. Condições experimentais	56

3.2.4.2. Avaliação de características da parte aérea e do sistema radicular	58
3.2.4.3. Análise estatística	61
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.2.5.1. Avaliação de linhagens endogâmicas de milho submetidas à deficiência hídrica	62
3.2.6. CONCLUSÕES	73
3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
3.3. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	78
3.3.1. RESUMO	78
3.3.2. ABSTRACT	79
3.3.3. INTRODUÇÃO	80
3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS	81
3.3.4.1. Condições experimentais	81
3.3.4.2. Avaliação de características biométricas e morfofisiológicas da parte aérea	83
3.3.4.3. Análise estatística	85
3.3.4.3.1. Análise biométrica e fisiológica	85
3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.3.6. CONCLUSÕES	94
3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
4. RESUMO E CONCLUSÕES	100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

LISTA DE TABELAS

3. TRABALHOS	17
3.1. CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE GENÓTIPOS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	17
Tabela 1 – Valores genotípicos preditos (u+g) para produtividade de grãos (PG), em kg ha ⁻¹ , em ambiente com e sem estresse hídrico no solo, para oito genitores selecionados dentre os 190 avaliados no ensaio instalado na safra de 2009/10, em Janaúba-MG	22
Tabela 2 – Esquema de dialelo completo, incluindo os híbridos F ₁ s de oito genitores (linhagens)	23
Tabela 3 - Resultados da análise química do solo do experimento de dialelo, em ambiente com estresse hídrico no solo, nas camadas 0 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m de profundidade. Janaúba-MG, 2011	24
Tabela 4 – Esquema da análise de variância para avaliação dos 28 híbridos dialélicos em látice	28

Tabela 5 – Esquema da análise de variância para CGC e CEC, segundo a metodologia de Griffing (1956), método 4, apenas os híbridos F_1 's	30
Tabela 6 – Resumo da análise de variância, médias, coeficientes de variação e eficiência do látice para as dez características avaliadas em 28 híbridos experimentais, mais 8 testemunhas comerciais. Janaúba-MG, 2011.....	32
Tabela 7 - Médias fenotípicas de dez características avaliadas em 28 híbridos dialélicos e oito testemunhas comerciais de milho em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo. Janaúba-MG, 2011	34
Tabela 8 – Resumo das análises dialélicas, com estimativas dos quadrados médios de capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, e a média dos quadrados dos efeitos, para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo completo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011.....	39
Tabela 9 – Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011....	41
Tabela 10 – Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo completo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011	44
3.2. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA PARTE AÉREA E DO SISTEMA RADICULAR DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	53
Tabela 1 – Esquema da análise de variância das características avaliadas ...	61

Tabela 2 – Resumo da análise de variância e os coeficientes de variação, envolvendo seis linhagens de milho (G) e dois níveis de disponibilidade hídrica (A), sem estresse e com estresse hídrico, para todas as características avaliadas. Sete Lagoas-MG, 2010	63
Tabela 3 – Comprimento de raiz muito fina (CRMF), comprimento de raiz fina (CRF), comprimento de raiz grossa (CRG), área de superfície de raiz (ASRMF), área de superfície de raiz fina (ASRF), área de superfície de raiz grossa (ASRG) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade	71
3.3. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	78
Tabela 1 – Esquema da análise de variância das características avaliadas ...	86
Tabela 2 – Resumo da análise de variância e os coeficientes de variação, envolvendo seis linhagens de milho (G) e dois níveis de disponibilidade hídrica (A), sem estresse e com estresse hídrico, para todas as características avaliadas. Sete Lagoas-MG, 2010	87

LISTA DE FIGURAS

3. TRABALHOS	17
3.1. CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE GENÓTIPOS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	17
Figura 1 – (A) Insolação (Insol), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Precipitação (Precip) e (D) Umidade relativa (URmed) no período de condução do experimento em campo experimental pertencente à Embrapa Milho e Sorgo, no município de Janaúba-MG	25
3.2. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA PARTE AÉREA E DO SISTEMA RADICULAR DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA	53
Figura 1 – (A) Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Umidade relativa (URmed) e (D) Déficit de Pressão de Vapor (DPV) no período de condução do experimento, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas-MG	58

Figura 2 – (A) *Scanner* profissional Epson XL 10000, com a cuba de acrílico contendo as raízes de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico; (B) Imagem tridimensional da morfologia de raízes de milho, utilizando o Programa do WinRhizo 60

Figura 3 – Intensidade de verde (IV) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem 64

Figura 4 – Área Foliar (AF) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem 65

Figura 5 – (A) Matéria seca da parte aérea (MSPA), (B) Matéria seca de raiz (MSR), (C) Matéria seca total (MST), (D) Relação Massa seca de raiz e Massa seca da parte aérea (MSR/MSPA) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem 67

Figura 6 – (A) Comprimento total de raiz (CTR), (B) Área de superfície de raiz (ASR), (C) Diâmetro médio de raiz (DMR), (D) Volume total de raiz (VTR) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem 69

3.3. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA 78

Figura 1 – (A) Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Umidade relativa (URmed) e (D) Déficit de Pressão de Vapor (DPV) no período de condução do experimento, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas-MG 83

Figura 2 – Intensidade de verde (IV) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 89

Figura 3 – (A) Taxa fotossintética líquida (A), (B) Condutância estomática (g_s), (C) Transpiração foliar (E), (D) Eficiência instantânea no uso da água (EIUA) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 92

RESUMO

MARTINS, Amanda Oliveira; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro, 2012; Inferências genético-fisiológicas da tolerância à seca em milho; Orientador: Eliemar Campostrini; Co-orientador: Paulo César Magalhães.

Visando à continuidade do Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo para obtenção de genótipos tolerantes à deficiência hídrica, bem como o entendimento de mecanismos fisiológicos que contribuem para essa tolerância, foram implementados três experimentos. No primeiro, objetivou-se estimar a capacidade combinatória de linhagens de milho sob restrição hídrica no solo, visando ao entendimento do controle genético da produtividade de grãos e outras características morfo-agronômicas e à identificação de genótipos superiores para o programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. Para tanto, utilizaram-se, no dialelo, três linhagens tolerantes ao déficit hídrico (L5184180-04, L176-11-2-1, e L531164), duas intermediárias (L3 e L20) e três linhagens sensíveis (L26, L98-C-2-46 e L228-3). As respectivas combinações híbridas foram avaliadas em delineamento látice, com três repetições, em ambiente submetido a estresse hídrico no campo experimental, em Janaúba-MG. Os efeitos da capacidade geral e específica de combinação foram importantes no dialelo completo em questão, com superioridade dos efeitos aditivos aos não-aditivos para a maioria das características avaliadas e evidenciando-se a ação de genes de efeitos

dominantes no controle do estande final e da produtividade de grãos. Os resultados apontaram para superioridade das linhagens de milho L176-11-2-1 (L₂) e L531164 (L₃) por apresentarem valores de capacidade combinatória geral positiva e elevada para produtividade de grãos. As combinações híbridas L₃xL₅ e L₃xL₈ apresentaram maiores médias de produtividade de grãos e índice de espigas sendo, portanto, materiais promissores quanto à tolerância ao estresse hídrico. Em concomitância com o primeiro experimento, foi realizado o segundo, que objetivou a avaliação da morfologia radicular de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, e o terceiro, que objetivou a avaliação das características morfofisiológicas dessas linhagens de milho. Em ambos os experimentos, foram avaliadas seis linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, sendo duas linhagens tolerantes (L176-11-2-1, L5184180-04), uma intermediária (L3), e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico (L98-C-2-46, L26, L228-3), em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade hídrica, com três repetições. No segundo experimento, verificou-se a variabilidade genética entre as linhagens de milho para discriminação de plantas com base nas características de morfologia de raiz. As características comprimento total de raiz e relação massa seca de raiz e parte aérea foram as que melhor diferenciaram as linhagens tolerantes das sensíveis ao estresse hídrico. A técnica de análise de imagens digitais mostrou-se uma ferramenta promissora para estudos de raízes em fase precoce do milho. No terceiro experimento, o estresse hídrico proporcionou alterações nas variáveis de trocas gasosas, com diminuição nas taxas fotossintética líquida (A), devido a alterações na condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E). Foi observada variabilidade genética entre as linhagens contrastantes de milho quanto à tolerância ao estresse hídrico para discriminação de plantas com base nas características morfofisiológicas (A, g_s, E e EIUA). Os resultados indicaram superioridade das linhagens tolerantes L5184180-04, L176-11-2-1 em comparação às linhagens sensíveis, por apresentarem maiores valores de A e g_s, quando submetidas à baixa disponibilidade hídrica no solo, possivelmente um mecanismo de tolerância da planta em ambiente de estresse hídrico.

ABSTRACT

MARTINS, Amanda Oliveira, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February, 2012, Genetic and physiological inferences of drought tolerance in maize; Advisor: Eliemar Campostrini, Co-advisor: Paulo Cesar Magalhães.

Aiming to continue The Embrapa National Maize and Sorghum Research Center Breeding Program to obtain genotypes tolerant to water deficit, as well as the understanding of physiological mechanisms that contribute to this tolerance, it were carried out three experiments. The first aimed to estimate the combining ability of maize lines under soil water restriction for understanding the genetic control of grain yield and other morphological and agronomic characteristics and the identification of superior genotypes for the Embrapa Maize and Sorghum breeding program. It was used in the diallel three lines tolerant to drought (L5184180-04, L176-11-2-1, and L531164), two intermediate (L3 and L20) and three sensitive lines (L26, L98-C-2-46 and L228-3). The hybrid combinations were evaluated at the experimental Station of Janauba, MG in field conditions in a lattice design, with three replications, in an environment submitted to water stress. The effects of general ability and specific combining were important in the complete diallel with superior additive effects to non-additive for most traits, evidencing the action of dominant gene effects in controlling the final stand and yield. The results showed superiority of maize inbred lines L176-11-2-1 (L_2) and

L531164 (L₃) by presenting values of positive and general combining ability for high yield. The hybrid combinations L₃×L₅ and L₃×L₈ showed the highest mean grain yield and ear index, being therefore promising materials for tolerance to water stress. Concurrently with the first experiment, it was carried out the second one, which aimed to evaluate the root morphology of contrasting maize inbred lines for tolerance to drought, and the third experiment, which aimed to evaluate the morphological and physiological characteristics of those maize lines. In both experiments, it was evaluated six maize inbred lines contrasting for drought tolerance, being two tolerant lines (L176-11-2-1, L5184180-04), one intermediate (L3), and three lines sensitive to water deficit (L98-2-C-46, L26, L228-3). These materials were studied in a randomized block design, factorial scheme 6x2, with six genotypes and two levels of water availability, and three replications. For the second experiment, there was genetic variability among maize lines to discriminate plants based on characteristics of root morphology. Total root length and the ratio between root dry mass /shoot dry mass were the best to differentiate the lines tolerant to drought when compared to the sensitive ones. The technique of digital image analysis proved to be a promising tool for studies of roots at early stages of growth. In the third experiment, the water stress resulted in changes in gas exchange variables, with decrease in net photosynthetic rate (A), due to changes in stomatal conductance (gs) and leaf transpiration (E). Genetic variability was observed among lines of maize contrasting to water stress tolerance for identification of plants based on morphological and physiological characteristics (A, gs, E and WUE). Results showed the superiority of tolerant lines L5184180-04, L176-11-2-1 compared to sensitive ones, due to higher values of A and gs, when submitted to low soil water availability, possibly one of the mechanisms that aid the best understanding the tolerance of plant water stress environment.

1. INTRODUÇÃO

Os estudos arqueológicos e geológicos fornecem elementos que permitem afirmar que o milho já existia como cultura, ou seja, em estado de domesticação, há cerca de 5.000 anos. Com o passar dos anos, o alto nível de domesticação e o melhoramento genético tornaram essa espécie completamente dependente do homem. Provavelmente, o milho é uma das mais importantes plantas comerciais com origem nas Américas (Goodman, 1980; Buckler e Stevens, 2005).

Em todo o mundo, o milho (*Zea mays* L.) é um dos principais cereais consumidos, e, no cenário mundial, apenas o arroz e o trigo superam o consumo dessa espécie. Entre os vegetais superiores, o milho pode ser considerado como o que apresenta um maior número de estudos científicos (CIB, 2008).

Dentre as atividades econômicas, a agricultura é a mais dependente das variáveis climáticas, como a temperatura, a pluviosidade, a umidade do solo e a radiação solar. Os efeitos das alterações desses fatores ambientais sobre a agricultura poderão afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, e, assim, afetar a produtividade e o manejo das culturas. Dessa forma, observa-se que as relações entre o clima e a agricultura são bastante complexas e interligadas (Gouvêa, 2008).

Atualmente, as mudanças climáticas, especificamente o aquecimento global ocasionado pelas emissões de grandes concentrações de gases de efeito estufa na atmosfera como dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), entre outros, vêm causando aumento da frequência de eventos extremos,

dentre eles, a seca (Pimentel, 2011). Lima (2002), avaliando os possíveis impactos da mudança climática sobre o setor agropecuário e da contribuição das atividades agrícolas ao efeito estufa, pôde identificar as possíveis alternativas de mitigação de tais emissões desses gases.

A ocorrência de seca ou períodos de estresse hídrico é uma das causas mais frequentes de insucessos agrícolas, afetando o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Por consequência, em regiões áridas e semi-áridas a limitação hídrica pode causar redução significativa na produtividade do milho (Barnabás et al., 2008; Chaves e Davies, 2010).

Os diversos trabalhos têm mostrado que tolerância à seca é diferenciada conforme o genótipo, dentro da mesma espécie vegetal. Assim, diferentes materiais de uma mesma espécie podem responder de maneiras distintas ao estresse causado pela deficiência hídrica (Chaves, 1991; Bray, 1993). Um dos sintomas mais característico da deficiência hídrica é a redução da turgescência foliar, que, dependendo da severidade do estresse, pode ser reversível, ou não.

Em face das mudanças climáticas globais, os estudos preveem, para os próximos anos, o aumento da temperatura média global e a maior frequência de fenômenos extremos, como a seca (IPCC, 2011). Na agricultura, a escassez de água já vem sendo danosa e essa escassez é um problema para os agricultores, por acarretar declínio na produção agrícola. Para essa condição, a irrigação pode corrigir tal problema. Entretanto, esta técnica apresenta um alto custo de implementação (Gustafson, 2011). Diante do exposto, a obtenção de genótipos mais adaptados às condições edafoclimáticas estressantes, com capacidade de resistir a períodos com deficiência hídrica sem grandes prejuízos à produção, torna-se de fundamental importância para programas de melhoramento genético de planta, uma vez que esse processo auxilia na escolha de critérios de seleção de genótipos com maior tolerância à seca e/ou maior eficiência do uso da água. Tal entendimento pode proporcionar rapidez no processo de produção/lançamento desses genótipos mais resistentes à limitação hídrica do solo.

Desse modo, este trabalho foi realizado com o objetivo de estimar a capacidade combinatória, por meio de cruzamentos dialélicos, de genótipos de milho comum, pré-selecionados para tolerância à seca do programa de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo, submetidos a condições de

déficit hídrico, bem como buscar compreender os possíveis mecanismos morfofisiológicos da parte aérea e do sistema radicular desses genótipos, associados à tolerância à seca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CULTURA DO MILHO: BOTÂNICA E ORIGEM

O milho é uma planta alógama, em que, preferencialmente, ocorre 90% de fecundação cruzada. Nessa espécie, apresentam-se dois mecanismos que favorecem essa alogamia, a monoiccia e a protandria. Essa planta é pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. (Viana et al., 1999; Borém e Giúdice, 2004). De acordo com a revisão de Buckler e Stevens (2005), o gênero *Zea* constitui-se de cinco espécies, *Zea diploperennis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians*, *Zea nicaraguensis* e, por último, *Zea mays* L.. Os estudos relatam que o milho, para distinguir-se do seu parente silvestre mais próximo, o teosinte, taxonomicamente, é identificado como *Zea mays* L. spp *mays*, ambos com $2n = 2x = 20$ cromossomos (Doebley e Iltis, 1980; Paterniani e Campos, 1999).

Acredita-se que a cultura do milho (*Zea mays* L.) seja originária da América do Norte, e as evidências apontam que a descoberta da espiga mais antiga foi na região sudeste do México (Buckler e Stevens, 2005).

Existem várias hipóteses quanto à origem genética do milho, no entanto as mais discutidas, segundo Hallauer e Miranda Filho (1988), são de que o milho seria oriundo, diretamente, do teosinte, por ação da seleção humana (Galinat, 1973, 1977); o teosinte seria descendente do cruzamento entre milho e *Tripsacum*

(Mangelsdorf, 1974); e o milho, o teosinte e o *Tripsacum* seriam oriundos de um ancestral comum, hoje extinto (Weatherwax, 1954).

Dentre as hipóteses citadas, atualmente, a considerada mais aceita é a defendida por Galinat (1973, 1977). Os estudos arqueológicos e citológicos demonstram que o milho e o teosinte apresentam características semelhantes, como o mesmo número de cromossomos, os quais são homólogos, e facilmente cruzados para produzir descendentes férteis (Goodman, 1980; Borém e Giúdice, 2004).

2.2. ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA DO MILHO: ABORDAGEM GERAL

No Brasil, a cultura do milho apresenta grande dispersão geográfica, uma vez que é produzida, praticamente, em todo território nacional. Devido à sua versatilidade, o milho pode ser usado, diretamente, na alimentação humana, animal e, como matéria-prima, nas indústrias para inúmeros subprodutos (Magalhães et al., 2002), além de ser uma fonte empregatícia no setor rural (Souza e Braga, 2005).

Em face do contínuo aumento populacional mundial, a cada ano, a demanda por alimentos e matéria-prima para as indústrias vem crescendo gradativamente. O uso do milho em grão como alimentação animal, na forma de ração, representa a maior parte do consumo desse cereal, isto é, cerca de 80%. No Brasil, a minoria da produção de milho se destina ao consumo humano e, mesmo assim, de maneira indireta na composição de outros produtos. Em torno de 11% da produção é direcionado para a indústria, para diversos fins (Fancelli e Dourado Neto, 2005; Souza e Braga, 2005).

De acordo com levantamentos de dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2011), na Europa e nos Estados Unidos, tem sido verificado o contínuo incremento no uso do milho para produção de etanol. O uso para produção de biocombustíveis tem encarecido a utilização desse cereal para alimentação. Nos Estados Unidos, cerca de 50% é destinado a esse fim.

Dentro da evolução mundial de produção de milho, o Brasil tem se destacado como terceiro maior produtor, sendo superado pelos Estados Unidos e

pela China. A produção mundial ficou em torno de 827,56 milhões de toneladas em 2010/2011, enquanto que a estimativa para 2011/2012 é de 867,52 milhões de toneladas. Os Estados Unidos, China e Brasil produziram, aproximadamente, 317,44 milhões de toneladas, 182 milhões de toneladas e 56,2 milhões de toneladas, respectivamente (FAO, 2011).

Em 2010, a produção brasileira de milho em grão foi de, aproximadamente, 56 milhões de toneladas, cultivada em 12,9 milhões de hectares, o que se obteve a produtividade média 4.375 kg ha^{-1} . Na primeira safra, obteve-se, aproximadamente, 33 milhões de toneladas, cuja área colhida foi de 7.406.874 hectares, e a produtividade média de 4.469 kg ha^{-1} (IBGE, 2011).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção brasileira de milho em grão de 2011, para ambas as safras, foi de 56,2 milhões de toneladas, sendo o Sul (45,4%), o Sudeste (27,9%) e o Nordeste (12,4%) as regiões que mais produziram durante a primeira safra, resultando em 34,1 milhões de toneladas. Entretanto, o Centro-oeste e o Sul (90,5%) foram as que mais produziram na segunda safra (22,1 milhões de toneladas). Estas últimas regiões apresentaram participações individuais de 62,5% e 28,0%, respectivamente (IBGE, 2011).

No Brasil, os estados do Paraná e do Mato Grosso foram os que apresentaram maior produção de grãos, onde cerca de 80% corresponde ao milho e à soja. Porém, apesar de estar entre os três maiores produtores, o Brasil não se destaca entre os países com maior nível de produtividade (IBGE, 2011).

Considerando que o rendimento médio mundial, em 2009, foi de, aproximadamente, 6.500 kg ha^{-1} (CONAB, 2009), nota-se que o Brasil se apresenta abaixo dessa média, com 4.244 kg ha^{-1} em 2011 (IBGE, 2011). Um dos fatores que pode ter contribuído para esse nível baixo de produtividade é o grande número de pequenos produtores que cultivam esse cereal, os quais adotam nível baixo de tecnologia.

O estudo das projeções de produção do cereal, realizado pela Assessoria de Gestão Estratégica do MAPA, mostrou que, entre a safra brasileira de 2008/2009 e 2019/2020, haverá um aumento de 19,11 milhões de toneladas. Entretanto, para 2019/2020 está estimada uma produção de 70,12 milhões de toneladas e um consumo de 56,20 milhões de toneladas. Por meio desses resultados, é possível concluir que, para conseguir o abastecimento do mercado

interno e obter o excedente para exportação, estimado em 12,6 milhões de toneladas em 2019/2020, podendo chegar a 19,2 milhões de toneladas, o Brasil deverá fazer ajustes no quadro de suprimentos.

2.3. DEFICIÊNCIA HÍDRICA: EFEITOS E RESPOSTAS NO METABOLISMO DAS PLANTAS

2.3.1. Efeitos gerais da limitação hídrica

A água é essencial para as plantas e é um dos principais constituintes das células vegetais. Por consequência, essa molécula compõe os diferentes tecidos e órgãos das plantas. A água é necessária como reagente no metabolismo vegetal, transporte e translocação de solutos, na turgescência celular, bem como na abertura e fechamento dos estômatos (Lawlor, 2002). No solo e em quantidade adequada, essa molécula facilita a penetração do sistema radicular (Hund et al., 2009). Por ser fundamental no metabolismo das plantas, a redução na disponibilidade da água no solo pode afetar a produtividade das culturas, uma vez que essa molécula é necessária à maioria das funções vitais, reações e rotas metabólicas (Carlesso e Zimmermann, 2000; Taiz e Zeiger, 2010).

A deficiência hídrica é um dos fatores mais limitantes para a produtividade agrícola das culturas, uma vez que causa redução da atividade fotossintética (Zhang et al., 1999; Aslam e Tahir, 2003; Rahman et al., 2004), por meio do comprometimento da chegada do CO₂ aos sítios de carboxilação da Rubisco, via fechamento estomático, bem como por meio de comprometimentos no processo fotoquímico e bioquímico (Lawlor e Cornic, 2002). O déficit hídrico causa alterações no crescimento vegetal, cuja irreversibilidade vai depender da capacidade genética, da duração e da severidade e do estágio de desenvolvimento das plantas (Chaves, 1991; Bray, 1993).

Sob condições de déficit hídrico, as plantas respondem com a redução da área foliar, incremento do fechamento estomático, redução da transpiração (Kramer e Boyer, 1995) e aceleração da senescência e da abscisão foliar (Pimentel e Rossiello, 1995). Ainda, o déficit hídrico pode causar desequilíbrio entre a produção de assimilados e a demanda para o crescimento/desenvolvimento dos órgãos reprodutivos (Lawlor, 1993). Pimentel e

Rossielo (1995) observaram incremento da atividade fotossintética por área foliar à medida que aumentava a idade da folha, até a máxima expansão desse órgão. No entanto, após a expansão da folha, houve decréscimo até a senescência. Sob déficit hídrico, a senescência foliar é acelerada e pode estar associada à limitação da disponibilidade de nitrogênio para o suprimento das necessidades de crescimento da cultura.

De acordo com Matzenauer et al. (1995), para a cultura do milho, muitos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de verificar os efeitos do déficit hídrico sobre o rendimento de grãos e de identificar os períodos mais sensíveis ao déficit. No entanto, os resultados experimentais variam dependendo da duração e intensidade do déficit, bem como do tipo de solo e cultivares. Os estudos indicam que a ocorrência de estresse hídrico, durante o período de florescimento, pode proporcionar reduções na produção de grãos e no número de grãos por planta, superiores a 50% (Durães et al. 2002, 2004). Em conformidade com Bergamaschi et al. (2004) e Morizet e Togola (1984), o período fenológico crítico da cultura do milho, de maior exigência hídrica, vai do pendoamento ao início do enchimento de grãos, em que o número de grãos por espiga e o número de espigas por planta são os componentes da produção de grãos mais afetados pelo déficit hídrico.

2.3.2. Alterações nas trocas gasosas e na eficiência fotoquímica

O milho, por ser uma planta de metabolismo do tipo C_4 , apresenta características anatômicas e bioquímicas favoráveis no que se refere à eficiência na assimilação fotossintética do carbono. Em condições ótimas, a planta de milho pode realizar a mesma taxa de fotossíntese líquida que as plantas C_3 , entretanto, em condições de estresse ambiental, pode reduzir a perda de água para atmosfera, com uma menor abertura estomática, o que poderá proporcionar maior eficiência no uso da água (Ghannoum, 2009; Sage e Zhu, 2011).

O conhecimento da eficiência no uso da água pelas culturas é de fundamental importância em programas de melhoramento, visando obtenção de genótipos que maximizam o uso da água sob condições de baixa disponibilidade hídrica, sem limitar a produtividade. Na literatura, existem inúmeras formas de expressar essa eficiência, como a eficiência do uso da água (EUA) da biomassa, que relaciona a quantidade de biomassa produzida e a água consumida; a EUA

instantânea e intrínseca da planta que relaciona a assimilação de CO₂ com a transpiração e com a condutância estomática, respectivamente (Flexas et al., 2004).

É conhecido que as trocas gasosas envolvem processos biofísicos, bioquímicos e fotoquímicos, sendo estes sensíveis aos estresses ambientais, como hídrico e salino (Chaves et al., 2009). A interrupção do suprimento hídrico para as folhas sob irradiância solar pode ser considerada como uma situação de estresse intenso, proporcionando decréscimo da atividade fotossintética. Tal declínio pode ser devido a limitações tanto estomáticas como não-estomáticas (Zlatev e Yordanov, 2004).

Em geral, a resposta estomática ocorre antes da inibição da fotossíntese e restringe a disponibilidade de CO₂ nos sítios de carboxilação da enzima Rubisco. O fechamento estomático é considerado um dos primeiros mecanismos responsivos para evitar a perda de água, e este fechamento causa decréscimo na fotossíntese em condições de moderado estresse hídrico no solo ou da atmosfera. A literatura tem relatado que, em condição de moderado estresse hídrico, os estômatos logo se fecham, minimizando a perda de água por transpiração; com isso, a temperatura da folha aumenta, e os processos fotoquímicos perdem eficiência na transformação de energia luminosa em energia química (Chaves et al., 2002, 2003).

O controle da abertura dos estômatos é influenciado por diversos fatores ambientais, como a intensidade e qualidade de luz, temperatura, umidade relativa, concentração intracelular de CO₂, e da quantidade de água disponível nas raízes das plantas. Os estudos descritos na literatura relatam, também, o envolvimento do ácido abscísico no fechamento estomático de plantas submetidas à deficiência hídrica (Bray, 1997).

Por outro lado, as limitações não-estomáticas da fotossíntese têm sido atribuídas à redução na eficiência de carboxilação; não pela limitação da difusão de CO₂, mas sim pela inibição da atividade de enzimas envolvidas no ciclo de Calvin, como a RuBP carboxilase/oxigenase (Rubisco), bem como esta limitação não-estomática pode ser por meio da menor atividade da ATP sintase (Lawlor, 2002; Lawlor e Cornic, 2002; Galmés et al., 2010).

Uma maneira de se avaliar a atividade do processo fotossintético, além da medição direta da assimilação do carbono, é por meio da medição da

fluorescência da clorofila *a*. A emissão da fluorescência da clorofila é uma técnica que avalia a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) (Strasser et al., 2000; Campostrini, 2001; Baker e Rosenqvist, 2004). Em plantas cultivadas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento, ou seja, sem nenhum efeito de fatores ambientais adversos, a eficiência quântica máxima do FSII, representada pela relação F_v/F_m , que avalia a probabilidade de que um fóton absorvido pelo FSII seja capaz de reduzir Q_A , pode variar entre 0,75 a 0,85. Ou seja, este valor de 0,75 e 0,85 mostra que, em plantas saudáveis, quando o fóton atinge o FSII, existe a probabilidade de 75 a 85% que esse fóton seja capaz de reduzir Q_A . No entanto, quando ocorre uma alteração no fator ambiental, proporcionando estresse nas plantas, essa relação diminui (Bòlhar-Nordenkampf et al., 1989; Campostrini, 2001). Conforme Xu et al. (2008), o decréscimo na eficiência fotoquímica e, conseqüentemente, na taxa fotossintética, depende da idade da folha da cultura estudada e, concomitantemente, da intensidade do estresse hídrico. Os resultados obtidos pelos autores mostraram que a cultura do milho, quando submetida à desidratação rápida, apresentaram a menor eficiência fotoquímica nas folhas mais velhas.

Recentemente, essa técnica, também, vem sendo usada como uma importante ferramenta nos programas de melhoramento para auxiliar na discriminação entre genótipos tolerantes e sensíveis a estresse abiótico, dentre eles, o hídrico, ou, até mesmo, na obtenção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico (Sayed, 2003; O'Neill et al., 2006; Efeoğlu et al., 2009).

2.3.3. Alterações no sistema radicular

O suprimento de água para uma cultura é decorrente de interações que se estabelecem no sistema solo-planta-atmosfera. Ressalta-se que a quantidade de água disponível para a cultura é dependente da capacidade das plantas em adaptar-se ao ambiente estressante, da magnitude e da capacidade exploratória das raízes, e do armazenamento de água do solo (Santos e Carlesso, 1998). Corroborando com essas informações, Hund et al. (2009) notaram que a combinação de alta eficiência do uso da água, concomitantemente com um sistema radicular mais profundo, torna-se um mecanismo eficiente das plantas para aumento de tolerância à seca. Nesse estudo, a tolerância à deficiência

hídrica foi associada aos genótipos que apresentavam alta eficiência no uso da água e um sistema radicular com menor quantidade de raízes laterais na camada superficial do solo. Todavia, esses genótipos tolerantes apresentaram raízes mais profundas e grossas nas camadas subsequentes. Eissentsat (1997) relata que, quando submetidas à deficiência hídrica do solo, uma das respostas das plantas é a morte de raízes finas, e a velocidade com que essas raízes morrem pode ser importante na adaptação das plantas a esse estresse.

De acordo com Larcher (1995), a absorção de água da planta somente ocorre quando o potencial hídrico das raízes mais finas é mais negativo que o do solo. Em conformidade, Taiz e Zeiger (2010) consideram que a maior absorção de água e sais minerais da solução do solo ocorre nos pelos radiculares, os quais são células da epiderme radicular com prolongamentos que se estendem por entre as partículas do solo.

O déficit hídrico moderado pode afetar o desenvolvimento do sistema radicular. Os estudos relatam que a razão da biomassa de raiz/parte aérea pode ser controlada por um balanço funcional entre a absorção de água pelas raízes e a fotossíntese, em que, sob condições de baixa disponibilidade hídrica, esse balanço funcional é alterado. Em primeira instância, a expansão foliar é afetada; no entanto, com o avanço do déficit hídrico, observa-se um crescimento e proliferação preferencial das raízes profundas em direção a zonas do solo que permaneçam úmidas, uma vez que as camadas superiores do solo são as primeiras a secar (Hoogenbomm et al., 1987).

Os estudos demonstram que a condição de baixa disponibilidade hídrica do solo proporciona um aumento da concentração do ácido abscísico (ABA) na raiz. Quando transportado pelo xilema para a parte aérea, o ABA causa o fechamento dos estômatos e redução da expansão foliar (Taiz e Zeiger, 2010).

Cantão (2007), avaliando linhagens de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresse de fósforo e alumínio, observou diferença significativa para atributos morfológicos de raízes e características de crescimento de raízes e parte aérea. Em condição de baixa disponibilidade de fósforo, as linhagens consideradas tolerantes à seca apresentaram sistema radicular diferenciado das linhagens sensíveis, por apresentarem maior comprimento total, área de superfície, volume e maior contribuição de raízes com diâmetro inferior a 0,5 mm no comprimento total das raízes de plantas desenvolvidas. Esse mesmo

autor destaca a técnica de análise de imagem digital, como uma ferramenta promissora em fase precoce da cultura, pela discriminação de genótipos neste estudo, utilizando atributos morfológicos de raízes.

Em adição, o conhecimento da fisiologia da planta, da morfologia e da arquitetura do sistema radicular, bem como das variações genéticas, é de fundamental importância em programas de melhoramento genético vegetal que visam à seleção de genótipos eficientes e/ou tolerantes à deficiência hídrica no solo. Torna-se importante relatar que tais programas de melhoramento selecionem genótipos que apresentem a capacidade de não experimentar a limitação hídrica, de modo que esses genótipos não apresentem comprometimentos da produtividade.

2.3.4. Respostas morfológicas e fisiológicas das plantas à deficiência hídrica

Inúmeros fatores influenciam os mecanismos de adaptação das plantas ao estresse hídrico, dentre eles, a concentração de CO₂, a radiação solar, a temperatura e a umidade relativa do ar (Grant, 1992). As plantas possuem estratégias que são utilizadas para a tolerância ao estresse hídrico (Taylor, 1996; Larcher, 2004). Estudos têm classificado os mecanismos de tolerância à seca em vários tipos (Kramer e Boyer, 1995; Chaves et al., 2002; Blum, 2005), entre eles:

- a) Escape da seca: no qual, estão inseridas as plantas que apresentam ciclo de vida curto, completando-o durante a estação úmida, antes do início da seca.

- b) Retardo da desidratação: relacionado com a capacidade de manter a hidratação do tecido durante o estresse hídrico, minimizando a perda de água (fechamento dos estômatos, tricomas, área foliar, senescência das folhas mais velhas, etc.), ou aumentando a absorção de água (crescimento preferencial das raízes em zonas do solo que permanecem úmidas).

- c) Tolerância à desidratação: relacionada à capacidade de funcionar enquanto desidratada e/ou recuperação do *status* hídrico da planta após o estresse (ajuste osmótico, espécies reativas de oxigênio, etc.).

Nesse contexto, várias espécies de plantas, como o milho, sob déficit hídrico, apresentam ajustamento osmótico das células para que a célula absorva água e mantenha o potencial de pressão em níveis adequados. Esse mecanismo de adaptação consiste na acumulação de açúcares, ácidos orgânicos e íons no citosol, visando diminuir o potencial osmótico e, conseqüentemente, permitir a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese (Guei e Wassom, 1993; Pimentel, 1999; Zhang et al., 1999; Bianchi et al., 2005; Mahouachi et al., 2006). Apesar de ser considerado um importante mecanismo de tolerância ao déficit hídrico, Guei e Wassom (1993) verificaram a ausência de correlações entre o ajustamento osmótico e a produtividade do milho, concluindo que, nem sempre, esse mecanismo aumenta a produtividade das plantas. Entretanto, no geral, possibilita a continuação do crescimento/desenvolvimento em condições de estresse (Guei e Wassom, 1993; Serraj e Sinclair, 2002).

Em condições de seca, diversos trabalhos têm mostrado o acúmulo de prolina nas folhas (Taylor, 1996; Costa, 1999; Ferreira et al., 2002). Costa (1999) sugeriu que essa resposta fisiológica pode estar relacionada à redução da degradação do aminoácido prolina ou pode ser decorrente do aumento da atividade e/ou concentração de enzima P-5CR (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato redutase).

Maia et al. (2007), avaliando o efeito do déficit hídrico, durante cinco dias, em duas cultivares de milho, cv. Pontinha e cv. Dente de Cavalo, observaram, para ambas as variedades, incremento nos níveis de prolina e carboidratos solúveis totais nas folhas. Esses autores relataram que, provavelmente, a elevação na concentração de prolina está associada ao decréscimo do conteúdo relativo de água nos tecidos foliares. No entanto, a variedade de milho *Dente de Cavalo* apresentou o maior acúmulo de carboidratos nas folhas.

2.4. ANÁLISE DIALÉLICA: CONCEITOS, TIPOS E APLICABILIDADE

No melhoramento genético vegetal, são fundamentais as informações sobre o potencial genético dos genitores a serem utilizados em hibridações, por influenciarem nos procedimentos e métodos de seleção. No entanto, a dificuldade encontrada, envolvendo a escolha dos genitores, consiste em determinar a intensidade e efeito gênico de cada genitor expresso na sua progênie (Cruz et al., 2004). Dessa forma, o sucesso de um programa de melhoramento genético depende da eficiência na escolha dos melhores genitores a serem utilizados em cruzamentos e na seleção das melhores combinações híbridas, que possam resultar em populações segregantes promissoras. Tal fato favorece o trabalho do melhorista na obtenção de progresso genético. Em vista disso, o cruzamento dialélico é um método genético utilizado para tal finalidade; por isso, tem sido amplamente utilizado para seleção de genitores (Ramalho et al., 1993; Carvalho et al., 1994; Hallauer e Miranda Filho, 1988).

Cruz (2006) define o termo dialelo como um conjunto de $p(p-1)/2$ híbridos resultantes do cruzamento entre p genitores (linhagens, variedades, clones, etc.), podendo incluir, além dos respectivos pais, os híbridos recíprocos e/ou outras gerações relacionadas, como F_1 's, retrocruzamentos, etc.

Vários são os métodos empregados para a análise e interpretação de cruzamentos dialélicos, conforme mostrado por Cruz e Regazzi (1997). A escolha do melhor método pelos melhoristas depende do objetivo do programa e das peculiaridades individuais de cada técnica, o que faz explorar, de forma diferenciada, os dados. Dentre as principais metodologias de análise dialélica, pode ser destacada a proposta por Griffing (1956), pela qual são estimados os efeitos e as somas dos quadrados da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação dos genitores; a proposta por Gardner e Eberhart (1966) relata as informações relacionadas ao potencial *per se* dos genitores e da parametrização heterótica; e a proposta por Hayman (1954) fornece informações sobre o mecanismo de herança dos caracteres em estudo e o número dos genes envolvidos no controle da característica. Entretanto, esse método impõe restrições, tais como segregação diplóide, homozigose dos genitores, ausência do efeito materno, ausência de alelismo múltiplo, genes distribuídos, independentemente, entre os genitores e ausência de epistasia. Em estudos

genéticos de plantas autógamas, normalmente, essas três primeiras restrições são plenamente satisfeitas, em que comumente se dispõe de indivíduos diplóides. Nesse caso, a homozigose é alcançada naturalmente e não há registros de efeitos maternos e alelismo múltiplo nos diversos caracteres de importância econômica. Na maioria das vezes, a principal causa de falhas na análise dialélica é a pressuposição de distribuição independente entre os genitores, porém Hayman (1954) considera que as estimativas dos parâmetros genéticos são pouco comprometidas quando se trabalha com pequeno número de genitores e o modelo genético é fixo (Cruz et al., 2004).

A capacidade geral de combinação consiste na resposta média de um genótipo em uma série de cruzamento, e as estimativas dos seus efeitos permitem obter informações sobre a concentração de genes predominantemente aditivos e são de grande utilidade na indicação de genitores a serem utilizados em programas de melhoramento intrapopulacional, enquanto que os efeitos da capacidade específica de combinação consistem no desvio da resposta de certas combinações híbridas em relação ao que seria esperado com base na capacidade geral de combinação. Nessa condição, estão associados aos efeitos gênicos não aditivos, também chamados de dominantes e epistáticos (Sprague e Tatum, 1942). Sendo assim, são desejáveis aquelas combinações híbridas com estimativas de capacidade específica de combinação mais favoráveis que envolvam, pelo menos, um dos genitores que tenha apresentado o mais favorável efeito de capacidade geral de combinação (Falconer, 1996; Nass et al. 2001; Cruz et al., 2004).

De acordo com Griffing (1956), a metodologia de análise dialélica pode ser classificada em quatro métodos experimentais: método 1, em que são incluídas as p^2 combinações (genitores, F_1 's, recíprocos); método 2, em que são incluídas $p(p+1)/2$ combinações (genitores e F_1 's); método 3, em que são incluídas $p(p-1)$ combinações (F_1 's e recíprocos); e o método 4, em que são incluídas $p(p-1)/2$ combinações (apenas F_1 's).

Na determinação das melhores combinações híbridas, o uso de cruzamentos dialélicos pelos melhoristas de milho vem se mostrando eficiente. Contudo, quando houver um grande número de linhagens a serem cruzadas e, posteriormente, avaliadas, esse tipo de cruzamento pode ser limitado, o que dificulta o trabalho do melhorista, tornando-se laborioso, pois requer muito esforço

nas polinizações manuais para obtenção de todos os cruzamentos desejados (Miranda e Geraldi, 1984).

Para contornar tal problema, alguns métodos podem ser utilizados, como o *top cross*, que possibilita a avaliação de um grande número de linhagens por meio do cruzamento com um testador comum (Davis, 1927). Ainda, podem ser utilizados os esquemas dialélicos, como exemplo, o dialelo parcial, o qual envolve os respectivos cruzamentos de dois grupos distintos de genitores e que possibilita maximizar as informações sobre os grupos estudados com um número menor de cruzamentos do que é exigido no dialelo balanceado. O dialelo circulante envolve, no delineamento, genitores com um mesmo número de cruzamentos, porém inferior a $p-1$. Como no dialelo descrito anteriormente, no dialelo circulante, obtêm-se informações sobre os genitores com um número menor de cruzamentos. Entretanto, esse dialelo tem a desvantagem das perdas de informações de certas combinações híbridas. Já o dialelo incompleto ocorre quando o número de repetições de cada genitor e/ou combinação híbrida do planejamento original é variável em decorrência de perda de parcela e/ou limitações de sementes (Cruz et al., 2004; Cruz, 2006).

3. TRABALHOS

3.1. CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE GENÓTIPOS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA

3.1.1. RESUMO

Na maioria das espécies cultivadas, os cruzamentos dialélicos vêm sendo uma alternativa amplamente utilizada, mais intensamente na cultura do milho, em razão do grande número de informações genéticas que podem oferecer como inferências sobre a capacidade combinatória de genitores e híbridos. Ainda, esses cruzamentos possibilitam o entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estimar a capacidade combinatória de oito linhagens de milho sob restrição hídrica no solo, visando melhor entendimento do controle genético da produtividade de grãos e outras características agrônômicas nessa condição de estresse e a identificação de genótipos superiores para o programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. Para tanto, foi realizado um dialelo completo, de meia-tabela, entre oito linhagens contrastantes quanto à tolerância à seca, sendo três linhagens tolerantes ao déficit hídrico (L5184180-04, L176-11-2-1, e L531164), duas intermediárias (L3 e L20) e três linhagens sensíveis (L26, L98-C-2-46 e

L228-3). Em 2011, as respectivas combinações híbridas foram avaliadas em experimento submetido a estresse hídrico no campo experimental de Janaúba-MG. Nesse ambiente, a irrigação foi suspensa no estágio de “emborrachamento”, aos 45 dias após o plantio. Para garantir o estresse hídrico, os experimentos foram instalados em época de baixa probabilidade de ocorrências de chuvas. O delineamento utilizado foi em látice 6x6 com três repetições. Adotou-se o método 4, modelo 1 de Griffing na análise dialélica. As variáveis avaliadas foram intensidade de verde, florescimento feminino, florescimento masculino, intervalo entre florescimentos, altura de planta, altura de inserção da primeira espiga, porcentagem de plantas acamadas e quebradas, estande final, índice de espigas e produtividade de grãos corrigida para 13% de umidade. Para IV, FF, FM, IF, AP, AE, %AC+QB e IE os resultados mostraram que os efeitos da CGC e CEC foram importantes, com superioridade dos efeitos aditivos aos efeitos não-aditivos, entretanto, para estande e produtividade de grãos, as magnitudes dos componentes quadráticos para CEC foram maiores que os componentes para CGC, evidenciando a importância dos efeitos gênicos não-aditivos, que se refletem em heterose nessas características. Os resultados sugerem que as linhagens L176-11-2-1 (L₂) e L531164 (L₃), por apresentarem valores elevados de capacidade combinatória para PG, possam ser utilizadas como genitores superiores para formação de híbridos com maior tolerância ao estresse hídrico. As combinações híbridas L₃xL₅ e L₃xL₈ apresentaram as maiores médias de produtividade de grãos e índice de espigas, sendo, portanto, materiais promissores quanto à tolerância a estresse hídrico.

3.1.2. ABSTRACT

In most crop species, the diallel crosses have been a widely used alternative, especially for maize, due to the large number of genetic information that can be offered as inferences about combining ability of parents and hybrids. Still, these crosses allow the understanding of the genetic effects involved in the determination of characters. Thus, the aim of this study was to estimate the combining capacity of eight maize lines under soil water stress conditions, in order

to better understand the genetic control of grain yield and other agronomic traits under this stress as well as the identification of superior genotypes for the breeding program of The Embrapa National Maize and Sorghum Research Center. A complete diallel, "half-table", was performed among eight lines contrasting for drought tolerance, three lines tolerant to water deficit (L5184180-04, L176-11-2-1, L531164), two intermediate (L20 and L3) and three sensitive lines (L26, L98-C-2-46, L228-3). In 2011, their hybrid combinations were evaluated under water stress in an field experiment located at the experimental station of Janaúba-MG. In this environment, the irrigation was interrupted at "booting" stage, 45 days after planting. To ensure the water stress, the experiments were carried out in seasons with very low probability of rainfall occurrence. The experimental design was lattice 6x6, with three replications. It was adopted the method 4, model 1 of Griffing diallel analysis. The variables evaluated were green intensity (GI), timing of female (FF) and male (MF) flowering, anthesis silking interval (ASI), plant height (PH), first ear height (EH), percentage of broken (% BP) and lodged plants (LP), final stand, ear index (EI) and grain yield (GY) corrected to 13% moisture. For GI, FF, MF, ASI, PH, EH, LP%+ BP% and EI the results showed that the effects of GCA and SCA were important, with higher additive effects over non-additive effects, however, for stand and grain yield, the magnitudes of the quadratic components for SCA were higher than the components for GCA, showing the importance of non-additive genetic effects, which reflected heterosis in those traits. The results suggest that lines L176-11-2-1 (L₂) and L531164 (L₃), which present high values of combining ability for GY, can be used as parents for the formation of superior hybrids with improved tolerance to water stress. The hybrid combinations L₃xL₅ and L₃xL₈ had the highest mean grain yield and ear index, being, therefore, promising materials for tolerance to water stress.

3.1.3. INTRODUÇÃO

Em regiões de clima tropical, a deficiência hídrica é um dos fatores mais limitantes à produção agrícola. A obtenção de cultivares tolerantes a esse

estresse abiótico, que sejam mais produtivos, é um grande desafio para os melhoristas (Barnabás et al., 2008; Chaves e Davies, 2010).

Na maioria das espécies cultivadas e, mais intensamente, na cultura do milho, os cruzamentos dialélicos vêm sendo uma alternativa amplamente utilizada. Esse tipo de análise oferece um grande número de informação genética, como inferências sobre a capacidade combinatória de genitores e híbridos (Cruz et al., 2004; Bordallo et al., 2005) e possibilita o entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres estudados.

Conforme mostrado por Cruz e Regazzi (2004), vários são os métodos utilizados para análise e interpretação de cruzamentos dialélicos. Dentre eles, destaca-se a metodologia proposta por Griffing (1956), pela qual são estimados os efeitos e os componentes quadráticos da capacidade geral de combinação (CGC) dos genitores, e da capacidade específica de combinação (CEC) dos cruzamentos obtidos entre esses genitores. Quanto à conceituação da capacidade combinatória, segundo Sprague e Tatum (1942), a CGC representa a resposta média de um genitor em uma série de cruzamentos, principalmente devido aos efeitos aditivos dos alelos. A CEC representa o desvio do comportamento esperado de um dado genótipo, tomando como base as capacidades gerais de combinação de seus parentais, sendo esta relativa aos efeitos não-aditivos de dominância e de epistasia (Vencovsky, 1987; Hallauer e Miranda Filho, 1988; Ramalho et al., 1993).

Em programas de melhoramento de milho, o estudo da capacidade combinatória auxilia o melhorista na identificação de combinações híbridas superiores, tanto para formação de híbridos F_1 comerciais, como para a escolha de genitores para formação de populações base de alto potencial genético (Cruz et al. 2004; Cruz, 2006). Assim sendo, os objetivos deste trabalho foram avaliar em condições de restrição hídrica no solo, o desempenho morfo-agronômico de oito linhagens de milho contrastantes e seus respectivos cruzamentos F_1 's, os quais foram obtidos em um dialelo completo de meia-tabela; estimar os efeitos da capacidade geral e específica de combinação para as variáveis avaliadas, visando identificar as melhores combinações e os melhores genitores para futura utilização no programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo.

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.4.1. Histórico e pré-seleção de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca na Embrapa-CNPMS

A escolha dos parentais para formação do dialelo deste trabalho se baseou nos resultados obtidos no *screening*, "*per se*", no ano de 2009, de 190 linhagens da Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), realizados em ensaios experimentais conduzidos em Janaúba, sob condições de estresse hídrico e sem estresse hídrico. Os ensaios foram realizados com três repetições, com parcelas de uma linha de 4 m de comprimento e 80 cm entre linhas. Para os ensaios controle (sem estresse hídrico), a irrigação foi feita em todo ciclo da cultura, já para os ensaios sob estresse, a irrigação foi suspensa no estágio de "emborrachamento", o que foi suficiente para causar 70% de redução na média geral de produtividade de grãos das linhagens (Comunicação pessoal – Guimarães, L.J.M.; e Parentoni, S.N. – Pesquisadores da EMBRAPA-CNPMS).

Dos 190 genótipos avaliados, as linhagens L176-11-2-1, L5184180-04 e L531164 foram selecionadas, dentre as mais produtivas sob estresse, como tolerantes (T). As linhagens L3 e L20 foram classificadas como Medianas (M), e as linhagens L26, L98-C-2-46 e L228-3 foram classificadas como Sensíveis à seca (S) (Tabela 1). Tanto no ambiente com estresse, quanto no ambiente sem estresse hídrico, para oito genitores selecionados na safra de 2009/10, os valores genotípicos preditos ($u+g$) e as classificações para produtividade de grãos se encontram na Tabela 1. Numa análise fenotípica e visual, essas linhagens se apresentaram bem distintas, sendo, facilmente, classificadas como tolerantes e sensíveis, respectivamente (Comunicação pessoal – Guimarães, L.J.M.; e Parentoni, S.N. – Pesquisadores da EMBRAPA-CNPMS).

Tabela 1 – Valores genotípicos preditos (u+g) para produtividade de grãos (PG), em kg ha⁻¹, em ambiente com e sem estresse hídrico no solo, para oito genitores selecionados dentre os 190 avaliados no ensaio instalado na safra de 2009/10, em Janaúba-MG.

Linhagens	Com Estresse		Sem Estresse		Resposta	Redução (%)	
	(u+g)	Classificação	(u+g)	Classificação			
L5184180-04	994	1	2179	3	T	1185	54
L176-11-2-1	779	2	2103	6	T	1324	63
L531164	775	3	2314	1	T	1539	67
L3	497	25	1351	35	M	854	63
L20	307	59	2040	7	M	1733	85
L26	177	106	1352	34	S	1175	87
L98-C-2-46	120	140	1734	11	S	1614	93
L228-3	104	159	318	174	S	214	67

Com base nesses resultados, foram selecionadas linhagens tolerantes (T) e sensíveis (S) para formação do dialelo. As sementes dos híbridos dialélicos foram obtidas em 2010/11 conforme a descrição a seguir:

3.1.4.2. Obtenção das sementes dos híbridos dialélicos

A partir do acervo do programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, foram utilizadas oito linhagens endogâmicas de milho, sendo três linhagens tolerantes ao déficit hídrico (L5184180-04, L176-11-2-1 e L531164), duas intermediárias (L3 e L20) e três linhagens sensíveis (L98-C-2-46, L26 e L228-3) (Tabela 1). Na Estação Experimental da Embrapa, no município de Sete Lagoas, MG, localizada a 19°28' de latitude S, longitude 44°15'08" W e 732 m de altitude, para obtenção dos 28 híbridos dialélicos, foi implantado um campo de polinização manual entre os meses de setembro de 2010 (plantio: 22/09/2010) e fevereiro de 2011 (colheita: 08/02/2011). As linhagens foram cultivadas de forma alternada, par a par, visando à obtenção de todas as combinações híbridas possíveis. Cada linha de cultivo apresentava 4 m de comprimento, com espaçamento de 0,70 m entre linhas e 0,20 m entre plantas. A adubação de plantio foi constituída de 500 kg.ha⁻¹ da fórmula 08-28-16, como fontes de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, mais 0,3% de Zn, e 200 kg.ha⁻¹ de uréia como adubação de cobertura.

Os cruzamentos foram realizados, manualmente, entre as plantas dos pares dialélicos (Tabela 2). Para tanto, procedeu-se à proteção das espigas de todas as plantas de cada linha, anteriormente ao aparecimento dos estilo-estigmas, sendo essas cobertas por sacos plásticos para prevenção de contaminação de pólen indesejável. Quando as espigas protegidas apresentaram estilo-estigmas com, pelo menos, três cm de comprimento, realizou-se a proteção dos pendões maduros de plantas da fileira que correspondia ao par do cruzamento, com sacolas de papel Kraft, para coleta do pólen desejado. Depois, as sacolas foram utilizadas para polinização direcionada e para encobrir as espigas após a polinização da planta da fileira-par correspondente. As polinizações foram realizadas em função da obtenção de quantidade suficiente de sementes para a continuidade do processo.

Tabela 2 - Esquema de dialelo completo, incluindo os híbridos F₁s de oito genitores (linhagens).

Pais	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	L ₆	L ₇	L ₈
L ₁	-	Y ₁₂	Y ₁₃	Y ₁₄	Y ₁₅	Y ₁₆	Y ₁₇	Y ₁₈
L ₂		-	Y ₂₃	Y ₂₄	Y ₂₅	Y ₂₆	Y ₂₇	Y ₂₈
L ₃			-	Y ₃₄	Y ₃₅	Y ₃₆	Y ₃₇	Y ₃₈
L ₄				-	Y ₄₅	Y ₄₆	Y ₄₇	Y ₄₈
L ₅					-	Y ₅₆	Y ₅₇	Y ₅₈
L ₆						-	Y ₆₇	Y ₆₈
L ₇							-	Y ₇₈
L ₈								-

L₁ = L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3.

3.1.4.3. Avaliação dos híbridos dialélicos

3.1.4.3.1. Condições experimentais

Foram avaliados 28 híbridos dialélicos de milho a partir do cruzamento entre oito linhagens contrastantes quanto à tolerância à deficiência hídrica (L176-11-2-1, L5184180-04, L531164, L3, L20, L26, L98-C-2-46 e L228-3), juntamente

com oito materiais comerciais (testemunhas). O experimento foi realizado em condições de campo, na Área Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Janaúba, localizada na região norte de Minas Gerais (15°47'S, 43°18'W e 516 m de altitude). As testemunhas utilizadas foram os híbridos simples comerciais: BRS1030, BRS1060, BRS1055, AG7088, 2B707, DKB390, P30F35, P3862.

O delineamento experimental utilizado foi o látice 6x6 com três repetições. Cada repetição foi constituída por 36 tratamentos que corresponderam aos 28 híbridos dialélicos e as oito testemunhas. As parcelas consistiam de uma fileira de 3,6 m de comprimento, espaçadas em 0,80 m entre linhas e 0,18 m entre plantas. Nessas parcelas, e após o desbaste, foram mantidas 24 plantas por parcela, sendo duas plantas na 1ª e 2ª covas e na 19ª e 20ª covas, e uma planta nas demais covas. Com o objetivo de garantir a densidade final desejada, foram semeadas 40 sementes por parcela. Para garantir o estresse hídrico, os experimentos foram instalados em época de baixa probabilidade de ocorrências de chuvas, no período de maio a setembro de 2011.

Os tratos culturais seguiram a recomendação do sistema de produção da Embrapa Milho e Sorgo, conforme a necessidade da cultura. As análises de solo, retiradas em duas profundidades (0 a 0,20 e 0,20 a 0,40 m), foram realizadas pelo laboratório de fertilidade de solos da Embrapa Milho e Sorgo, cujos resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados da análise química do solo do experimento de dialelo, em ambiente com estresse hídrico no solo, nas camadas 0 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m de profundidade. Janaúba-MG, 2011.

Profundidade	pH (H ₂ O)	H+Al	Ca	Mg	Al	K	P	M.O.
m	-	cmol _c /cm ³	cmol _c /dm ³			mg/dm ³		dag/Kg
0 - 0,20	6,00	1,63	4,02	0,95	0,05	265,60	34,21	1,46
0,20 - 0,40	6,10	1,70	3,07	1,34	0,21	147,90	5,04	0,74

Profundidade	SB	CTC	V	Sat. Al	Cu	Fe	Mn	Zn
m	cmol _c /dm ³		%		mg/dm ³			
0 - 0,20	5,65	7,28	77,61	0,88	0,82	13,84	16,98	5,30
0,20 - 0,40	4,79	6,49	73,80	4,20	0,89	10,23	6,20	0,71

Durante todo o experimento, foram monitoradas a insolação, a temperatura do ar, a precipitação e a umidade relativa por meio de uma estação climatológica localizada na cidade de Janaúba-MG (Figura 1).

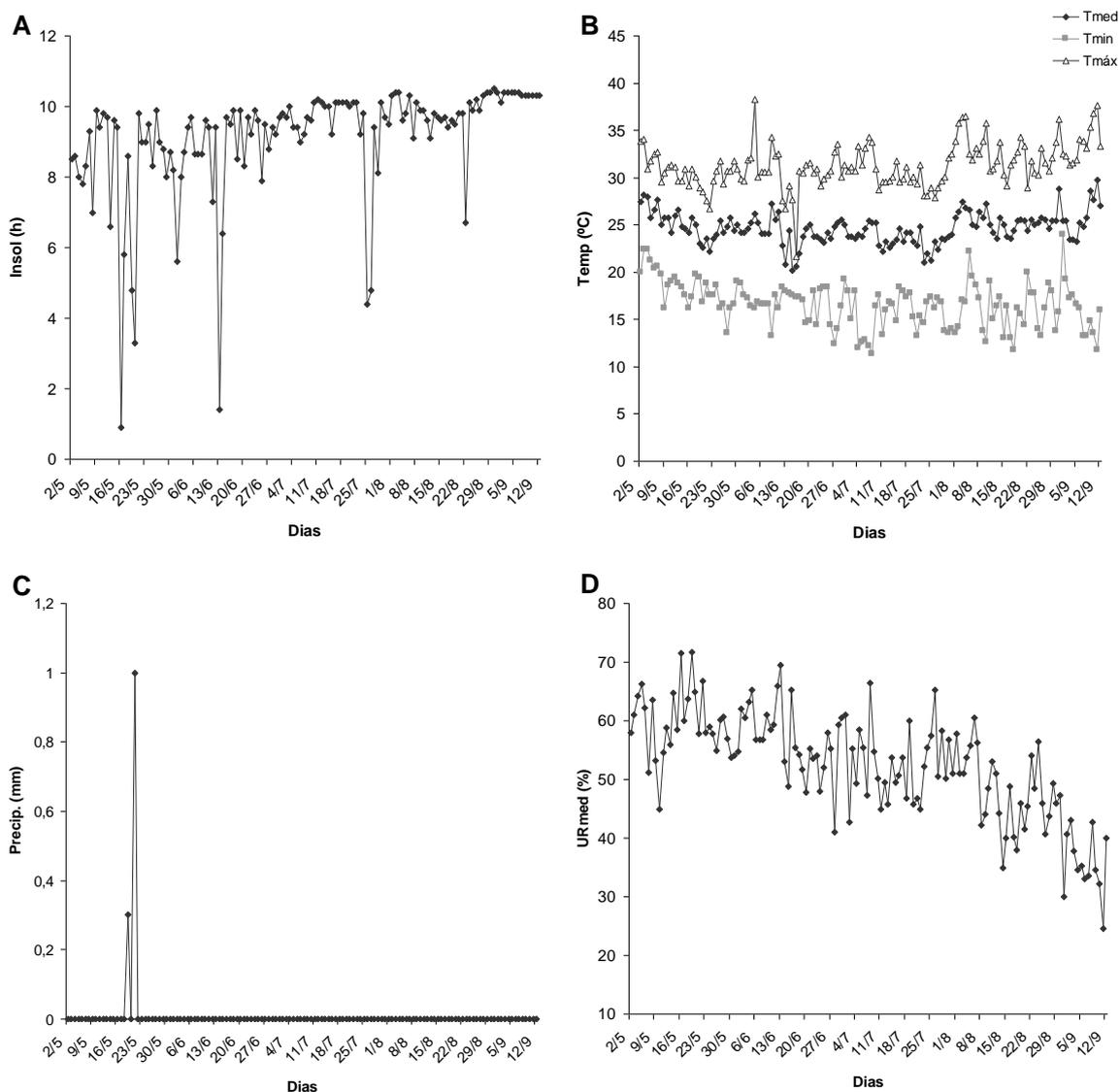


Figura 1 – (A) Insolação (Insol), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Precipitação (Precip) e (D) Umidade relativa (URmed) no período de condução do experimento em campo experimental pertencente a Embrapa Milho e Sorgo, no município de Janaúba-MG.

Na adubação de plantio, foram aplicados $400 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ da fórmula 08-28-16, como fontes de N, P_2O_5 e K_2O , respectivamente, mais 0,3% de Zn. A adubação nitrogenada de cobertura foi feita quando o milho apresentava-se no estágio de seis folhas completamente expandidas, utilizando-se 200 kg ha^{-1} de uréia. A

irrigação foi feita, utilizando-se sistema de gotejamento sendo que, para a imposição do estresse hídrico, a irrigação foi suspensa aos 45 dias após o plantio, no estágio de “emborrachamento”, permanecendo, assim, até à maturação fisiológica dos grãos.

3.1.4.3.2. Características morfo-agronômicas avaliadas

No florescimento, foi determinada a Intensidade de verde das folhas (IV) por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Minolta, Japão). Para tanto, foi usada a média de nove leituras obtidas em plantas distintas e competitivas em cada parcela. As medidas foram feitas na folha da espiga, selecionando-se, somente, o terço médio do limbo a 2 cm da margem da folha, excluindo-se a nervura central da folha madura.

O florescimento feminino (FF) foi determinado, contando-se o número de dias entre o plantio e emergência dos estilos-estigmas em 50% das plantas da parcela, enquanto que o florescimento masculino (FM) foi determinado pela contagem do número de dias entre o plantio e emergência das anteras em 50% das plantas da parcela.

O intervalo entre florescimentos (IF) foi calculado pela diferença, em dias, entre o florescimento feminino e o florescimento masculino.

A altura de planta (AP) foi medida, em cm, a partir do nível do solo até a inserção da última folha. Essa variável foi obtida em cinco plantas competitivas das parcelas.

A altura da inserção da primeira espiga (AE) foi obtida, em cm, a partir do nível do solo até à base de inserção da espiga superior, e a medição dessa variável foi feita em cinco plantas competitivas das parcelas.

O estande final (EST) foi obtido pelo cálculo do número total de plantas presentes na parcela, no momento da colheita. Após a contagem, essa variável foi transformada para número de plantas por hectare.

Na colheita, a porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+Q) foi obtida pela soma do número de plantas cujo ângulo de inclinação foi superior a 45° em relação à vertical, com o número de plantas quebradas dividido pelo estande da parcela e multiplicado por 100.

O número de espiga (NE) foi determinado, em cada parcela, pela contagem do número de espigas colhido por planta, e o resultado foi corrigido para hectare.

O índice de espiga (IE) foi obtido pela relação entre o número de espigas e o estande final.

A umidade de grãos, na colheita, foi medida em porcentagem de uma amostra dos grãos de cada parcela, imediatamente após a pesagem, obtida em aparelho determinador e usada somente para correção dos valores de produtividade de grãos para padronização em 13% de umidade. E a produtividade de grãos (PG) foi determinada por meio da pesagem dos grãos de cada parcela, corrigidos para 13% de umidade e transformados para kg ha⁻¹.

3.1.4.3.3. Análise estatística

3.1.4.3.3.1. Análise de variância

Para as análises genético-estatísticas, foram utilizados os recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2007).

Encontra-se, na Tabela 4, o esquema da análise de variância, as esperanças dos quadrados médios e o teste F para as fontes de variações, em experimento conduzido em látice, considerando, como fontes de variação, tratamento, cuja variância é obtida a partir das médias ajustadas, e o resíduo obtido a partir do erro efetivo. O modelo matemático considera a média e a fonte de variação “Genótipos” como fatores fixos, e “Repetições”, “Blocos dentro de Repetições” e “Erro” como fatores aleatórios:

$$Y_{ijk} = \mu + r_j + b_{k(j)} + g_i + \varepsilon_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = valor observado referente ao i-ésimo genótipo no k-ésimo bloco, dentro da j-ésima repetição;

μ = média geral;

r_j = efeito da j-ésima repetição;

$b_{k(j)}$ = efeito do k-ésimo bloco, na j-ésima repetição;

g_i = efeito do i-ésimo genótipo;

ε_{ijk} = erro experimental médio.

Tabela 4 - Esquema da análise de variância para avaliação dos 28 híbridos dialélicos em látice.

FV	GL	QM	E (QM)	F
Repetição	r-1	QMR	$\sigma^2 + g\sigma_r^2$	
Blocos/Repetições	(b-1)r	QMB/R	$\sigma^2 + g\sigma_{b/r}^2$	
Genótipos	g-1	QMG	$\sigma^2 + r\phi_g$	QMG/QME
Erro efetivo	g(r-1)	QME	σ^2	
Total	rg-1			

3.1.4.3.3.2. Análise dialélica de Griffing e determinação da capacidade combinatória

As análises de capacidade combinatória foram realizadas de acordo com o método 4, proposto por Griffing (1956), no qual são incluídos, apenas, os híbridos F_1 , num total de $p(p - 1)/2$ combinações, considerando-se o modelo 1. Nesse caso, supõe-se que os genótipos são de efeito fixo, e, apenas, o erro experimental é de efeito aleatório. Nesse modelo, todas as conclusões devem ser limitadas aos genótipos em estudo no presente trabalho.

No modelo estatístico adotado, na análise da tabela dialélica com base na média das repetições, foi realizada a decomposição nos seguintes efeitos (Cruz et al., 2004):

$$y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + \bar{\varepsilon}_{ij}$$

Em que:

y_{ij} = valor médio do híbrido ij (i, j = 1, 2, ... p, i < j);

m = média geral de todos os tratamentos;

g_i = efeito da capacidade geral de combinação do i-ésimo genitor;

g_j = efeito da capacidade geral de combinação do j-ésimo genitor;

s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre os genitores de ordem i e j; sendo $s_{ij} = s_{ji}$;

$\bar{\varepsilon}_{ij}$ = erro experimental médio.

Para estimação dos efeitos e das somas de quadrados dos efeitos, foi necessário adotar as restrições abaixo, já que esse parâmetro foi obtido a partir de um modelo linear $Y = X\beta + \varepsilon$, no qual a matriz X não é de posto-coluna completo.

$$\sum_i \hat{g}_i = 0 \quad \text{e} \quad \sum_j \hat{s}_{ij} = 0 \text{ para todo } i$$

Considerando-se essas restrições, os estimadores dos efeitos são descritos a seguir (Cruz et al., 2004).

$$\hat{m} = \frac{2}{p(p-1)} Y_{..}$$

$$\hat{g}_i = \frac{1}{p(p-2)} [pY_{.i} - 2Y_{..}]$$

$$\hat{s}_{ij} = Y_{ij} - \frac{1}{(p-2)} (Y_{.i} + Y_{.j}) + \frac{2}{(p-1)(p-2)} Y_{..}$$

$$SQ(\hat{m}) = \frac{2}{p(p-1)} Y_{..}^2$$

$$SQ_g = SQ(g_i) = SQ(CGC) = \frac{1}{(p-2)} \sum Y_{.i}^2 - \frac{4}{p(p-2)} Y_{..}^2$$

$$SQ_s = SQ(s_{ij}) = SQ(CEC) = \sum_i \sum_{i < j} Y_{ij}^2 - \frac{1}{(p-2)} \sum_i \sum_{i < j} Y_{ij} (Y_{.i} + Y_{.j}) + \frac{2}{(p-1)(p-2)} Y_{..}^2$$

Demonstra-se que: $\sum_i \sum_{i < j} Y_{ij} (Y_{.i} + Y_{.j}) = \sum_i Y_{.i}^2$, logo:

$$SQ(CEC) = \sum_i \sum_{i < j} Y_{ij}^2 - \frac{1}{(p-2)} \sum_i Y_{i.}^2 + \frac{2}{(p-1)(p-2)} Y_{..}^2$$

A Tabela 5 apresenta o esquema de análise de variância para CGC e CEC, com os quadrados médios e as respectivas esperanças matemáticas para o método 4, modelo 1 de Griffing.

Tabela 5 - Esquema da análise de variância para CGC e CEC, segundo a metodologia de Griffing (1956), método 4, apenas os híbridos F_1 's.

FV	GL	SQ	QM	F	E (QM)
CGC	p-1	SQ _g	QMG	QMG/QMR	$\sigma_\varepsilon^2 + (p-2)\phi_g$
CEC	p(p-3)/2	SQ _s	QMS	QMS/QMR	$\sigma_\varepsilon^2 + \phi_s$
Resíduo	f	SQ _r	QMR		σ_ε^2

Em que:

$$\phi_g = \frac{1}{p-1} \sum g_i^2$$

$$\phi_s = \frac{2}{p(p-3)} \sum_i \sum_{i < j} s_{ij}^2$$

f = corresponde ao número de graus de liberdade do resíduo;

Os estimadores dos componentes quadráticos de CGC ($\hat{\phi}_g$) e de CEC ($\hat{\phi}_s$) podem ser obtidos da seguinte forma:

$$\hat{\phi}_g = \frac{QMG - QMR}{(p-2) \times r}$$

$$\hat{\phi}_s = \frac{QMS - QMR}{r}$$

3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.5.1. Análise estatística

a) Análise de variância

O resumo da análise de variância dos dados, com os valores e respectivas significâncias dos quadrados médios (QM), coeficiente de variação (CV) e graus de liberdade (GL) encontra-se na Tabela 6.

Foram verificadas diferenças significativas a 1% ($P \leq 0,01$) de probabilidade pelo teste F para a fonte de variação Tratamento, para as características florescimento feminino (FF), florescimento masculino (FM), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP), altura de espiga (AE), índice de espiga (IE) e produtividade de grãos (PG). Tal resultado evidencia que, para essas características, existe variabilidade genética entre os híbridos estudados neste trabalho. Por outro lado, para as características intensidade de verde (IV), porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB) e estande final (EST), não foram verificadas diferenças estatísticas (Tabela 6), sugerindo que as combinações híbridas e as testemunhas apresentaram resposta similar, ou seja, não apresentaram variabilidade genética para tais características.

Analisando-se os coeficientes de variação, verifica-se que os valores oscilaram entre 1,16% e 14,51%, com exceção para IF e %AC+QB (Tabela 6), que apresentaram valores de 62,51% e 63,90%, respectivamente. Esse fato mostra que, em geral, houve boa precisão experimental, de acordo com a classificação proposta por Scapim et al. (1995). Essa elevada estimativa de CV para acamamento de plantas e intervalo entre florescimentos está em conformidade com os valores observados em outros trabalhos (Hallauer e Miranda, 1988; Alves, 2006). Ressalta-se que a alta magnitude de valor de CV para tais características não indica que houve erro na aferição dos dados e/ou descuido na condução do experimento, mas sim pode ser um indicativo que essas características sofreram a influência de variações ambientais não controláveis.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância, médias, coeficientes de variação e eficiência do látice para as dez características avaliadas em 28 híbridos experimentais, mais 8 testemunhas comerciais. Janaúba-MG, 2011.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios ¹				
		IV	FF	FM	IF	AP
Repetições	2	27,0093	5,8611	4,4815	1,7870	178,0093
Bloco/Rep (ajustado)	15	29,4495	6,6981	1,2519	7,0426	169,2130
Tratamento (ajustado)	35	23,0104 ^{ns}	34,7802 ^{**}	16,6817 ^{**}	28,6307 ^{**}	516,4979 ^{**}
Erro efetivo	55	18,8840	4,9111	0,5787	5,3072	104,1781
Média		44,80	69,28	65,59	3,69	215,88
CVe(%)		9,70	3,20	1,16	62,51	4,73
Eficiência do Látice (%)		105,63	102,86	116,11	102,40	106,65
Fonte de Variação	GL	AE	%AC+QB	EST	IE	PG
Repetições	2	104,8611	0,6302	9043981,5648	0,0220	37669,3704
Bloco/Rep (ajustado)	15	141,9907	0,5212	95175994,6278	0,0071	1419547,9074
Tratamento (ajustado)	35	281,0405 ^{**}	0,8015 ^{ns}	85596692,7103 ^{ns}	0,0514 ^{**}	4261533,2547 ^{**}
Erro efetivo	55	80,5177	0,5562	52610499,5578	0,0081	358197,2729
Média		113,47	1,17	76195,55	0,86	4123,35
CVe (%)		7,91	63,90	9,52	10,48	14,51
Eficiência do Látice (%)		108,94	98,65	109,72	97,41	152,19

^{**}, ^{*} = Significativo ao nível de 1 e 5%, respectivamente de probabilidade, pelo teste F; ^{ns}= Não significativo. ¹Intensidade de verde (IV); Florescimento feminino (FF); Florescimento masculino (FM); Intervalo entre florescimentos (IF); Altura de planta (AP); Altura de espiga (AE); Porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB); Estande final (EST); Índice de espiga (IE); Produtividade de grãos (PG).

Para a maioria das características avaliadas, a eficiência do látice foi alta (Tabela 6), cujos valores foram acima de 100%. Segundo Pimentel-Gomes e Garcia (1991), para que o látice tenha eficiência elevada, é necessário que seja grande o efeito dos blocos. Por exemplo, para a produtividade de grãos, a utilização do delineamento em látice proporcionou eficiência da ordem de 152,19% (Tabela 6). Nesse caso, o efeito de blocos foi de grande magnitude e possibilitou a retirada de variação que seria alocada no erro, se o delineamento fosse realizado em blocos ao acaso. Além disso, o delineamento em látice permitiu a obtenção de médias ajustadas pela recuperação da informação inter-blocos. Silva et al. (2000) relatam que, quando o látice tiver eficiência abaixo de 100%, equivalerá a um ensaio em blocos completos casualizados, desprezando-se a análise de variância em látice.

b) Agrupamento de média

Na Tabela 7, encontram-se as médias dos 28 híbridos F_1 's e das 8 testemunhas comerciais, obtidas pelo teste de comparação de Scott Knott (1974). Observa-se que, para a maioria das características avaliadas neste trabalho, houve variação entre as médias dos genótipos, quando esses foram cultivados em ambiente com restrição hídrica no solo.

Em relação às características intensidade de verde (IV), porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB) e estande final (EST), as combinações híbridas não diferiram, estatisticamente, das testemunhas, uma vez, que apresentaram pequena variação entre as médias. Apesar da ausência de significância, diversos trabalhos vêm demonstrando a importância do estudo de tais características. A intensidade de verde está diretamente associada ao teor relativo de clorofila nas folhas, fundamental para o processo fotossintético, e como consequência, para a produtividade vegetal (Alberte e Thornber, 1977; Taiz e Zeiger, 2010; Gholamin e Khayatnezhad, 2011).

Tabela 7 - Médias fenotípicas de dez características avaliadas em 28 híbridos dialélicos e oito testemunhas comerciais de milho em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo. Janaúba-MG, 2011.

Híbridos	IV	FF	FM	IF	AP
L ₁ xL ₂	45,1 a	64,0 d	62,0 e	2,0 c	214,9 b
L ₁ xL ₃	49,7 a	65,0 c	61,7 e	3,3 c	211,1 b
L ₁ xL ₄	47,8 a	62,7 d	62,0 e	0,7 c	204,1 b
L ₁ xL ₅	46,8 a	62,3 d	59,7 f	2,6 c	222,2 a
L ₁ xL ₆	45,2 a	64,3 d	62,0 e	2,3 c	209,4 b
L ₁ xL ₇	46,7 a	67,7 c	63,0 e	4,7 c	197,2 c
L ₁ xL ₈	46,9 a	69,0 b	62,7 e	6,3 b	215,0 b
L ₂ xL ₃	48,8 a	69,0 b	66,3 c	2,7 c	220,3 a
L ₂ xL ₄	44,5 a	70,0 b	68,0 b	2,0 c	216,5 a
L ₂ xL ₅	42,1 a	69,0 b	67,0 c	2,0 c	234,2 a
L ₂ xL ₆	46,9 a	69,7 b	65,0 d	4,7 c	220,4 a
L ₂ xL ₇	45,1 a	71,7 b	66,3 c	5,4 b	220,9 a
L ₂ xL ₈	42,7 a	71,3 b	69,3 a	2,0 c	226,6 a
L ₃ xL ₄	48,2 a	69,7 b	68,0 b	1,7 c	196,7 c
L ₃ xL ₅	46,5 a	67,3 c	65,0 d	2,3 c	226,5 a
L ₃ xL ₆	46,0 a	68,3 b	64,0 d	4,3 c	226,3 a
L ₃ xL ₇	48,1 a	70,7 b	66,0 c	4,7 c	207,4 b
L ₃ xL ₈	46,9 a	69,3 b	67,3 b	2,0 c	219,8 a
L ₄ xL ₅	44,6 a	68,3 b	66,0 c	2,3 c	210,0 b
L ₄ xL ₆	46,9 a	70,7 b	64,3 d	6,4 b	203,6 b
L ₄ xL ₇	45,0 a	71,7 b	67,3 b	4,4 c	187,3 c
L ₄ xL ₈	45,4 a	73,0 b	67,3 b	5,7 b	210,1 b
L ₅ xL ₆	43,3 a	69,3 b	65,0 c	4,3 c	210,3 b
L ₅ xL ₇	45,4 a	73,0 b	66,0 c	7,0 b	202,0 b
L ₅ xL ₈	41,5 a	69,3 b	65,3 c	4,0 c	233,5 a
L ₆ xL ₇	44,7 a	79,0 a	64,0 d	15,0 a	187,8 c
L ₆ xL ₈	41,6 a	72,0 b	64,7 d	7,3 b	221,9 a
L ₇ xL ₈	42,4 a	77,3 a	67,7 b	9,6 b	203,7 b
Média	45,5	69,5	65,1	4,4	212,8
T ₁	40,9 a	69,0 b	67,0 c	2,0 c	211,7 b
T ₂	48,3 a	69,7 b	66,0 c	3,7 c	212,3 b
T ₃	43,8 a	70,3 b	67,3 b	3,0 c	229,8 a
T ₄	40,0 a	66,3 c	68,3 b	-2,0 c	234,4 a
T ₅	42,6 a	67,0 c	66,3 c	0,7 c	228,9 a
T ₆	44,3 a	67,3 c	70,0 a	-2,7 c	220,5 a
T ₇	39,8 a	69,0 b	65,7 c	3,3 c	240,6 a
T ₈	38,2 a	70,7 b	67,7 b	3,0 c	233,9 a
Média	42,2	68,7	67,3	1,4	226,5

L₁ = L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3, T₁ = BRS1030, T₂ = BRS1060, T₃ = BRS1055, T₄ = AG7088, T₅ = 2B707, T₆ = DKB390, T₇ = P30F35, T₈ = P3862. ¹Intensidade de verde (IV); Florescimento feminino (FF); Florescimento masculino (FM); Intervalo entre florescimentos (IF); Altura de planta (AP). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

Tabela 7, Cont.

Híbridos	AE	%AC+QB	EST	IE	PG
L ₁ xL ₂	117,7 a	1,3 a	80150,5 a	0,9 a	4652,8 c
L ₁ xL ₃	108,4 b	0,7 a	80633,5 a	1,0 a	3456,4 e
L ₁ xL ₄	102,4 b	1,2 a	76343,6 a	0,9 a	3592,3 e
L ₁ xL ₅	116,1 a	2,0 a	74898,6 a	0,9 a	4239,4 d
L ₁ xL ₆	119,5 a	0,7 a	80100,2 a	0,9 a	4324,5 d
L ₁ xL ₇	108,2 b	1,3 a	67850,1 a	0,6 c	3132,2 e
L ₁ xL ₈	105,5 b	1,7 a	77304,4 a	0,6 c	2692,4 f
L ₂ xL ₃	114,9 a	0,7 a	79331,3 a	0,9 a	3410,6 e
L ₂ xL ₄	116,1 a	1,7 a	83479,4 a	0,9 a	3758,5 e
L ₂ xL ₅	119,5 a	2,8 a	74458,2 a	0,9 a	4220,2 d
L ₂ xL ₆	115,5 a	0,7 a	75374,4 a	1,0 a	4441,3 d
L ₂ xL ₇	114,4 a	0,7 a	77451,0 a	0,9 a	4293,9 d
L ₂ xL ₈	121,4 a	1,3 a	65249,1 a	0,9 a	4157,2 d
L ₃ xL ₄	107,2 b	1,3 a	75812,6 a	0,9 a	2626,7 f
L ₃ xL ₅	115,6 a	0,7 a	72721,2 a	1,0 a	6120,7 b
L ₃ xL ₆	123,4 a	0,7 a	83910,7 a	0,9 a	4177,8 d
L ₃ xL ₇	113,2 a	0,7 a	81162,9 a	0,9 a	3981,2 d
L ₃ xL ₈	116,9 a	1,5 a	80247,1 a	1,0 a	5505,2 b
L ₄ xL ₅	118,7 a	1,3 a	68818,0 a	0,9 a	4225,7 d
L ₄ xL ₆	110,5 b	0,7 a	74939,3 a	0,6 c	3471,5 e
L ₄ xL ₇	100,7 b	1,2 a	73638,5 a	0,7 b	3285,8 e
L ₄ xL ₈	114,5 a	1,2 a	80585,2 a	0,8 b	3736,3 e
L ₅ xL ₆	103,1 b	1,3 a	68769,7 a	0,9 a	3639,4 e
L ₅ xL ₇	96,6 b	2,0 a	75710,1 a	0,7 b	3422,1 e
L ₅ xL ₈	117,1 a	1,9 a	80434,9 a	0,8 a	4156,6 d
L ₆ xL ₇	86,8 b	0,7 a	71660,5 a	0,5 c	1549,5 g
L ₆ xL ₈	106,3 b	0,7 a	88733,5 a	0,7 b	3241,2 e
L ₇ xL ₈	97,1 b	0,7 a	67467,1 a	0,6 c	1466,0 g
Média	111,0	1,2	76329,8	0,8	3749,2
T ₁	113,9 a	1,2 a	69927,4 a	0,9 a	4117,0 d
T ₂	108,9 b	0,7 a	78562,3 a	0,9 a	5749,0 b
T ₃	120,6 a	0,7 a	71855,3 a	0,9 a	4988,0 c
T ₄	129,3 a	1,5 a	77401,1 a	1,0 a	5815,4 b
T ₅	122,1 a	1,8 a	69874,9 a	0,9 a	4746,4 c
T ₆	134,4 a	1,2 a	78315,0 a	1,0 a	6806,3 a
T ₇	124,8 a	0,7 a	83672,6 a	1,0 a	6590,6 a
T ₈	123,8 a	0,7 a	76195,5 a	0,9 a	4650,7 c
Média	122,2	1,1	75725,5	0,9	5432,9

L₁ = L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3, T₁ = BRS1030, T₂ = BRS1060, T₃ = BRS1055, T₄ = AG7088, T₅ = 2B707, T₆ = DKB390, T₇ = P30F35, T₈ = P3862. ¹Altura de espiga (AE); Porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB); Estande final (EST); Índice de espiga (IE); Produtividade de grãos (PG). Médias com a mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott a 5 % de probabilidade.

Jallel et al. (2009) relatam que a quantificação dos pigmentos fotossintéticos, em especial as clorofilas e os carotenóides, é uma ferramenta potencial a auxiliar no processo de seleção de genótipos de milho tolerantes à deficiência hídrica. Por outro lado, Reis et al. (2011), avaliando 36 híbridos de milho, em condições de estresse por seca, verificaram que as características secundárias de intensidade de verde, obtidas pelo medidor portátil de clorofilas SPAD, que são relacionadas aos teores de clorofila, e notas de Stay-Green não apresentaram correlações significativas com a produtividade de grãos e, dessa forma, não se mostraram adequadas para avaliação da tolerância à seca no conjunto de híbridos testados.

A variável estande final apresentou média geral de 76195,55 plantas.ha⁻¹ e a porcentagem de plantas acamadas e quebradas foi considerada baixa, com média geral 1,17% (Tabela 6). Essas duas características mostraram-se, estatisticamente, invariantes entre os genótipos testados. Isso é desejável, pois, em unidades experimentais, a uniformidade do estande e a baixa ocorrência de plantas acamadas e quebradas são fatores que otimizam a análise e a interpretação dos resultados experimentais (Schmidt et al., 2001).

Para as combinações híbridas, as médias do florescimento feminino variaram entre 62,3 a 79 dias, as do florescimento masculino variaram de 59,7 a 69,3 dias, enquanto que as médias do intervalo entre florescimentos variaram de 0,7 a 15 dias. Já para as testemunhas, as médias do florescimento feminino variaram entre 66,3 a 70,7 dias, enquanto que as do florescimento masculino variaram de 65,7 a 70 dias. As médias do intervalo entre florescimentos variaram de 0,7 a 3,7 dias, exceto para AG7088 e DKB390 que apresentaram valores negativos de -2,0 e -2,7, respectivamente. Neste estudo, em condição de restrição hídrica no solo, essas duas testemunhas comerciais apresentaram protoginia, e, por isso, as médias apresentaram tais valores negativos.

Para a altura de plantas e para a altura de espigas, as médias inferiores e superiores dos híbridos F₁'s foram, respectivamente, 187,3 a 234,2 cm, e 86,8 a 123,4 cm. Para as testemunhas, a altura de planta e altura de espiga, as médias inferiores e superiores foram 211,7 a 240,6 cm, e 108,9 a 134,4 cm, respectivamente. Para o índice de espiga, que é uma relação entre o número de espigas e o número de plantas, a variação foi de 0,5 a 1,0. O índice de espigas é uma característica que apresenta alta correlação com a produtividade de grãos

em ambientes de estresse por seca (Bänziger et al. 2000) e, portanto, deve ser levada em consideração na seleção de cultivares mais tolerantes a este estresse ambiental. Para a variável produtividade de grãos, nesse ambiente com estresse por deficiência hídrica, as médias variaram de 1466 a 6806,3 kg ha⁻¹, considerando-se todos os genótipos (Tabela 7).

Para as variáveis produtividade de grãos e índice de espigas, verifica-se que as médias do grupo de testemunhas foram superiores àquelas do grupo dos cruzamentos dialélicos estudados neste trabalho (Tabela 7). Isso era esperado, pois as testemunhas são materiais comerciais, que passaram por processo de melhoramento e foram selecionados dentre milhares de híbridos que apresentaram elevado desempenho agrônômico em testes realizados em múltiplos ambientes. Durães et al. (2002) encontraram resultados semelhantes, avaliando a capacidade combinatória de seis linhagens de milho tropical. A média de rendimento de grãos dos genótipos em relação à testemunha foi superior à média dos F₁'s, nos dois sistemas de irrigação aplicados, com e sem estresse hídrico.

Dando ênfase à característica de maior interesse, o teste de Scott-Knott proporcionou a formação de sete grupos para a produtividade de grãos, cujas médias das combinações híbridas variaram de 1466 kg ha⁻¹ (L₇xL₈) a 6120,7 kg ha⁻¹ (L₃xL₅), evidenciando-se a grande variabilidade entre os híbridos dialélicos, quando submetidos à deficiência hídrica no solo.

Com relação à variável PG, verifica-se a ocorrência de 13 híbridos dialélicos nos grupos *b*, *c* e *d*, sendo estes agrupados com as outras seis testemunhas comerciais. Tal resultado demonstra o elevado potencial de alguns híbridos avaliados e a possibilidade de utilização de alguns dos melhores genitores para continuidade do programa de melhoramento para tolerância à seca em milho. Desse modo, destaca-se a superioridade dos híbridos L₃xL₅ (6120,7 kg ha⁻¹) e L₃xL₈ (5505,2 kg ha⁻¹), uma vez que, neste trabalho, estes genótipos apresentaram as maiores estimativas de médias apresentadas para produtividade de grãos. Em seguida, destacaram-se os híbridos L₁xL₂, L₂xL₆, L₁xL₆, L₂xL₇, L₁xL₅, L₄xL₅, L₂xL₅, L₃xL₆, L₂xL₈, L₅xL₈ e L₃xL₇, respectivamente.

Quanto às testemunhas, foram formados quatro grupos, cujo DKB390 e P30F35 apresentaram as maiores médias, 6806,3 e 6590,6 kg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 7). As testemunhas incluídas neste trabalho são híbridos

simples comerciais, de alto potencial produtivo e ampla adaptabilidade, selecionados em múltiplos ambientes, em diversos anos de avaliação. Galon et al. (2010) relatam que a melhoria da produtividade de uma cultura pode estar associada com a maior tolerância a diferentes estresses ambientais, como o hídrico, e, assim, resultar em aumento da estabilidade de produtividade vegetal.

Dentre os genótipos experimentais, os híbridos L₆xL₇ e L₇xL₈ apresentaram os piores desempenhos, com as médias menores de produtividade de grãos em condições de restrição hídrica no solo. Nesses cruzamentos híbridos citados, essa resposta pode ser explicada pelo envolvimento de genitores classificados como sensíveis à deficiência hídrica.

3.1.5.2. Análise dialélica de Griffing

a) Análise de variância para a capacidade de combinação

As estimativas dos quadrados médios das capacidades geral (CGC) e específica (CGE) de combinação e as médias dos quadrados dos efeitos da capacidade combinatória estão apresentadas na Tabela 8. Para todas as características avaliadas, exceto para intensidade de verde (IV), os quadrados médios da fonte de variação Genótipos, obtidos na análise de variância, mostraram-se significativos ($p < 0,01$ ou $p < 0,05$). As características IV, FF, IF, AP, AE e %AC+QB apresentaram significância, apenas, para CGC, indicando que as linhagens contribuem, diferentemente, para os cruzamentos em que estão envolvidas, prevalecendo o efeito aditivo.

Já as características FM, IE e PG mostraram significância para CGC e CEC, revelando variabilidade resultante dos efeitos aditivos e não-aditivos no controle da expressão gênica. Por outro lado, para a característica EST, foi observada significância, apenas, para CEC, indicando que seu controle genético é, predominantemente, relacionado aos efeitos gênicos não-aditivos (dominância e epistasia) (Tabela 8).

Tabela 8 - Resumo das análises dialélicas, com estimativas dos quadrados médios de capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, e a média dos quadrados dos efeitos, para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo completo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios ¹				
		IV	FF	FM	IF	AP
Genótipos	27	16,6831 ^{ns}	42,7751 ^{**}	16,5529 ^{**}	26,2072 ^{**}	465,7895 ^{**}
CGC	7	46,8951 [*]	141,071 ^{**}	56,2355 ^{**}	70,6784 ^{**}	1430,0119 ^{**}
CEC	20	6,1089 ^{ns}	8,3716 ^{ns}	2,6640 ^{**}	10,6423 ^{ns}	128,3117 ^{ns}
Erro	70	18,9228	6,1464	0,6684	6,6578	120,1830
Média dos quadrados dos efeitos						
CGC		1,5540	7,4958	3,0870	3,5567	72,7683
CEC		-4,2713	0,7417	0,6652	1,3282	2,7096

FV	GL	Quadrados Médios ¹				
		AE	%AC+QB	EST	IE	PG
Genótipos	27	222,417 ^{**}	0,8908 [*]	95999108,7083 [*]	0,0559 ^{**}	3309855,7696 ^{**}
CGC	7	476,3905 ^{**}	2,0415 ^{**}	78799466,8557 ^{ns}	0,1475 ^{**}	6088951,2227 ^{**}
CEC	20	133,5263 ^{ns}	0,4881 ^{ns}	102018983,3567 [*]	0,0238 ^{**}	2337172,3610 ^{**}
Erro	70	83,7742	0,5491	58520808,2473	0,0097	549688,4281
Média dos quadrados dos efeitos						
CGC		21,8120	0,0829	1126592,1449	0,0076	307736,8219
CEC		16,5840	-0,0203	14499391,7031	0,0047	595827,9776

^{**}, ^{*} = Significativo ao nível de 1 e 5%, respectivamente de probabilidade, pelo teste F; ^{ns}= Não significativo. ¹Intensidade de verde (IV); Florescimento feminino (FF); Florescimento masculino (FM); Intervalo entre florescimentos (IF); Altura de planta (AP); Altura de espiga (AE); Porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB); Estande final (EST); Índice de espiga (IE); Produtividade de grãos (PG).

Para as características IV, FF, FM, IF, AP, AE, %AC+QB e IE, houve maior magnitude dos efeitos dos componentes quadráticos associados à CGC do que aqueles associados à CEC, indicando o predomínio dos efeitos gênicos aditivos no controle da expressão destas características. Isso mostra que a seleção de linhagens com altas estimativas de CGC, para estas características estudadas, pode ser uma estratégia interessante para o desenvolvimento de novas populações a serem utilizadas para a obtenção de linhagens melhoradas.

Para o controle da expressão das características EST e PG, observou-se predominância dos efeitos não-aditivos, relativos à dominância e à epistasia. (Tabela 8), pois houve maior magnitude dos componentes quadráticos de CEC sobre os de CGC, o que está em consonância com os resultados obtidos por Paini et al. (1996) e Aguiar (2004). Ferreira et al. (2008), Souza et al. (2009) e Shiri et al. (2010) mostraram que, para a produtividade de grãos, os efeitos genéticos não-aditivos (CEC) foram mais importantes que os aditivos (CGC). Já, Alves (2006) verificou que, para os mesmos caracteres avaliados neste trabalho (FF, FM, AP, AE, AC+QB), a CGC foi mais importante que a CEC, excetuando-se para produção de grãos, em que a CEC e a CGC contribuíram de forma similar.

b) Estimativas dos efeitos da capacidade de combinação

Neste estudo, entre as oito linhagens de milho utilizadas como genitores, os maiores valores de CGC relativos à IV foram obtidos pelas L₃ (2,8183) e L₁ (1,5417), enquanto os menores valores foram obtidos para L₈ (-1,7933) e para L₅ (-1,5683) (Tabela 9).

Com relação à variável FF, os genitores L₁ e L₅ apresentaram os menores valores, enquanto que os maiores foram encontrados nas linhagens L₇ e L₈, o que indica maiores contribuições para o atraso da emissão dos estilo-estigmas. Tal atraso pode prejudicar a polinização e, como consequência, reduzir a produtividade de grãos. Já para o FM, os genitores L₁ e L₆ apresentaram os menores valores, enquanto que os maiores foram encontrados nas linhagens L₈ e L₂. Câmara et al. (2007), avaliando duas populações de milho tropical, verificaram que a seleção para menor FF e FM poderia proporcionar o aumento da tolerância ao estresse hídrico pelo aumento da prolificidade e redução no intervalo entre florescimentos.

Tabela 9 - Estimativas dos efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011.

Genitores	Características avaliadas ¹				
	IV	FF	FM	IF	AP
L ₁	1,5417	-5,1942	-3,7896	-1,4025	-2,8467
L ₂	-0,1783	-0,2492	1,3738	-1,6242	10,2083
L ₃	2,8183	-1,1392	0,4304	-1,5692	5,2083
L ₄	0,8217	-0,0258	1,2071	-1,2358	-10,6250
L ₅	-1,5683	-1,2525	-0,2913	-0,9592	7,9867
L ₆	-1,1267	1,1942	-1,1246	2,3175	-2,2950
L ₇	-0,5150	4,1408	0,7638	3,3758	-13,9567
L ₈	-1,7933	2,5258	1,4304	1,0975	6,3200
Genitores	%AC+QB	AE	EST	IE	PG
L ₁	0,0921	-0,0700	-144,6663	0,0088	-59,8613
L ₂	0,1338	7,1533	-144,6679	0,1021	574,9171
L ₃	-0,3463	4,9300	2941,7788	0,1171	728,6954
L ₄	0,0471	-0,6267	-916,3896	-0,0063	-243,8596
L ₅	0,6121	1,3183	-2652,3313	0,0488	545,4171
L ₆	-0,4746	-3,4017	2363,1104	-0,0496	-329,1963
L ₇	-0,1796	-9,7900	-2652,5013	-0,1546	-994,0829
L ₈	0,1154	0,4867	1205,6671	-0,0663	-222,0296

L₁ = L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3. ¹Intensidade de verde (IV); Florescimento feminino (FF); Florescimento masculino (FM); Intervalo entre florescimentos (IF); Altura de planta (AP); Altura de espiga (AE); Porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB); Estande final (EST); Índice de espiga (IE); Produtividade de grãos (PG).

Ao se analisar o IF, as linhagens L₂, L₃, L₁, L₄ e L₅ destacaram-se por apresentarem estimativas negativas de CGC, indicando capacidade de manter o ciclo pouco alterado pelo estresse, tendendo a serem mais produtivas e, portanto, mais tolerantes à seca. Nota-se que as linhagens L₇, L₆ e L₈ apresentaram elevados valores positivos de CGC e que, portanto, são indesejáveis em programa de melhoramento, visando tolerância à seca, por apresentarem menor sincronia no florescimento.

Em milho, o estresse hídrico causa o retardamento no FF e, conseqüentemente, aumenta o comprimento do intervalo entre florescimentos masculino e feminino. Trabalhos vêm demonstrando que o IF é considerado um parâmetro eficiente para a seleção de genótipos com tolerância à seca. Portanto, essa variável é uma ferramenta potencial a ser utilizada em programas de melhoramento genético que têm como objetivo aumentar a estabilidade na produção sobre condições de déficit hídrico (Durães et al., 1998; Durães et al. 2002; Gomes et al., 2011).

Avaliando-se as características AP e AE em conjunto, nota-se que a linhagem L₇ revelou a maior contribuição para a redução do porte das plantas. Em seguida, foram as linhagens L₄, L₆ e L₁ devido aos menores valores encontrados, tornando-as de interesse para regiões onde são comuns ventos fortes.

Para a característica %AC+Q, as linhagens L₆, L₃, e L₇ são valorosas, uma vez que expressaram estimativas negativas de \hat{g}_i para essa característica. Esse fato indica tendência em contribuir para redução de plantas acamadas e quebradas. Quanto à característica EST, destacam-se as linhagens L₃, L₆ e L₈ por apresentarem os maiores valores positivos de \hat{g}_i , contribuindo, dessa forma, para uma maior uniformidade nas unidades experimentais.

Considerando-se em conjunto as características IE e PG, sob condições de estresse hídrico no solo, sobressaíram-se as linhagens L₃ e L₂ por apresentarem os maiores valores positivos de \hat{g}_i . Trata-se de linhagens que mais contribuíram para o aumento dessas características, portanto de interesse em programas de melhoramento genético que visam ao aumento do rendimento de grãos em condições de estresse por seca, o que pode selecionar, também, para a maior viabilidade de espigas por área. Silva et al. (2011) comentam que os materiais

selecionados em condições otimizadas de cultivos são diferentes daqueles selecionados em condições de deficiência hídrica. Para os autores, a seleção de genótipos deve ser realizada em ambientes específicos. Sendo assim, a maior viabilidade de espigas é uma característica interessante em cultivares a serem recomendados para regiões sujeitas à seca.

As estimativas dos efeitos de capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) referente aos 28 híbridos simples resultantes dos cruzamentos dialélicos entre as oito linhagens genitoras, encontram-se na Tabela 10. O efeito da CEC é interpretado como desvio de um híbrido em relação ao que seria esperado com base na CGC de seus genitores, e esta associada aos efeitos gênicos não-aditivos, tais como efeitos de dominância e epistasia. Portanto, interessam ao melhorista as combinações híbridas com estimativas de CEC mais favoráveis, e que envolvam, pelo menos, um dos genitores que apresente uma elevada CGC para o caráter (Cruz et al., 2004).

Segundo Cruz et al. (2004), quanto maior a magnitude dos valores da CEC, melhor é a combinação híbrida, pois indica desvios de dominância favoráveis. Ainda, deve-se observar o sinal da estimativa de \hat{s}_{ij} , pois, para algumas características, interessa o aumento do valor do caráter, como, por exemplo, a produtividade de grãos. Contudo, para outras variáveis, o interesse está na redução do valor, como exemplo, a porcentagem de plantas acamadas e quebradas.

Neste trabalho, para a variável IV, os maiores valores de CEC foram obtidos nos cruzamentos entre as linhagens L₂xL₆ e L₁xL₈ (Tabela 8), pois apresentaram valores de \hat{s}_{ij} positivos e elevados.

Analisando em conjunto FF e FM, destacam-se os cruzamentos L₁xL₂, L₁xL₄, L₁xL₅, L₂xL₆, L₂xL₇, L₃xL₆, L₃xL₇, L₅xL₈, L₆xL₈ pelos valores negativos de \hat{s}_{ij} , o que indica aptidão para diminuir o ciclo de florescimento. Para a variável IF, destacam-se as combinações híbridas L₁xL₆, L₄xL₇, L₃xL₈, L₂xL₈, L₁xL₇, L₃xL₇, L₅xL₆, L₁xL₄, L₂xL₇, L₃xL₆, L₅xL₈, L₆xL₈, L₂xL₆, por apresentarem valores negativos de \hat{s}_{ij} , o que permite boa sincronização entre florescimentos masculino e feminino.

Tabela 10 - Estimativas dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) para as dez características avaliadas em 28 híbridos de milho, obtidos em dialelo completo de meia-tabela entre oito genitores. Janaúba-MG, 2011.

Híbridos	IV	FF	FM	IF	AP
L ₁ xL ₂	-2,2762	-0,0088	-0,6910	0,6817	-5,2788
L ₁ xL ₃	0,3871	1,8812	-0,0777	1,9566	-3,6088
L ₁ xL ₄	0,0538	-1,5621	-0,5243	-1,0367	5,5545
L ₁ xL ₅	1,1138	-0,6754	-1,3560	0,6866	1,9429
L ₁ xL ₆	-0,6679	-1,1221	1,8074	-2,9300	0,5545
L ₁ xL ₇	-0,6095	-0,7288	0,9190	-1,6484	0,5562
L ₁ xL ₈	1,9988	2,2162	-0,0777	2,2900	0,2795
L ₂ xL ₃	0,4471	0,9362	-0,5810	1,5183	-6,6638
L ₂ xL ₄	-1,5562	0,8229	0,3124	0,5150	2,4995
L ₂ xL ₅	-1,1662	1,0495	0,8107	0,2383	2,2178
L ₂ xL ₆	2,7221	-0,7271	-0,3560	-0,3684	-2,5005
L ₂ xL ₇	1,4404	-1,6738	-0,9143	-0,7667	12,5012
L ₂ xL ₈	0,3888	-0,3988	1,4190	-1,8183	-2,7755
L ₃ xL ₄	-0,5529	1,3829	1,2557	0,1300	-10,8305
L ₃ xL ₅	-0,5029	0,2696	-0,2460	0,5133	3,8879
L ₃ xL ₆	-0,9446	-1,1771	-0,4126	-0,7634	12,4995
L ₃ xL ₇	0,4438	-1,7838	-0,3010	-1,4817	5,8312
L ₃ xL ₈	0,7221	-1,5088	0,3623	-1,8733	-1,1155
L ₄ xL ₅	0,8338	0,1562	-0,0226	0,1800	1,3912
L ₄ xL ₆	0,7221	0,0496	-0,8593	0,9033	3,3328
L ₄ xL ₇	-0,8895	-1,8971	0,2523	-2,1550	-1,6655
L ₄ xL ₈	1,3888	1,0479	-0,4143	1,4633	-0,2822
L ₅ xL ₆	-0,5579	-0,0638	1,3090	-1,3734	-8,6088
L ₅ xL ₇	1,5005	0,6595	0,4207	0,2383	-5,2772
L ₅ xL ₈	-1,2212	-1,3954	-0,9160	-0,4833	4,4462
L ₆ xL ₇	0,0588	4,2129	-0,7460	4,9617	-8,3355
L ₆ xL ₈	-1,3329	-1,1721	-0,7427	-0,4300	3,0579
L ₇ xL ₈	-1,9446	1,2112	0,3690	0,8516	-3,6105

L₁ = L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3. ¹Intensidade de verde (IV); Florescimento feminino (FF); Florescimento masculino (FM); Intervalo entre florescimentos (IF); Altura de planta (AP).

Tabela 10, Cont.

Híbridos	AE	%AC+QB	EST	IE	PG
L ₁ xL ₂	0,2338	-0,1626	3802,9088	-0,0333	173,2088
L ₁ xL ₃	-7,5429	-0,2326	716,4621	0,0117	-549,5695
L ₁ xL ₄	-5,3162	-0,1160	-1212,7096	0,0750	231,9855
L ₁ xL ₅	2,7388	0,1290	-1791,0979	0,0000	-139,2912
L ₁ xL ₆	9,1288	-0,1043	2452,4605	0,1383	734,9822
L ₁ xL ₇	5,5171	0,1507	-4105,9279	-0,0467	200,8688
L ₁ xL ₈	-4,7596	0,3357	137,9038	-0,1450	-652,1845
L ₂ xL ₃	-6,4262	-0,2743	-440,8762	-0,1417	-1464,3478
L ₂ xL ₄	-0,8696	0,3124	6889,2921	0,0017	-294,4629
L ₂ xL ₅	-1,1546	0,8874	1680,9038	-0,0633	-574,0695
L ₂ xL ₆	-3,0946	-0,1460	-2176,8679	0,0650	470,8738
L ₂ xL ₇	8,2938	-0,4410	2838,4038	0,1100	1107,7605
L ₂ xL ₈	3,0171	-0,1760	-12593,7646	0,0617	581,0372
L ₃ xL ₄	-6,9862	0,3924	-4298,8146	-0,0433	-1386,5712
L ₃ xL ₅	-0,5912	-0,7526	-2562,8729	-0,0383	1150,1522
L ₃ xL ₆	9,1288	0,3340	2838,3454	0,0300	309,0955
L ₃ xL ₇	8,8471	0,0390	4381,6271	0,0850	537,9821
L ₃ xL ₈	3,5705	0,4940	-633,8712	0,0967	1403,2588
L ₄ xL ₅	8,2955	-0,5660	-4491,7046	0,0750	527,7072
L ₄ xL ₆	3,0155	-0,0593	-1405,4862	-0,1467	3,9805
L ₄ xL ₇	-0,5962	0,1557	1295,1254	0,0183	761,2072
L ₄ xL ₈	2,4571	-0,1193	3224,2971	0,0200	156,1538
L ₅ xL ₆	-5,5996	-0,0643	-7771,2046	0,0283	-657,2962
L ₅ xL ₇	-5,8712	0,3507	6503,4071	-0,0067	-339,7395
L ₅ xL ₈	2,1821	0,0157	8432,5688	0,0050	32,5372
L ₆ xL ₇	-11,1512	0,1674	-3141,3746	-0,1183	-804,4562
L ₆ xL ₈	-1,4279	-0,1276	9204,1271	0,0033	-57,1795
L ₇ xL ₈	-5,0396	-0,4226	-7771,2612	-0,0417	-1463,6228

L₁= L5184180-04, L₂ = L176-11-2-1, L₃ = L531164, L₄ = L3, L₅ = L98-C-2-46, L₆ = L26, L₇ = L20, L₈ = L228-3. ¹Altura de espiga (AE); Porcentagem de plantas acamadas e quebradas (%AC+QB); Estande final (EST); Índice de espiga (IE); Produtividade de grãos (PG).

Para a característica AP, destacam-se as combinações híbridas L₁xL₂, L₁xL₃, L₂xL₃, L₂xL₆, L₂xL₈, L₃xL₄, L₃xL₈, L₄xL₇, L₄xL₈, L₅xL₆, L₅xL₇, L₆xL₇, L₇xL₈, por apresentarem valores negativos de \hat{s}_{ij} . Já para AE, destacaram-se L₁xL₃, L₁xL₄, L₁xL₈, L₂xL₃, L₂xL₄, L₂xL₅, L₂xL₆, L₃xL₄, L₃xL₅, L₄xL₇, L₅xL₆, L₅xL₇, L₆xL₇, L₆xL₈, L₇xL₈. Os demais híbridos simples apresentaram CEC positivas. Para tais características, principalmente em locais onde ocorrem ventos fortes, são desejáveis que as estimativas da capacidade específica de combinação sejam negativas para redução no porte de plantas. Porém, quando se visa à utilização da cultura do milho como silagem, como exemplo, a produção de forragem para a criação de bovino, é indicada, nesse caso, os híbridos que contribuem para maior altura, que, possivelmente, apresentarão maior matéria seca (Restle et al., 2002) (Tabela 10).

A análise da característica %AC+QB revela que os híbridos L₃xL₅, L₄xL₅, L₇xL₈ apresentaram os maiores valores negativos de CEC (\hat{s}_{ij}), evidenciando uma maior contribuição para a redução de ocorrência de acamamento e quebramento de plantas.

Para EST, as combinações híbridas mais favoráveis foram: L₁xL₂, L₁xL₃, L₁xL₆, L₁xL₈, L₂xL₄, L₂xL₅, L₂xL₇, L₃xL₆, L₃xL₇, L₄xL₇, L₄xL₈, L₅xL₇, L₅xL₈, L₆xL₈, pois essas combinações apresentaram os valores de CGC positivos. Os demais híbridos simples apresentaram CEC negativos.

Na Tabela 10, ao se analisar os resultados, verifica-se que os maiores valores positivos de CEC, para a variável IE, foram observados nos híbridos L₁xL₆ e L₂xL₇, indicando heterose favorável para aumento da viabilidade de espigas. Esse fato mostra um resultado importante para cultivo de milho sob estresse por deficiência hídrica.

Para a variável produtividade de grãos, os resultados de CEC mostraram que os híbridos L₂xL₇, L₃xL₅ e L₃xL₈ destacaram-se pelos melhores desempenhos apresentados em condições de deficiência hídrica no solo, com maiores valores positivos (1107,7605, 1150,1522 e 1403,2588, respectivamente) (Tabela 10). Com relação à média geral de produtividade de grãos dos híbridos dialélicos (3749,2 kg.ha⁻¹), os valores de CEC desses três híbridos representam de 30 a 37%, o que indica alta heterose nesses cruzamentos específicos. Observa-se, ainda, que esses híbridos são derivados de cruzamentos que envolvem as

linhagens L₂ e L₃, as quais foram consideradas os melhores genitores, pois apresentaram as maiores estimativas positivas para CGC (Tabela 9). Segundo Cruz e Regazzi (2004), a combinação híbrida mais favorável é a que apresenta maior capacidade específica de combinação e que seja resultante de um cruzamento que envolva um dos parentais com alta capacidade geral de combinação.

As combinações híbridas L₃xL₅ e L₃xL₈ apresentaram maiores médias de produtividade e índice de espigas, baixos valores de acamamento e quebramento, médias altas para as variáveis estande e intensidade de verde, e boa coincidência entre florescimentos masculino e feminino, contudo apresentaram porte alto. Portanto, esses híbridos apresentam-se como materiais promissores devido à tolerância à seca. Entretanto, é necessária a realização de avaliações em maior número de ambientes, com e sem estresse por deficiência hídrica, e caracterizações mais detalhadas, como para reação às principais doenças, para que haja uma melhor definição do potencial comercial desses híbridos.

3.1.6. CONCLUSÕES

- 1- Proporcionalmente, para as características IV, FF, FM, IF, AP, AE, %AC+QB e IE, os efeitos aditivos foram mais importantes do que os não-aditivos.
- 2- Sob condição de seca, evidenciou-se a importância da heterose no controle da produtividade de grãos, em milho.
- 3- As linhagens L176-11-2-1 (L₂) e L531164 (L₃) mostraram-se superiores para formação de híbridos com maior tolerância ao estresse hídrico.
- 4- As combinações híbridas L₃xL₅ e L₃xL₈ apresentaram maiores médias de produtividade de grãos e índice de espigas, sendo, portanto, materiais promissores devido à tolerância a estresse hídrico.

3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, C.G.; Scapim, C.A.; Pinto, R.J.B.; Amaral Junior, A.T.; Silvério, L.; Andrade, C.A. de B. (2004) Análise dialélica de linhagens de milho na safrinha. *Ciência Rural*, Santa Maria, 34(6): 1731-1737.
- Alberte, R.S.; Thornber, J.P. (1977) Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiology*, 59: 351-353.
- Alves, G.F. (2006) *Relações entre seleção de testadores de milho e suas divergências genéticas*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/ USP, 145p.
- Bänziger, M.; Mugo, S.; Edmeades, G.O. (2000) Breeding for drought tolerance in tropical maize - conventional approaches and challenges to molecular approaches, p.69-72 In: Ribaut, J.-M. and Poland, D. (eds.), *Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments. A Strategic Planning Workshop held at CIMMYT, El Batan, Mexico, 21-25 June 1999*. Mexico D.F.: CIMMYT.
- Barnabás, B.; KATALIN Jäger, K.; Fehér, A. (2008) The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell and Environment*, 31: 11–38.
- Bordallo, P.N., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T. do, Gabriel, A.P.C. (2005) Análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 23(1)123-127.
- Câmara, T.M.M.; Bento, D.A.V.; Alves, G.F.; Santos, M.F.; Moreira, J.U.V.; Júnior, C.L. de S. (2007) Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. *Bragantia*, Campinas, 66(4): 595-603.

- Chaves, M. e Davies, B. (2010) Drought effects and water use efficiency: improving crop production in dry environments. *Functional Plant Biology*, 37, iii–vi.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. v.1, 3. ed. Viçosa: UFV, 480p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 390p.
- Cruz, C.D. (2007) Programa GENES. *Aplicativo computacional em genética e estatística*. Viçosa:UFV. Versão 2007.
- Cruz, C.D. (2006) Programa Genes: Biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p.
- Durães, F.O.M.; Magalhães, P.C.; Santos, M.X.; Lopes, M.A.; Paiva, E. (1998) Intervalo entre florescimentos masculino e feminino como parâmetro fenotípico útil ao melhoramento de milho tropical para tolerância à seca. pp. 27. *In: Resumos do Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 22*, Recife: IPA.
- Durães, F.O.M.; Magalhães, P.C.; Oliveira, A.C. de; Santos, M.X. dos; Gomes, E.E.; Guimarães, C.T. (2002) Combining ability of tropical maize inbred lines under drought stress conditions. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(2): 291-298.
- Ferreira, E.A.; Guimarães, P.S.; Silva, R.M.; Paterniani, M.E.A.G.Z. (2008) Capacidade combinatória de linhagens de milho de germoplasma tropical e temperado e heterose dos híbridos simples. *Revista Biociência*, Unitau, 1(14): 32-40.
- Galon, L.; Tironi, S.P.; Rocha, A.A. da; Soares, E.R.; Concenço, G.; Alberto, C.M. (2010) Influência dos fatores abióticos na produtividade da cultura do milho. *Revista Tropical – Ciências Agrárias e Biológicas*. 4(3): 18-38.

- Gholamin, R.; Khayatnezhad, M. (2011) The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars. *Scientific Research and Essays*, v.6(25): 5351-5357.
- Gomes, P.H.F.; Mendes, F.F.; Parentoni, S.N.; Guimarães, L.J.;M.; Guimarães, P.E.O.; Oliveira, K.G.; Reis, D.P.; Tavares, R.B. (2011) Caracterização de Híbridos de Milho quanto à Tolerância ao Estresse Hídrico. In: *6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*. Búzios. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas.
- Griffing, B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Australian Journal Biology Science*, East Melbourn, 9:462-493.
- Hallauer, A.R., Miranda Filho, J.B. (1988) *Quantitative genetics in maize Breeding*. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 468p.
- Hendry, G.A.F., Price, H. (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (eds.). *Methods in comparative plant ecology*. London: Chapman & Hall, 148-152.
- Jallel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Al-Juburi, H.J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology*. 11(1): 100-105.
- Paini, J.N.; Cruz, C.D.; Delboni, J.S.; Scapim, C.A. (1996) Capacidade combinatória e heterose em cruzamentos intervarietais de milho avaliados sob condições climáticas da região sul do Brasil. *Revista Ceres*. 43(247): 288-300.
- Pimentel-Gomes, F.; Garcia, C.H. (1991) Experimentos em látice: planejamento e análise por meio de “pacotes” estatísticos. *Série Técnica IPEF*, Piracicaba, 7(23): 1-69.

- Ramalho, M.P.A., Santos, J.B. dos, Zimmermann, M.J.O. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao feijoeiro*. Goiânia: UFG, 271p.
- Reis, D.P. dos; Soares, F.R.; Oliveira, K.G. de; Mendes, F.F.; Guimarães, L.J.M.; Guimarães, P.E.O.; Parentoni, S.N.; Gomes, P.H.F.; Tavares, R.B. (2011) Correlações entre características de milho sob estresse hídrico. In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Búzios. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas.
- Restle, J.; Neumann, M.; Brondani, I.L.; Pascoal, L.L.; Silva, J.H.S.; Pellegrini, L.G.; Souza, A.N.M. (2002) Manipulação da Altura de Corte da Planta de Milho (*Zea mays*, L.) para Ensilagem Visando a Produção do Novilho Superprecoce. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(3): 1235-1244.
- Scapim, C.A. et al. (1995) Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 30(5): 683-685.
- Schimildt, E.R.; Cruz, C.D.; Zanuncio, J.C.; Pereira, P.R.G.; Ferrão, R.G. (2001) Avaliação de métodos de correção do estande para estimar a produtividade em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 36(8): 1011-1018.
- Scott, A.J.; Knott, M.A. (1974) A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Raleigh, 30(3): 507-512.
- Shiri, M.; Aliyev, R.T.; Choukan, R. (2010) Water stress effects on combining ability and gene action of yield and genetic properties of drought tolerance indices in maize. *Research Journal of Environmental Sciences*, 4(1): 75-84.
- Silva, H.D.; Ferreira, D.F.; Pacheco, A.P.P.(2000) Avaliação de quatro alternativas de análise de experimentos em látice quadrado quanto à estimação de componentes de variância. *Bragantia*, Campinas, 59(1): 117-123.

- Silva, M.A.; Santos, C.M. dos; Labate, C.A.; Guidetti-Gonzalez, S.; Borges, C.A.; Ferreira, L.C.; DeLima, R.O.; Fritsche-Neto, R. (2011) Melhoria para eficiência no uso da água. *In: Fritsche-Neto e Borém (eds) Melhoria de plantas para condições de estresses abióticos*. 2.ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p.127-150.
- Souza, L.V. de; Miranda, G.V.; Galvão, J.C.C.; Guimarães, L.J.M.; Santos, I.C. dos (2009) Combining ability of maize grain yield under different levels of environmental stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 44(10): 1297-1303.
- Sprague, G.F.; Tatum, L.A. (1942) General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Journal of American Society of Agronomy*, Madison, v.34, n.10, p.923-932.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*, Fifth edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. (In press), 690p.
- Vencosvsky, R. (1987) Herança quantitativa. *In: Paterniani, E.; Viegas, G.P. (Eds.). Melhoria e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, p.135-214.

3.2. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DA PARTE AÉREA E DO SISTEMA RADICULAR DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA

3.2.1. RESUMO

A deficiência hídrica é uma das maiores limitações da produção mundial de alimentos, e o entendimento de mecanismos morfofisiológicos de plantas apresenta-se como uma ferramenta a auxiliar os programas de melhoramento genético na obtenção de genótipos eficientes e/ou tolerantes à deficiência hídrica. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a parte aérea e a morfologia radicular de linhagens de milho contrastantes submetidas à deficiência hídrica no solo. Foram avaliadas, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, seis linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, sendo duas linhagens tolerantes L176-11-2-1, L5184180-04, uma intermediária L3, e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico L98-C-2-46, L26, L228-3. O delineamento utilizado foram blocos casualizados, em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade hídrica, com três repetições. Os tratamentos foram: sem estresse hídrico, em que a reposição diária de água foi realizada até o solo atingir a umidade na capacidade de campo, ou seja, 100% de reposição, e com estresse hídrico, onde a reposição hídrica foi realizada, diariamente, aplicando-se 50% da água total disponível, sendo imposto esse estresse no estágio vegetativo V₄ e mantido por dez dias. As plantas foram

coletadas e avaliadas aos 39 dias após a semeadura, e determinada a morfologia radicular com o auxílio de um analisador de imagens digitais WinRhizo. Foi verificada variabilidade genética entre as linhagens de milho para discriminação de plantas com base nas características de morfologia de raiz. As características comprimento total de raiz e relação massa seca de raiz e parte aérea foram as que melhor diferenciaram as linhagens tolerantes das sensíveis ao estresse hídrico. A técnica de análise de imagens digitais mostrou-se uma ferramenta promissora para estudos de raízes em fase precoce do milho. Contudo, em programas de melhoramento genético, necessita-se de mais estudos para melhor entender os mecanismos de adaptação do milho sob baixa disponibilidade hídrica no solo.

3.2.2. ABSTRACT

Water deficit is one of the major limitations of global food production, and the understanding of morphophysiological mechanisms of plants is presented as a tool to aid breeding programs to obtain genotypes efficient and/or tolerant to water deficit. Thus, the aim of this study was to evaluate shoot and root morphology of inbred lines contrasting to drought submitted to soil water deficit. This study was carried out in a greenhouse at The Embrapa National Maize and Sorghum Research Center, Sete Lagoas, MG. It was used six maize inbred lines contrasting to drought tolerance, being two tolerant lines (L176-11-2-1, L5184180-04), one intermediate (L3), and three lines sensitive to water deficit (L98-2-C-46, L26, L228-3). The experimental design was randomized blocks in factorial scheme 6x2, with six genotypes and two levels of water availability, and three replications. The treatments were: without water stress, where the daily replacement of water was performed until soil moisture reaches field capacity, in other words, 100% replacement, and with water stress, in which water replacement was performed daily by applying 50% of the total water available. This stress was imposed at the growth stage V₄, and maintained for ten days. The plants were collected and evaluated 39 days after sowing, by evaluating root morphology using the digital image analyzer software *WinRhizo*. Genetic variability was observed among maize

lines for discrimination based on root morphology characteristics. Total root length and root dry weight /shoot dry weight ratio characteristics were the best to differentiate the drought tolerant lines when compared to the sensitive ones. The technique of digital image analysis proved to be a promising tool for studies of roots at early growth stages of maize. However, in breeding programs there is need for further studies to better understand the mechanisms of maize adaptation under low soil water availability.

3.2.3. INTRODUÇÃO

A deficiência hídrica, associada a altas temperaturas do solo e do ar e altas irradiâncias, é um dos fatores do ambiente mais limitante para produtividade das culturas agrícolas, incluindo o milho (Rahman et al., 2004; Barnabás et al. 2008). Esse tipo de estresse pode afetar a eficiência do processo fotossintético, tanto de forma direta, por meio da desidratação do citoplasma (efeito não-estomático), como indiretamente, devido ao fechamento estomático (efeito estomático). As plantas, sob limitação hídrica, precocemente, reduzem a condutância estomática, e essa redução afeta o processo de transpiração, elevando a temperatura foliar e, conseqüentemente, reduzindo a assimilação fotossintética do carbono (Chaves et al., 2002, 2003; Hura et al., 2007).

Quando expostas a baixa disponibilidade hídrica no solo, diversas espécies vegetais desenvolvem mecanismos de adaptação ao ambiente, culminando em uma série de respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas (Bray, 1997; Pereira et al. 2003; Medici et al., 2007; Jaleel et al., 2009), e o crescimento radicular é um desses mecanismos que as plantas desenvolveram a fim de garantir a sobrevivência e reprodução.

O estudo do sistema radicular é de grande importância, pois as raízes estão diretamente relacionadas com a absorção de água e nutrientes para as plantas e, conseqüentemente, com a produção das culturas. Sob déficit hídrico, o sistema radicular sintetiza o ácido abscísico, o qual é transportado no xilema para a parte aérea. Nas folhas, esse fitorhormônio causa o fechamento estomático e

reduz a transpiração e expansão foliar, evitando, assim, a desidratação da planta (Davies e Zhang, 1991; Neill et al., 2008).

Diante do exposto, o estresse hídrico é um dos fatores ambientais mais limitante para produção de alimentos do mundo (Rahman et al., 2004; Barnabás et al. 2008). Dessa forma, o desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca e/ou eficientes no uso da água é uma estratégia importante no melhoramento de plantas. Para tanto, o entendimento de mecanismos morfofisiológicos das plantas apresenta-se como uma ferramenta para auxiliar os programas de melhoramento genético vegetal. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características da parte aérea e a morfologia do sistema radicular de linhagens de milho contrastantes submetidas a dois níveis de disponibilidade hídrica no solo; e, com base nestes dados, caracterizar os genótipos em condição de baixa disponibilidade hídrica no solo, com a finalidade de entender os possíveis mecanismos fisiológicos associados à tolerância à seca.

3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.4.1. Condições experimentais

Foram avaliadas seis linhagens endogâmicas de milho contrastantes em relação à tolerância ao estresse hídrico, sendo duas linhagens tolerantes (L176-11-2-1, L5184180-04), uma intermediária (L3), e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico (L98-C-2-46, L26, L228-3). Essas linhagens foram pré-classificadas quanto à tolerância à seca com base na produtividade de grãos, sendo pertencentes ao Programa de Melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo.

O experimento foi realizado em casa de vegetação, entre março e abril de 2011, na Embrapa Milho e Sorgo, situada no município de Sete Lagoas, MG, localizado a 19°28'S, 44°15'08"W e 732m de altitude. Nesse local, segundo Köopen, o clima é classificado como Aw (clima de savana com inverno seco).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade hídrica, com três repetições. Manualmente, foram semeadas quatro sementes por

vaso de 10 litros a uma profundidade média de quatro centímetros, e, após sete dias, foi feito o desbaste, deixando duas plantas por vaso.

O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho Distrófico Típico (Embrapa, 1999), e, como adubação de plantio, as plantas receberam 35g da fórmula 8-28-16 como fonte de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, mais 0,3% de Zn. Foram realizadas duas adubações de cobertura, com aplicação de 2g vaso⁻¹ de sulfato de amônio. Para o controle de lagartas *S. frugiperda*, foi aplicado o inseticida Lorsban 480 BR (clorpirifós).

O teor de água no solo foi monitorado, diariamente, em dois períodos, manhã e tarde (9 e 15h, respectivamente), por meio de um sensor de umidade watermark™ (Spectrum Technologies, USA) instalado no centro dos vasos a uma profundidade de 20 cm. A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor e a água repostada até a capacidade de campo. Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita de acordo com a curva de retenção de água do solo.

Os tratamentos foram considerados sem estresse hídrico (IRN), em que a reposição diária de água foi realizada até o solo atingir a umidade na capacidade de campo, ou seja, 100% de reposição, e o tratamento com estresse hídrico (ESTR), que foi feito com a reposição hídrica realizada diariamente, aplicando-se 50% da água total disponível. Ou seja, no tratamento com estresse hídrico, a reposição de água era feita até o potencial da água no solo atingir, aproximadamente, -70 kPa, cujo valor corresponde ao solo especificado. Esse estresse foi imposto no estágio vegetativo V₄ e mantido por dez dias. A colheita e todas as avaliações foram realizadas no estágio V₆.

Foram monitoradas a radiação fotossinteticamente ativa, a temperatura do ar, a umidade relativa e o déficit de pressão de vapor por meio de uma mini-estação climatológica modelo Watch Dog 2475 (Spectrum Technologies, USA) instalada dentro da casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo (Figura 1).

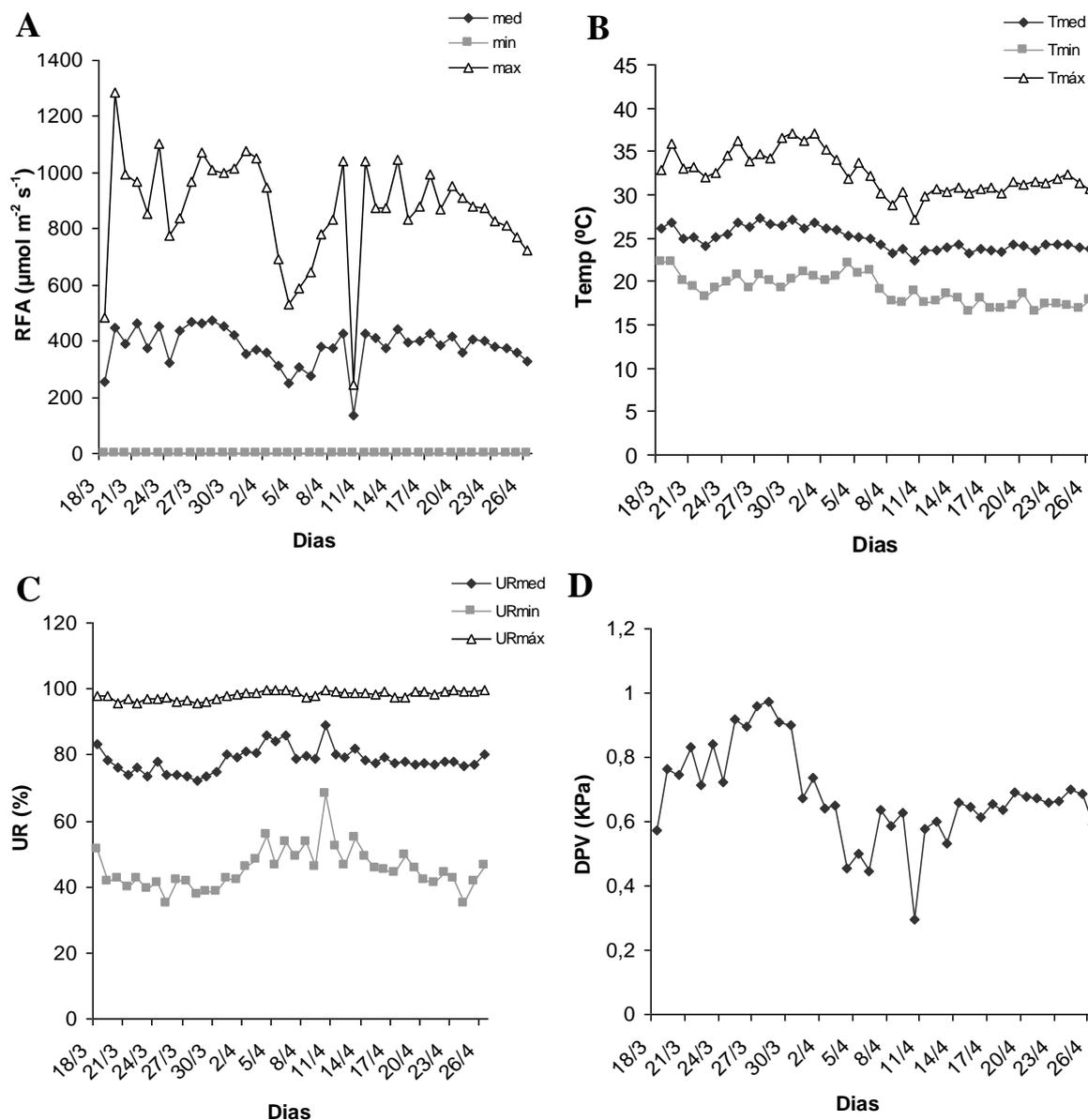


Figura 1 – (A) Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Umidade relativa (URmed) e (D) Déficit de Pressão de Vapor (DPV) no período de condução do experimento, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas-MG.

3.2.4.2. Avaliação de características da parte aérea e do sistema radicular

A intensidade de verde foi estimada por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Minolta, Japão), usando a média das duas plantas por vaso. Em cada folha, foram realizadas cinco leituras por genótipo,

selecionando-se, somente, o terço médio do limbo a 2 cm da margem da folha, excluindo-se a nervura central da folha madura.

Posteriormente, as plantas inteiras foram coletadas, retirando-se blocos de solo, com auxílio de uma espátula de metal, e separadas em sistema radicular e parte aérea na altura do coleto. As amostras com a parte aérea foram colocadas em sacos de papel devidamente identificados e transportadas para o Núcleo de Estresse Abiótico e relação solo-água-plantas do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

A determinação da área foliar fotossinteticamente ativa foi realizada por meio do medidor do tipo esteira modelo LI-3100 (Licor, Lincoln, NE, USA). Posteriormente, a parte aérea (folhas e colmos) foi armazenada em sacos de papel e transportada para uma estufa de circulação forçada de ar a 72°C até atingir massa constante. Após a secagem, o material vegetal foi pesado para determinação de sua matéria seca (MSPA). Já as raízes foram lavadas com água corrente, utilizando-se um conjunto de peneiras de 20 e 60 Mesh até que ficassem livres de partículas do solo. Em seguida, foram armazenadas em frascos contendo solução de etanol 70% até o dia da avaliação da morfologia, para evitar desidratação das raízes. No dia das avaliações, essas foram retiradas do álcool e colocadas em uma bandeja contendo água destilada.

Para a análise da morfologia do sistema radicular, foi utilizado o sistema *WinRHIZO Pro 2007a* (Régent Instr. Inc.), acoplado a um *scanner* profissional *Epson XL 10000* equipado com uma unidade de luz adicional (TPU). Foi utilizada uma definição de 400 (dpi) para as medidas de morfologia de raiz, como descrito por Bauhus e Christian (1999), Bouma et al. (2000) e Costa et al. (2002).

As raízes foram dispostas em uma cuba de acrílico de 30 cm de largura por 40 cm de comprimento, contendo, aproximadamente, 1 cm de água (Figura 2A). A utilização desse acessório permitiu a obtenção de imagens em três dimensões, evitando-se, também, a sobreposição das raízes; as leituras foram realizadas em duas plantas por vaso para cada repetição. Posteriormente, para análise estatística dos dados, foi feita a média (Figura 2B).

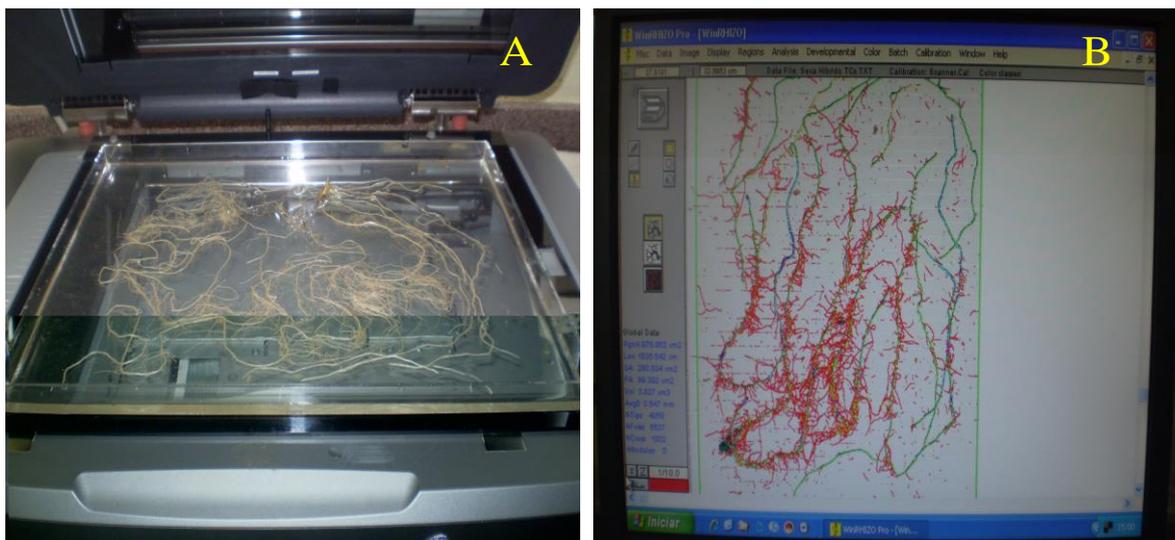


Figura 2 – (A) *Scanner* profissional Epson XL 10000, com a cuba de acrílico contendo as raízes de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico; (B) Imagem tridimensional da morfologia de raízes de milho, utilizando-se o Programa do WinRhizo.

As análises abaixo relacionadas foram realizadas imediatamente após a obtenção das imagens e armazenadas como arquivos TIFF, para posterior acesso por meio da planilha Excel *XLRhizo* integrada ao sistema. Foram determinados o comprimento total de raiz (CTR, em cm), a área de superfície de raiz (ASR, em cm²), o diâmetro médio de raiz (DMR, em mm), o volume total de raiz (VTR, em cm³), e o comprimento e área de superfície de raiz por classe de diâmetro (em mm). As raízes foram classificadas segundo três classes de diâmetro baseada no critério de classificação de raízes proposto por Bhom (1979) a seguir: raízes muito finas ($\varnothing < 0,5$ mm), raízes finas ($0,5 < \varnothing < 2$ mm), raízes grossas ($\varnothing > 2$ mm).

Após a determinação das características morfológicas de raiz, o material foi armazenado em sacos de papel e transportado para uma estufa de circulação forçada de ar, a 72°C, até que fosse atingida massa constante. Após a secagem, o material vegetal foi pesado para determinação da massa seca de raiz (MSR, em g planta⁻¹); massa seca total (MST, em g planta⁻¹); relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA).

3.2.4.3. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e, para comparações entre as médias dos tratamentos, foi utilizado o teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise estatística dos resultados, foram utilizados os recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2006).

Encontra-se, na Tabela 1, o esquema da análise de variância e as esperanças dos quadrados médios para as características avaliadas. O modelo matemático considera como fixos todos os efeitos, exceto o bloco e o erro experimental:

$$Y_{ijk} = m + B_k + G_i + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} : observação no k-ésimo bloco, avaliado no i-ésimo genótipo e j-ésimo ambiente;

m : média geral do ensaio;

B_k : efeito do bloco k, com $k = 1, 2$ e 3 ;

G_i : efeito do genótipo i, com $i = 1, 2, \dots, 6$;

A_j : efeito do ambiente j, com $j = 1$ e 2 ;

GA_{ij} : efeito da interação entre o genótipo i e o ambiente j;

ε_{ijk} : erro aleatório associado à observação ijk.

Tabela 1 - Esquema da análise de variância das características avaliadas

FV	GL	QM	E (QM)	F
Blocos	r-1	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_b^2$	
Ambientes (A)	a-1	QMA	$\sigma^2 + gr\phi_a$	QMA/QMR
Genótipos (G)	g-1	QMG	$\sigma^2 + ar\phi_g$	QMG/QMR
GxA	(a-1)(g-1)	QMGA	$\sigma^2 + r\phi_{ga}$	QMGA/QMR
Resíduo	(ga-1) (r-1)	QMR	σ^2	

Em que:

r = número de blocos (repetições);

g = número de genótipos (tratamentos);

a = número de ambientes. No caso, nível de disponibilidade hídrica no solo, com e sem estresse hídrico.

σ^2 = componente de variância do erro experimental;

$$\hat{\phi}_g = \frac{QMG - QMR}{ar} = \text{componente de variância genética}$$

$$\hat{\phi}_{ga} = \frac{QMGA - QMR}{r} = \text{componente de variância da interação genótipo x ambiente.}$$

3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.5.1. Avaliação de linhagens endogâmicas de milho submetidas à deficiência hídrica

Os resultados da análise de variância e os coeficientes de variação para as características de morfologia da parte aérea e do sistema radicular são apresentados na Tabela 2. Foram observadas diferenças significativas entre genótipos a 1% e/ou 5% de probabilidade para todas as características avaliadas, exceto para intensidade de verde, tanto no ambiente com estresse, quanto no sem estresse hídrico. Este fato indica que existe grande variabilidade genética para a seleção de plantas com base nessas características. No experimento, apesar da ausência de significância da intensidade de verde entre as linhagens, a importância dessa característica é verificada em diversos trabalhos. Por estar associada ao teor de clorofilas totais, essa variável pode auxiliar, indiretamente, na avaliação da eficiência fotossintética em diferentes ambientes. Observa-se, interação entre genótipos e os tratamentos aplicados para todas as características avaliadas, exceto para intensidade de verde (Tabela 2). Ou seja, as linhagens apresentaram respostas diferentes em ambos os ambientes, com e sem estresse hídrico no solo.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância e os coeficientes de variação envolvendo seis linhagens de milho (G) e dois níveis de disponibilidade hídrica (A), sem estresse e com estresse hídrico, para todas as características avaliadas. Sete Lagoas-MG, 2010.

Características ¹	Médias	CV(%)	Quadrado Médio					
			FV	Bloco	Genótipo (G)	Ambiente (A)	GxA	Resíduo
			GL	2	5	1	5	22
IV	34,76	4,97	2,3265	20,0225 ^{ns}	367,0417 ^{**}	7,3892 ^{ns}	2,9881	
AF	1337,16	13,06	1480,1853	364328,8394 ^{**}	11605105,2460 ^{**}	414557,5108 ^{**}	30481,3398	
CTR	4925,17	12,39	68318,45839	5593423,6321 ^{**}	22110794,5581 ^{**}	2764578,1225 ^{**}	372532,8797	
ASR	834,44	14,22	7887,2587	163897,2807 ^{**}	76147,4827 [*]	131998,7515 ^{**}	14075,7151	
DMR	0,86	11,89	0,0018	0,1893 ^{**}	0,9120 ^{**}	0,0784 ^{**}	0,0105	
VTR	11,52	21,52	2,0610	34,0985 ^{**}	184,4164 ^{**}	19,7198 [*]	6,1533	
CRMF	3378,29	19,42	609002,5585	2901632,7444 ^{**}	15677151,9155 ^{**}	2405505,0565 ^{**}	430668,1971	
CRF	2732,86	16,36	123541,2076	2422741,8936 ^{**}	652085,8587	2050939,9268 ^{**}	199941,8905	
CRG	101,33	21,27	427,0308	3281,2273 ^{**}	48356,01 ^{**}	2717,3614 ^{**}	464,4738	
ASMF	232,37	19,70	1096,2525	8574,2725 ^{**}	32910,1928 ^{**}	8193,9881 [*]	2095,3828	
ASF	404,62	21,91	1699,8485	36035,6918 [*]	36649,9117 [*]	26616,9045 [*]	7858,3354	
ASG	88,65	18,35	399,9536	2598,1107 ^{**}	37799,1364 ^{**}	1955,6585 ^{**}	264,6025	
MSPA	6,89	30,81	0,7613	7,0069 [*]	129,5423 ^{**}	11,8301 ^{**}	2,4574	
MSR	2,09	15,94	0,0387	0,4513 ^{**}	0,0452 ^{ns}	0,2446 ^{**}	0,0607	
MST	8,98	24,67	0,4580	8,7005 [*]	124,7503 ^{**}	13,7995 [*]	2,6779	
MSR/MSPA	0,34	15,42	0,0009	0,0106 [*]	0,3125 ^{**}	0,0122 ^{**}	0,0028	

^{**}, ^{*} = Significativo ao nível de 1 e 5%, respectivamente de probabilidade, pelo teste F; ^{ns}= Não significativo. ¹ Intensidade de verde (IV); Área foliar (AF, em cm²); Comprimento total de raiz (CTR, em cm); Área de superfície de raiz (ASR, em cm²); Diâmetro médio de raiz (DMR, em mm); Volume Total de raiz (VTR, em cm³); Comprimento de raiz muito fina (CRMF, em cm); Comprimento de raiz fina (CRF, em cm); Comprimento de raiz grossa (CRG, em cm); Área de superfície de raiz muito fina (ASMF, em cm²); Área de superfície de raiz fina (ASF, em cm²); Área de superfície de raiz grossa (ASG, em cm²); Massa seca da parte aérea (MSPA, em g planta⁻¹); Massa seca de raiz (MSR, em g planta⁻¹); Massa seca total (MST, em g planta⁻¹); Relação Massa seca de raiz e Massa seca de parte aérea (MSR/MSPA, em g planta⁻¹).

A imposição do estresse hídrico influenciou, significativamente, todas as características avaliadas, exceto para massa seca de raiz (MSR). No ambiente onde foi imposto o estresse hídrico (ESTR), houve maior redução das características intensidade de verde (IV), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), área de superfície de raiz (ASR), diâmetro médio de raiz (DMR), e volume total de raiz (VTR), comparado ao tratamento controle, onde foi realizada a irrigação normal (IRN) (Figuras 3, 4, 5 e 6).

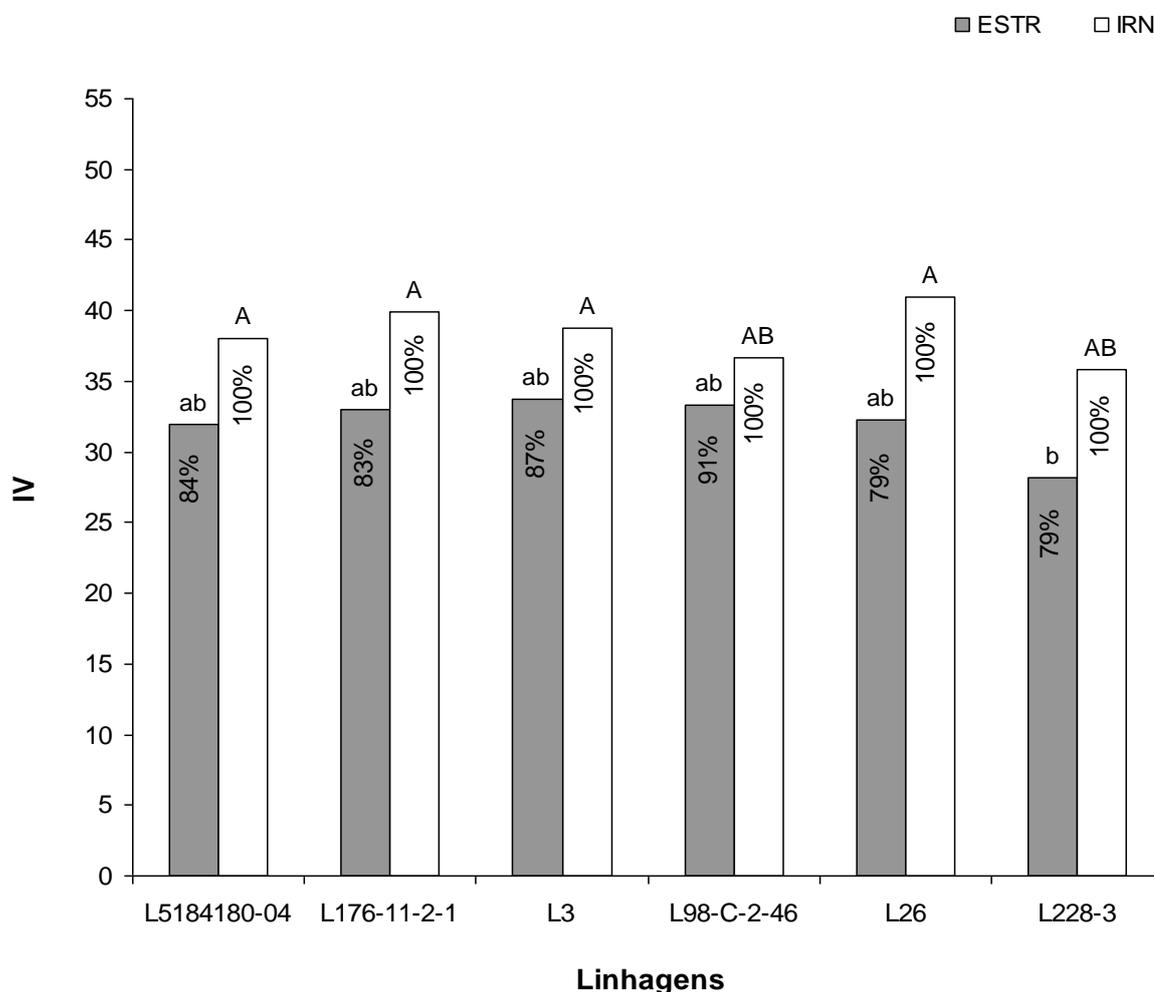


Figura 3 – Intensidade de verde (IV) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem.

Na classificação de Pimentel-Gomes (1985), os coeficientes de variação são considerados baixos, quando inferiores a 10%; médios, entre 10 e 20%; altos, quando estão entre 20 e 30%; e muito altos, quando são superiores a 30%. De modo geral, com base nessa classificação, os coeficientes de variação ficaram entre 4,97 e 30,81%, sendo, portanto, classificados como baixos e altos, mas consistentes com valores observados na literatura, para avaliação de morfologia da parte aérea e de raiz de linhagens.

Para área foliar, no ambiente onde foi imposta à deficiência hídrica no solo, observa-se uma tendência a menor área foliar das linhagens L5184180-04, L176-11-2-1 e L3, respectivamente (Figura 4). Esse fato sugere que, em condição de limitação hídrica no solo, essas linhagens investem menos fotoassimilados para estruturas responsáveis pela interceptação da energia luminosa e, com isso, possuem menor área transpiratória.

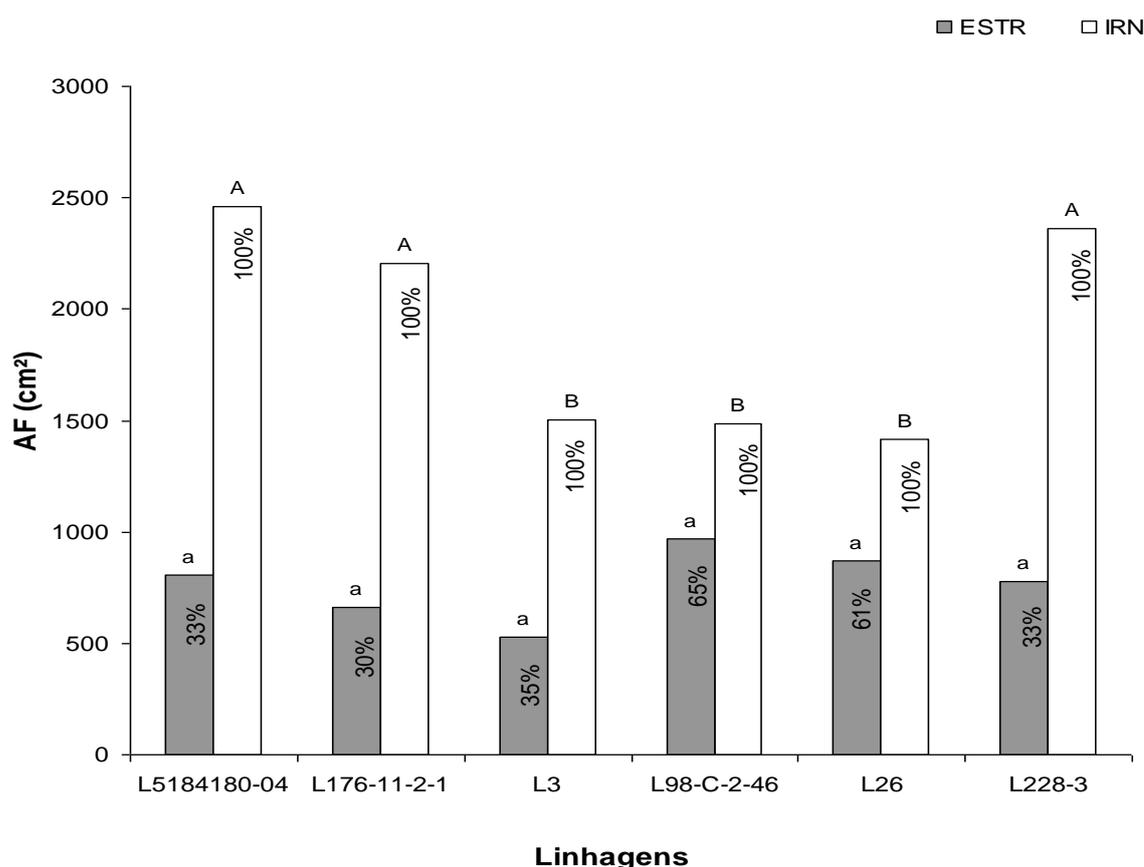


Figura 4 – Área Foliar (AF) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem.

Em condições normais de irrigação, observa-se que as linhagens L3, L98-C-2-46 e L26 apresentaram os menores valores de área foliar. No entanto, as linhagens L5184180-04 e L176-11-2-1, classificadas como tolerantes à deficiência hídrica no solo, juntamente com a L228-3, considerada sensível à seca, apresentaram os maiores valores de área foliar (Figura 4).

Em várias espécies, a limitação, na área foliar, é considerada a primeira resposta das plantas ao déficit hídrico (Fernández et al., 1996; Khan et al., 2001; Lombardini, 2006; Taiz e Zeiger, 2010) e, dependendo da capacidade genética, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento das plantas (Chaves, 1991; Bray, 1993), pode causar redução irreversível da atividade fotossintética (Zhang et al., 1999; Rahman et al., 2004).

Nas figuras 5A, B e C, verifica-se que, em condições de estresse hídrico, não houve diferença estatística entre as linhagens para as características MSPA, MSR e MST. No entanto, foi observado um maior acúmulo de MSPA e MST da linhagem sensível L98-C-2-46, possivelmente, em decorrência da maior área foliar apresentada.

Em condições de irrigação normal, as linhagens L5184180-04, L176-11-21 (tolerantes) e L228-3 (sensível) apresentaram os maiores valores de MSPA e MST, enquanto que, para a MSR, houve superioridade, apenas, da linhagem L228-3. Rezaeieh et al. (2011) encontraram diferença de massa seca entre os genótipos avaliados, sendo que a massa seca da raiz foi identificada como o principal critério para a seleção de genótipos de milho sob condições de seca. Contudo, neste presente trabalho realizado em Sete Lagoas/MG, essa variável não foi um indicador adequado para a discriminação de genótipos tolerantes em limitação hídrica do solo.

Na condição de limitação hídrica, a linhagem sensível L98-C-2-46 apresentou a menor relação massa seca de raiz e massa seca da parte aérea (MSR/MSPA), em decorrência da maior MSPA (Figura 5D).

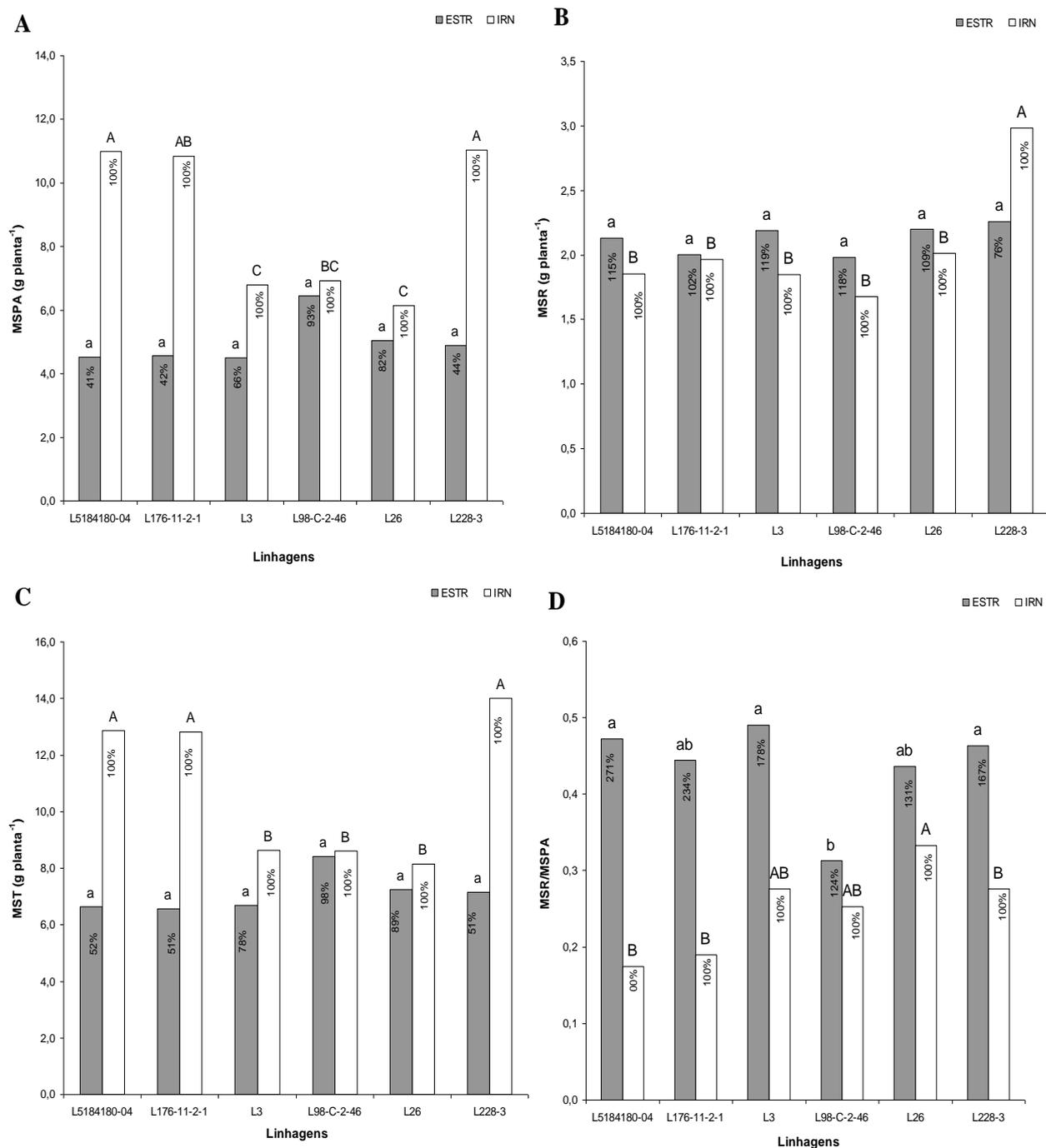


Figura 5 – (A) Matéria seca da parte aérea (MSPA), (B) Matéria seca de raiz (MSR), (C) Matéria seca total (MST), (D) Relação Massa seca de raiz e Massa seca da parte aérea (MSR/MSPA) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem.

Na Figura 6, são apresentadas as características comprimento total de raiz (CTR), a área de superfície de raiz (ASR), o diâmetro médio de raiz (DMR) e o volume total de raiz (VTR), com as médias de três repetições das linhagens de milho, quando cultivadas em ambiente com e sem deficiência hídrica no solo. A exposição das plantas à deficiência hídrica resultou em diferenças na morfologia do sistema radicular. Tal comportamento, também, foi verificado em vários trabalhos (Cantão et al., 2008; Magalhães et al., 2011; Rezaeieh e Eivazi, 2011).

Os maiores valores do comprimento total de raiz foram verificados no ambiente em que houve deficiência hídrica (Figura 6A). Como base na literatura, tal resposta era esperada. O CTR é uma característica associada à sustentação e nutrição das plantas. Como evidenciado em vários estudos, sob condições de deficiência hídrica no solo, as plantas respondem, adaptando-se ao ambiente estressado, promovendo uma expansão do sistema radicular e uma maior exploração de água armazenada por volume de solo (Hoogenbomm et al., 1987; Hund et al., 2009).

Observa-se, na Figura 6B, que, quando submetida à deficiência hídrica, a linhagem L5184180-04 apresentou alto valor de área de superfície de raiz. Nota-se que, na ausência de deficiência hídrica, ou seja, quando houve irrigação normal durante o cultivo das plantas, a linhagem L228-3 classificada como sensível novamente apresentou superioridade nessa variável. De acordo com Imada et al. (2008), a área superficial de raiz é, dentre as características de morfologia de raiz, a mais associada com a absorção de nutrientes.

Com algumas exceções, as linhagens L5184180-04, L176-11-2-1, L3 e a L2 destacaram-se por apresentarem valores elevados de CTR, DMR e VTR em ambos os ambientes, com e sem deficiência hídrica. Em contrapartida, os menores valores foram apresentados pelas linhagens sensíveis L26 e L98-C-2-46 (Figuras 6A, 6C e 6D). Esses resultados são indícios de que as linhagens L5184180-04, L176-11-2-1 podem apresentar tolerância à seca, por apresentar um sistema radicular com maior capacidade de absorver água e nutrientes no solo, fatores essenciais para sobrevivência em condições de limitação hídrica do solo. Essas linhagens com raízes de maior comprimento que em situação de campo podem ser mais profundas, podem ser indicadas para regiões de clima árido ou semi-árido, onde a disponibilidade de recursos hídricos é escassa.

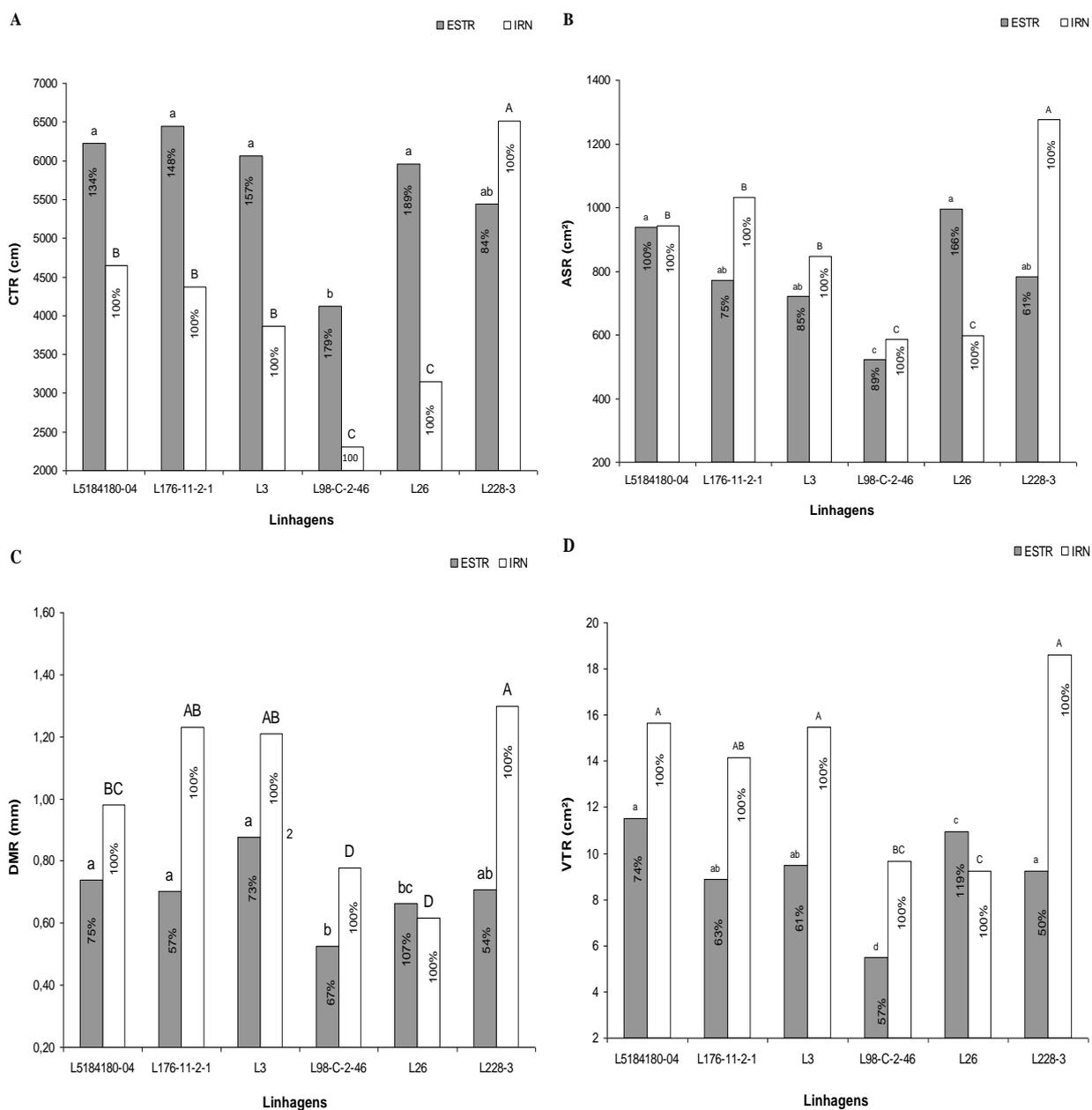


Figura 6 – (A) Comprimento total de raiz (CTR), (B) Área de superfície de raiz (ASR), (C) Diâmetro médio de raiz (DMR), (D) Volume total de raiz (VTR) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Valores de porcentagem representam a variação do tratamento ESTR em relação ao IRN (controle - 100%) para cada linhagem.

As linhagens L98-C-2-46 e L26 apresentaram os menores valores de diâmetro médio de raiz no ambiente com e sem deficiência hídrica (Figura 6C). Estudos comprovam uma correlação positiva entre diâmetro de raiz e diâmetro do xilema em raízes laterais (Varney et al., 1991). Portanto, o menor valor de

diâmetro médio de raiz dessas linhagens, em ambos os ambientes, pode ter proporcionado uma menor absorção e transporte de água pelos vasos do xilema da raiz. Futuro trabalho, nessa área de pesquisa, deverão ser feitos nessas linhagens, objetivando elucidar tal fato.

Segundo Gahhoonia e Nielsen (2004), raízes grossas (>2mm de diâmetro) estão relacionadas ao suporte e ancoragem da planta e absorção de pequenas quantidades de água e nutrientes, e as raízes finas (<2mm de diâmetro) são as responsáveis pela maior absorção de água e de íons minerais do solo (Eissenstat et al., 2000). Os resultados encontrados neste trabalho corroboram o de Hund et al. (2009), o qual mostra diferenças na morfologia de raiz de linhagens contrastantes de milho quando submetidas a condições de estresse hídrico, em que a linhagem de milho considerada tolerante CML444 apresentou raízes mais espessas (0,14mm de diâmetro) e mais longas (0,32m de comprimento) em comparação à linhagem sensível SCMalawi. Por outro lado, Cantão et al. (2008), comparando linhagens sensíveis, encontraram maior contribuição de raízes com diâmetro inferior a 0,5 mm nas linhagens de milho tolerantes à seca.

Soares et al. (2009), avaliando a morfologia de linhagens endogâmicas de milho, verificaram que a eficiência na utilização de nitrogênio de linhagens poderia estar relacionada à presença de um volume de raízes muito finas ($\varnothing < 0,5$ mm), eficientes na absorção desse nutriente do solo. Assim, esses autores ratificam o envolvimento dessa classe de raiz na absorção de nutrientes no solo, em especial o nitrogênio.

É interessante notar que a linhagem L228-3, apesar de classificada como sensível, na ausência de deficiência hídrica, mostrou-se superior para as características CTR, ASR, DMR e VTR e, por esse bom desempenho, talvez possa ser indicada para o cultivo em locais que possuam condições edafoclimáticas mais estáveis, ou seja, onde a disponibilidade de água não é um fator limitante (Figura 6).

Pelos resultados apresentados na Tabela 3, verifica-se que existem diferenças significativas entre as linhagens para as características divididas por classe de diâmetro, CRMF, CRF, CRG, ASMF, ASF e ASG, quando cultivadas em ambiente com deficiência hídrica e com irrigação normal.

Observa-se que, sob limitação hídrica, a linhagem tolerante L5184180-04 apresentou as maiores médias para ASRMF e ASRG. Para todas as variáveis da Tabela 3, exceto CRG, ASRG e ASRMF, ambas na condição de boa disponibilidade hídrica, a linhagem sensível L98-C-2-46 apresentou as menores médias.

Tabela 3 – Comprimento de raiz muito fina (CRMF), comprimento de raiz fina (CRF), comprimento de raiz grossa (CRG), área de superfície de raiz (ASRMF), área de superfície de raiz fina (ASRF), área de superfície de raiz grossa (ASRG) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Linhagens	CRMF		CRF		CRG	
	Ø<0,5 mm		0,5mm<Ø<2mm		Ø> 2 mm	
	IRN	ESTR	IRN	ESTR	IRN	ESTR
L5184180-04	2693,6 b	4436,5 ab	2435,8 bc	3363,6 a	135,7 bc	85,5 a
L176-11-2-1	3250,7 ab	4016,2 ab	3316,1 ab	2755,1 a	137,1 bc	45,9 ab
L3	2177,4 b	3130,3 b	2997,7 bc	2667,5 a	185,9 a	61,7 ab
L98-C-2-46	1820,0 b	3038,2 b	2087,2 c	920,6 b	106,0 cd	27,5 b
L26	1976,7 b	5494,7 a	2149,1 c	3407,8 a	88,8 d	87,3 a
L228-3	4392,0 a	4113,3 ab	4218,9 ab	2474,9 a	174,4 ab	80,2 a
Média Geral	2718,4	4038,2	2867,4	2598,3	138,0	64,7

Linhagens	ASRMF		ASRF		ASRG	
	Ø<0,5 mm		0,5mm< Ø<2mm		Ø> 2 mm	
	IRN	ESTR	IRN	ESTR	IRN	ESTR
L5184180-04	205,4 ab	290,0 a	509,1 ab	447,5 a	125,7 abc	78,8 a
L176-11-2-1	241,7 ab	276,1 ab	463,7 abc	361,3 ab	116,8 bcd	40,1 ab
L3	178,1 ab	216,9 b	431,8 bc	372,2 ab	162,7 a	51,3 ab
L98-C-2-46	160,9 b	188,5 b	295,1 c	247,8 b	90,8 cd	22,6 bc
L26	146,1 b	241,9 a	303,9 c	456,3 a	80,8 d	76,1 a
L228-3	280,6 a	262,3 ab	615,5 a	351,2 ab	149,4 ab	68,6 a
Média Geral	202,1	262,6	436,5	372,7	121,1	56,2

Em condição de boa disponibilidade hídrica, a linhagem L228-3 apresentou valores elevados para comprimento de raiz muito fina (CRMF), comprimento de raiz fina (CRF), comprimento de raiz grossa (CRG), área de superfície de raiz

(ASRMF), e área de superfície de raiz fina (ASRF) (Tabela 3), ratificando seu bom desempenho na ausência de restrição hídrica no solo.

Comparando-se os resultados obtidos neste trabalho, dentre os genótipos sensíveis ao estresse hídrico, verifica-se que a linhagem L98-C-2-46 destacou-se como o pior material por apresentar os menores valores para as características avaliadas e se mostrando inferior às demais com relação à tolerância a seca. Em contrapartida, as linhagens tolerantes L5184180-04, L176-11-2-1 apresentaram maior comprimento de raiz no solo, e, numa associação com a Tabela 3, principalmente para a linhagem L5184180-04, tal fato pode especular que esta linhagem pode apresentar maior absorção de água nas camadas mais profundas e úmidas do perfil do solo, evidenciando uma maior adaptação dessa linhagem a ambientes de baixa disponibilidade hídrica.

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, pode-se considerar que a característica CTR foi a que melhor diferenciou as linhagens tolerantes das sensíveis ao estresse hídrico. As linhagens tolerantes apresentaram valores médios maiores que as linhagens sensíveis ao estresse hídrico, indicando que, sob limitação hídrica do solo, as plantas com melhor adaptação a esse estresse abiótico tendem a desenvolver maior crescimento radicular. Tal fato pode proporcionar maior capacidade de retirada de água nas camadas com maior profundidade do solo (Ryser, 2006). Portanto, verifica-se a grande importância do estudo dessa característica morfológica do sistema radicular em programas de melhoramento que visam à obtenção de genótipos de milho eficientes em absorver água em condição de solo com limitação desse recurso.

Nesse experimento, a técnica de análise de imagens digitais mostrou-se uma ferramenta promissora para estudos de raízes em fase precoce do milho. Isso demonstra e reitera a necessidade de continuidade nos estudos de características morfológicas do sistema radicular, em programas de melhoramento genético para melhor entender os mecanismos de adaptação do milho sob baixa disponibilidade hídrica no solo. Os estudos realizados por Himmelbauer et al. (2004) mostraram que o sistema de análise de imagem foi eficiente em cereais, como cevada e trigo, e proporcionou a determinação rápida e mais precisa de características morfológicas de raiz, como comprimento, diâmetro médio e área de superfície. Em milho, essa mesma técnica se mostrou eficiente em diversos trabalhos (Cantão et al., 2008; Soares et al., 2009;

Magalhães et al., 2011). Contudo, neste presente trabalho, nem todas as variáveis obtidas pela técnica foram eficientes na discriminação de genótipos tolerantes à limitação hídrica do solo.

3.2.6. CONCLUSÕES

1- Existe variabilidade genética entre as linhagens de milho para discriminação de plantas com base nas características de morfologia de raiz (CTR, DMR, ASR, VTR, CRMF, CRF, CRG, ASMF, ASF e ASG).

2- As variáveis avaliadas CTR e relação MSR/MSPA pela técnica de análise de imagens digitais foram as mais promissoras na diferenciação de genótipos de milho para tolerância ao estresse hídrico. Esta técnica mostrou-se como uma ferramenta promissora, uma vez que ela permite avaliar várias características relacionadas aos estudos de raízes em fase precoce do milho. Contudo, necessita-se de mais estudos em programas de melhoramento genético para melhor entender os mecanismos de adaptação do milho sob baixa disponibilidade hídrica no solo.

3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barnabás, B.; Jäger, K.; Fehér, A. (2008) The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell and Environment*: 31, 11–38.

Bauhus, J.; Christian, M. (1999) Evaluation of fine root length and diameter measurements obtained using WinRhizo image analysis. *Agronomy Journal*, Madison, 91(1): 142-147.

- Bhom, W. (1979) *Methods of studying root systems*. New York: Springer-Verlag, 189p.
- Bouma, T.J.; Nielson, K.L.; Koutstaal, B.A.S. (2000) Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*, Dordrecht, 218: 185-196.
- Bray, E.A. (1997) Plant responses to water deficit. *Trends in plant science*, 2(2): 48-54.
- Bray, E.A. (1993) Molecular Responses to water deficit. *Plant Physiology*, 103:1035-1040.
- Cantão, F.R.O.; Durães, F.O.M.; Oliveira, A.C. de; Soares, A.M.; Magalhães, P.C. (2008) Morphological attributes of root system of maize genotypes contrastins in drought tolerance due to phosphorus stress. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 7(2): 113-127.
- Chaves, M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42:1-16.
- Chaves, M.M.; Maroco, J.P.; Pereira, J.S. (2003) Understanding plant response to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30:239-264.
- Chaves, M.M.; Pereira, J.S.; Rodrigues, M.L.; Ricardo, C.P.P.; Osório, M.L.; Carvalho, I.; Faria, T.; Pinheiro, C. (2002) How plants cope with water stress in the Field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89:907-916.
- Costa, C.; Dwyer, L.M.; Zhou, X.; Dutilleul, P.; Hamel, C.; Reid, I.M.; Smith, D.L. (2002) Root morphology of contrasting maize genotypes. *Agronomy Journal*, Madison, 94(1): 96-101.
- Cruz, C.D. (2006) *Programa Genes: biometria*. Viçosa:UFV, 382p.

- Davies, W.J.; Zhang, J. (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 42: 55-76.
- Eissenstat, D. M.; Wells, C. E.; Yanai, R. D. (2000) Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, Oxford, 147(1): 33-42.
- Embrapa (1999) Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, 412p.
- Fernández, C.J.; McInnes, K.J.; Cothren, J.T. (1996) Water status and leaf area production in water-and nitrogen-stressed cotton. *Crop Science*, Madison, 36: 914-921.
- Gahoonia, T.S.; Nielsen, N.E. (2004) Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties. *Plant and Soil*, 260: 47-57.
- Himmelbauer, M.L.; Loiskandl, W.; Kastanek, F. (2004) Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses systems. *Plant and Soil*, 260: 111-120.
- Hoogenboom, G.; Huck, M.G.; Peterson, C.M. (1987) Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, Madison, 79: 697-614.
- Hund, A.; Ruta, N.; Liedgens, M. (2009) Rooting depth and water efficiency of tropical maize inbred lines, differing in drought tolerance. *Plant Soil*, 318: 311-325.
- Hura, T.; Hura, K.; Grzesiak, M.; Rzepka, A. (2007) Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C3 and C4 plants. *Acta Physiol Plant*, 29:103–113.

- Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Jasim Al-Juburi, H.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. (2009) Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture & biology*, 11: 100–105
- Khan, M.B.; Hussain, N.; Iqbal, M. (2001) Effect of water stress on growth and yield components of maize variety Yhs 202. *Journal of Research Science*, 12(1): 15-18.
- Imada, S.; Yamanaka, N.; Tamai, S. (2008) Water table depth effects Populus alba fine root growth and whole plant biomass. *Functional Ecology*, London, 22(6): 1018-1026.
- Lombardini, L. (2006) Ecophysiology of plants in dry environments. D'Odorico, P.; Porporato, A. (Eds) Chapter 4. In: *Dryland Ecohydrology*, Springer, Printed in the Netherlands, 47-65.
- Magalhães, P.C.; Souza, T.C.; Cantão, F.R.O. (2011) Early evaluation of root morphology of maize genotypes under phosphorus deficiency. *Plant Soil Environment*, 57 (3): 135–138.
- Medici, L.O.; Azevedo, R.A.; Canellas, L.P.; Machado, A.T.; Pimentel, C. (2007) Stomatal conductance of maize under water and nitrogen deficits. *Notas Científicas. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 42(4): 599-601.
- Neill, S.; Barros, R.; Bright, J.; Desikan, R.; Hancock, J.; Harrison, J.; Morris, P.; Ribeiro, D.; Wilson, I. (2008) Nitric oxide stomatal closure, and abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 59(2): 165-176.
- Pereira, P.G.; Bergonci, J.I.; Bergamaschi, H.; Rosa, L.M.G.; França, S. (2003) Efeitos de diferentes níveis de déficit hídrico na fotossíntese e condutância foliar em milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, 11(1):53-62.

- Pimentel-Gomes, F. (1985) Curso de estatística experimental. São Paulo: Esalq, 467 p.
- Rahaman, M.U.; Gul, S.; Ahmad, I. (2004) Effects of water stress on growth and photosynthetic pigments of corn (*Zea mays* L.) cultivars. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(4): 652-655.
- Rezaeieh, K.A.; Eivazi, A. (2011) Evaluation of morphological characteristics in five Persian maize (*Zea mays* L.) under drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(18): 4409-4411.
- Ryser, P. (2006) The mysterious root length. Commentary. *Plant Soil*, 286: 1-6.
- Soares, M.O.; Marriel, I.E.; Magalhães, P.C.; Guimarães, L.J.M.; Cantão, F.R.O.; Rocha, M.C. da; Junior, G.A.C.; Miranda, G.V. (2009) Discriminação de linhagens de milho quanto à utilização de nitrogênio, por meio da avaliação de características do sistema radicular. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 8(1): 93-103.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*, Fifth edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. (In press), 690p.
- Varney, G.T.; Canny, M.J. (1993) The branch roots of *Zea*. 1. First order branches, their number, sizes and division into classes. *Ann Bot. (Lond)*, 67: 357-364.
- Zhang, J.; Nguyen, H.T.; Blum, A. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 50(332): 291-302.

3.3. ATRIBUTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE LINHAGENS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA À SECA

3.3.1. RESUMO

Dentre os estresses abióticos, o hídrico é um dos que mais limita o desenvolvimento e/ou crescimento das plantas. A cultura do milho (*Zea mays* L.) é particularmente sensível a esse estresse, uma vez que causa redução da atividade fotossintética por meio da redução de assimilação de CO₂. Portanto, a adaptação de plantas a estresses abióticos, como a seca, constitui uma das alternativas para redução de custos com irrigação e de sustentabilidade hídrica. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características morfofisiológicas de linhagens endogâmicas de milho contrastantes submetidas à deficiência hídrica no solo. Foram avaliadas, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, seis linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, sendo duas linhagens tolerantes L176-11-2-1, L5184180-04, uma intermediária L3, e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico L98-C-2-46, L26, L228-3. O delineamento utilizado foram blocos casualizados em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade hídrica, com três repetições. O teor de água no solo foi monitorado, diariamente, nos períodos da manhã e tarde, com auxílio de um sensor de umidade watermark™. Os tratamentos foram: sem estresse hídrico, onde a reposição diária de água foi realizada até o solo atingir a umidade na capacidade de campo, ou seja, 100% de

reposição, e com estresse hídrico, em que a reposição hídrica foi realizada diariamente, aplicando-se 50% da água total disponível, sendo imposto esse estresse no pré-florescimento e mantido por dez dias. O estresse hídrico proporcionou alterações nas variáveis de trocas gasosas, com diminuição nas taxas fotossintética líquida (A), devido a alterações na condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E). Foi observada variabilidade genética entre as linhagens contrastantes de milho quanto à tolerância ao estresse hídrico para discriminação de plantas com base nas características morfofisiológicas (A, g_s , E e EUA). Os resultados indicaram superioridade das linhagens tolerantes L5184180-04, L176-11-2-1 em comparação às linhagens sensíveis, por apresentarem maiores valores de A e g_s , quando submetidas à baixa disponibilidade hídrica no solo, possivelmente um dos mecanismos que auxiliam no melhor entendimento da tolerância da planta em ambiente de estresse hídrico.

3.3.2. ABSTRACT

Among the abiotic stress, the water deficit is one of the most limiting factor for development and/or plant growth. Maize (*Zea mays* L.) is particularly sensitive to this stress. It causes reduction of photosynthetic activity by reducing CO₂ assimilation. Therefore, the adaptation of plants to abiotic stresses, such as drought, is an alternative to reduce costs with irrigation and water sustainability. Thus, the aim of this study was to evaluate morphological and physiological characteristics of contrasting inbred lines submitted to soil water deficit. It were evaluated in a greenhouse at The Embrapa National Maize and Sorghum Research Center, Sete Lagoas, MG, six maize inbred lines contrasting for drought tolerance, being two tolerant lines (L176-11-2-1, L5184180-04), one intermediate (L3), and three lines sensitive to water deficit (L98-2-C-46, L26, L228-3). The experimental design was randomized blocks in factorial scheme 6x2, with six genotypes and two levels of water availability, and three replications. The soil water content was monitored daily in the morning and afternoon, with the aid of a moisture sensor watermark™. The treatments were: without water stress, where the daily replacement of water was performed up to field capacity, in other words

100% replacement, and with water stress, in which replacement water was performed daily by applying 50% of the total water available. This stress was imposed at pre-flowering, and maintained for ten days. The water stress resulted in changes in gas exchange variables, with decrease in net photosynthetic rate (A), due to changes in stomatal conductance (gs) and leaf transpiration (E). Genetic variability was observed among contrasting maize lines for water stress tolerance, by discriminating plants based on morphological and physiological characteristics (A, gs, E and WUE). Results showed the superiority of tolerant lines L5184180-04, L176-11-2-1 compared to the sensitive ones, since they have higher values of A and gs, when submitted to low soil water availability, possibly one of the mechanisms that aid to better understanding of plant tolerance to water stress environment.

3.3.3. INTRODUÇÃO

O estudos comprovam que, sob condições de estresse, as plantas respondem com alterações fisiológicas e bioquímicas (Chaves et al., 2009; Anjum et al., 2011). Dentre os estresses abióticos, o hídrico é um dos que mais limita o desenvolvimento e/ou crescimento das plantas (Çakir, 2004).

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é particularmente sensível a esse estresse, uma vez que esse fator causa redução da atividade fotossintética (Zhang et al., 1999; Rahman et al., 2004) por meio da redução de assimilação de CO₂ (Lawlor e Cornic, 2002). O déficit hídrico causa alterações no crescimento vegetal, cuja irreversibilidade vai depender da capacidade genética, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento das plantas (Chaves, 1991; Bray, 1993).

Sob alta irradiância solar, a interrupção do suprimento hídrico para as folhas pode ser considerada como uma situação de estresse intenso. Nessa condição, os estômatos se fecham rapidamente, o que evita a perda de água por transpiração. Sob este estresse e na condição de elevada radiação fotossinteticamente ativa, a temperatura da folha aumenta, e os processos

fotoquímicos perdem eficiência em transformar a energia luminosa em energia química (Anjum et al., 2011).

A adaptação de plantas a estresses abióticos, como a seca, constitui uma das alternativas para redução de custos com irrigação e de sustentabilidade hídrica (Bänzinger et al., 2000). Dessa forma, o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no metabolismo da planta, juntamente com o melhoramento genético, contribuirá para a geração de cultivares produtivas em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo.

Os estudos têm relatado que inúmeras características fisiológicas podem ser utilizadas como ferramentas em programas de melhoramento visando à tolerância a déficit hídrico (Gholamin e Khayatnezhad, 2011). Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em casa de vegetação, as características morfofisiológicas de linhagens endogâmicas de milho contrastantes em relação à tolerância ao estresse hídrico, com a finalidade de tentar entender os possíveis mecanismos fisiológicos associados à tolerância à seca.

3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.4.1. Condições experimentais

Foram avaliadas seis linhagens endogâmicas de milho contrastantes em relação à tolerância ao estresse hídrico, sendo duas linhagens tolerantes (L176-11-2-1, L5184180-04), uma intermediária (L3), e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico (L98-C-2-46, L26, L228-3). Essas linhagens foram pré-classificadas quanto à tolerância à seca com base na produtividade de grãos, sendo pertencentes ao Programa de Melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo.

O experimento foi realizado em casa de vegetação, entre março e agosto de 2011, na Embrapa Milho e Sorgo, situada no município de Sete Lagoas, MG, localizado a 19°28'S, 44°15'08"W e 732m de altitude. Nesse local, segundo Köopen, o clima é classificado como Aw (clima de savana com inverno seco).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade

hídrica, com três repetições. Manualmente, foram semeadas quatro sementes por vaso de 20 litros a uma profundidade média de quatro centímetros, e, após sete dias, foi feito o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso.

O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho Distrófico Típico (Embrapa, 1999), e receberam, como adubação de plantio, 35g da fórmula 8-28-16 como fonte de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente, mais 0,3% de Zn. Em V₅ (cinco folhas totalmente expandidas), foram realizadas duas adubações de cobertura com sulfato de amônio 4g vaso⁻¹, uma vez por semana. Depois, subsequentemente, foram realizadas mais quatro adubações, com aplicação de 2g vaso⁻¹ de uréia, uma vez por semana. Para o controle de lagartas, foram realizadas três aplicações de inseticidas: na terceira, na quinta e na sexta semana após a emergência, utilizando Lannate® BR, Match CE e Tracer (spinosad), respectivamente.

O teor de água no solo foi monitorado, diariamente, em dois períodos, manhã e tarde (9 e 15h, respectivamente), por meio de um sensor de umidade watermark™ (Spectrum Technologies, USA), instalado no centro dos vasos a uma profundidade de 20 cm. A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor e a água reposta até a capacidade de campo. Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita de acordo com a curva de retenção de água do solo.

Os tratamentos foram considerados sem estresse hídrico (IRN), em que a reposição diária de água foi realizada até o solo atingir a umidade na capacidade de campo, ou seja, 100% de reposição, e o tratamento com estresse hídrico (ESTR) foi feito com a reposição hídrica realizada diariamente, aplicando-se 50% da água total disponível. Ou seja, no tratamento com estresse hídrico, a reposição de água era feita até o potencial da água no solo atingir, aproximadamente, -70 kPa, cujo valor corresponde ao solo especificado. Esse estresse foi imposto no pré-florescimento e mantido por dez dias, e as avaliações biométricas e morfofisiológicas da parte aérea foram realizadas no florescimento.

Foram monitoradas a radiação fotossinteticamente ativa, a temperatura do ar, a umidade relativa e o déficit de pressão de vapor por meio de uma mini-estação climatológica Wacht Dog 2475 (Spectrum Technologies, USA), instalada dentro da casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo (Figura 1).

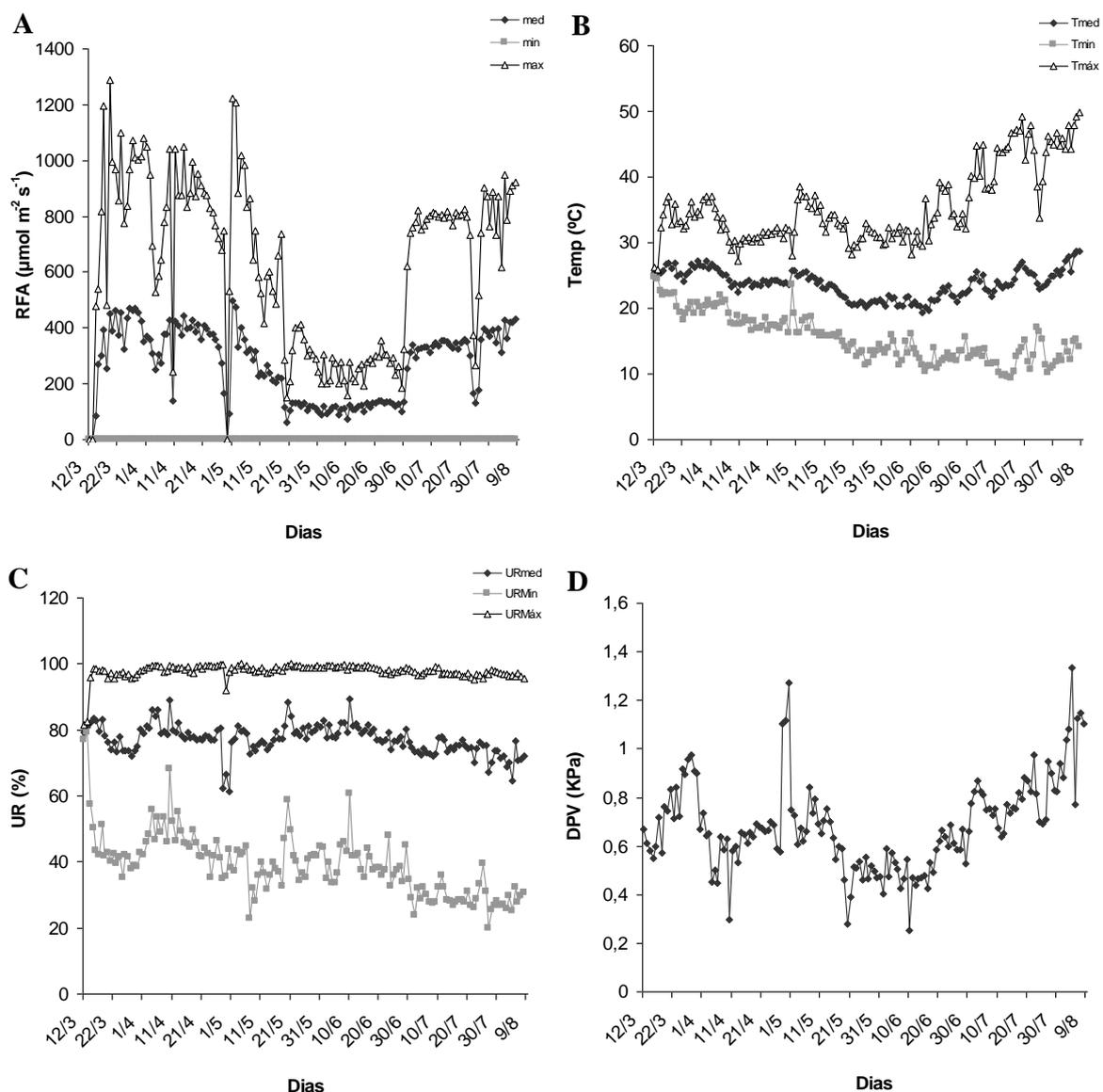


Figura 1 – (A) Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), (B) Temperatura do ar (Temp), (C) Umidade relativa (URmed) e (D) Déficit de Pressão de Vapor (DPV) no período de condução do experimento, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas-MG.

3.3.4.2. Avaliação de características biométricas e morfofisiológicas da parte aérea

A intensidade de verde (IV) foi estimada por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (Minolta, Japão), usando-se a média de cinco leituras em cada folha, por genótipo, selecionando-se, somente, o terço médio do limbo a 2 cm da margem da folha, excluindo-se a nervura central da folha madura.

Na mesma época de medição da variável IV, a fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m) foi medida por meio do fluorímetro portátil de luz não-modulada modelo PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, King's Lynn, Norkfolk, UK). As medições foram efetuadas entre 8-10h, no terço médio da mesma folha em que foi efetuada a estimativa do teor de clorofila, a 2 cm da margem da folha, excluindo-se suas nervuras das folhas. Para tanto, as folhas das plantas foram adaptadas ao escuro com o uso de pinças, por 30 minutos, para que todos os centros de reações adquirissem a condição de abertos (Q_a oxidada). Portanto, nessa condição, foi possível obter as medidas de fluorescência inicial (F_0), e fluorescência máxima (F_m). A partir dos valores de F_v e F_m , obteve-se a relação F_v/F_m (rendimento quântico máximo do fotossistema II) (Bòlhar-Nordenkampf et al., 1989);

Para a avaliação das trocas gasosas, foi utilizado o analisador de gás infravermelho, modelo LI-6400 (LI-COR, Lincoln, NE, USA), e as medidas foram realizadas em uma área foliar de 6 cm², com um fluxo de ar na câmara de 1200 $\mu\text{mol s}^{-1}$ e uma intensidade de radiação fotossinteticamente ativa de 1.500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A partir das avaliações feitas por meio do analisador, foram obtidas as medidas de taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); e transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As medições foram efetuadas entre 8-10h, na mesma região onde foram feitas a medição da emissão da fluorescência da clorofila *a*. A partir dos valores de A e E , foi possível obter a eficiência instantânea no uso da água (EIUA). Essa variável é a relação entre a taxa fotossintética líquida e a transpiração foliar (A/E).

O teor relativo de água (TRA) foi obtido na mesma folha em que foram mensuradas as trocas gasosas. Cada repetição foi composta de uma amostra, contendo dez discos foliares, com 0,6 cm de diâmetro, retirados do centro do limbo foliar, evitando as nervuras. Para evitar a perda de água das amostras, estas foram embrulhadas em papel-alumínio e mantidas em caixa de isopor com gelo e, imediatamente, pesadas, obtendo-se a massa da matéria fresca (MF). Em seguida, os discos foram submersos em água destilada, para atingirem a saturação hídrica. Após 24 horas em geladeira para reidratação, os discos foliares foram retirados da água, eliminando-se o excesso de água com auxílio de papel absorvente, e pesados, imediatamente, para a determinação da massa túrgida (MT). Posteriormente, obteve-se a massa seca (MS), por meio da secagem em

estufa (em torno de 70°C) até atingirem massa constante. O teor relativo de água foi calculado de acordo com a metodologia de Weatherley (1950), utilizando-se a fórmula:

$$\text{TRA} = [(MF-MS)/(MT-MS)] \times 100$$

3.3.4.3. Análise estatística

3.3.4.3.1. Análise biométrica e fisiológica

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e, para comparações entre as médias dos tratamentos, foi utilizado o teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise estatística dos resultados, foram utilizados os recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2006).

Encontra-se, na Tabela 1, o esquema da análise de variância e as esperanças dos quadrados médios, para as características avaliadas. O modelo matemático considera como fixos todos os efeitos, exceto o bloco e o erro experimental:

$$Y_{ijk} = m + B_k + G_i + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} : observação no k-ésimo bloco, avaliado no i-ésimo genótipo e j-ésimo ambiente;

m : média geral do ensaio;

B_k : efeito do bloco k, com k = 1, 2 e 3;

G_i : efeito do genótipo i, com i = 1, 2, ..., 6;

A_j : efeito do ambiente j, com j = 1 e 2;

GA_{ij} : efeito da interação entre o genótipo i e o ambiente j;

ε_{ijk} : erro aleatório associado à observação ijk.

Tabela 1 - Esquema da análise de variância das características avaliadas

FV	GL	QM	E (QM)	F
Blocos	r-1	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_b^2$	
Ambientes (A)	a-1	QMA	$\sigma^2 + gr\phi_a$	QMA/QMR
Genótipos (G)	g-1	QMG	$\sigma^2 + ar\phi_g$	QMG/QMR
GxA	(a-1)(g-1)	QMGA	$\sigma^2 + r\phi_{ga}$	QMGA/QMR
Resíduo	(ga-1) (r-1)	QMR	σ^2	

Em que:

r = número de blocos (repetições);

g = número de genótipos (tratamentos);

a = número de ambientes. No caso, nível de disponibilidade hídrica no solo, com e sem estresse hídrico.

σ^2 = componente de variância do erro experimental;

$$\hat{\phi}_g = \frac{QMG - QMR}{ar} = \text{componente de variância genética}$$

$$\hat{\phi}_{ga} = \frac{QMGA - QMR}{r} = \text{componente de variância da interação genótipo x ambiente.}$$

3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância e os coeficientes de variação para as características morfofisiológicas avaliadas estão apresentados na Tabela 2. Foram verificadas diferenças significativas entre genótipos ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F para as características intensidade de verde (IV), taxa de fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração foliar (E) e eficiência instantânea do uso da água (EIUA), enquanto que, para rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) e teor relativo de água (TRA), não foram detectadas diferenças significativas. Isso indica que existe variabilidade genética entre os tratamentos para essas características mensuradas.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância e os coeficientes de variação, envolvendo seis linhagens de milho (G) e dois níveis de disponibilidade hídrica (A), sem estresse e com estresse hídrico, para todas as características avaliadas. Sete Lagoas-MG, 2010.

Características ¹	Médias	CV(%)	Quadrado Médio					
			FV	Bloco	Genótipo (G)	Ambiente (A)	GxA	Resíduo
			GL	2	5	1	5	22
IV	45,57	5,64		9,14333	104,422**	1789,29**	68,4067**	6,61727
F_v/F_m	0,76	4,24		0,0009	0,0008 ^{ns}	0,0336**	0,0010 ^{ns}	0,00104
TRA	86,53	9,12		32,8611	27,0278 ^{ns}	1284,0278**	8,8944 ^{ns}	62,3009
A	21,45	13,98		11,16444	271,3056**	1268,5469**	37,4376**	8,99263
g_s	0,14	24,31		0,0003	0,0363**	0,0636**	0,0038*	0,0012
E	3,12	15,76		0,3621	10,5989**	37,3728**	1,3311**	0,2413**
EIUA	7,29	8,88		0,0285	7,0086**	0,0831 ^{ns}	5,9565**	0,4187

** , * = Significativo ao nível de 1 e 5%, respectivamente de probabilidade, pelo teste F; ^{ns}= Não significativo. ¹Intensidade de verde (IV); Rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m); Teor relativo de água (TRA, em %); Taxa fotossintética líquida (A, em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Condutância estomática (g_s, em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Transpiração foliar (E, em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Eficiência instantânea no uso de água (EIUA).

Os mesmos resultados foram encontrados para a interação entre genótipos e os tratamentos aplicados (Tabela 2), sugerindo, para essas características, a existência de resposta diferenciada entre os genótipos, quando estes foram submetidos a níveis diferentes de disponibilidade hídrica no solo.

No presente trabalho, os dez dias de imposição de estresse não foram capazes de alterar, entre genótipos, o rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) e o teor relativo de água (TRA). Apesar dessas características não apresentarem significância entre as linhagens neste trabalho, Baker e Rosenqvist (2004) e Sayed (2003) relatam a importância da fluorescência da clorofila para o monitoramento do processo fotossintético das plantas, e, quando associada ao teor relativo de água (Atteya, 2003), são ferramentas potenciais no estudo de resposta de plantas ao estresse hídrico. Contudo, em níveis de estresse hídrico mais severo do que imposto neste estudo, tais variáveis podem apresentar alterações nos valores.

Os coeficientes de variação (CV'_s) foram 5,64% para a característica intensidade de verde (IV); 4,24% para rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m); 9,12% para teor relativo de água (TRA); 13,98% para taxa de fotossintética (A); 24,31% para condutância estomática (g_s); 15,76% para transpiração foliar (E); e 8,88% para eficiência instantânea no uso da água (EIUA), respectivamente. Com base na classificação proposta por Scapim et al. (1995) e Pimentel-Gomes (1985), os valores dos CV'_s das características avaliadas estão dentro dos padrões normais de experimentação em milho, indicando boa precisão experimental dos dados.

Na Figura 2, observa-se que, em condições de estresse hídrico, a linhagem L5184180-04 destacou-se por apresentar o maior valor (48) de intensidade de verde, logo de teor relativo de clorofila. Fato não observado para a outra linhagem tolerante, quando esta é comparada com as linhagens sensíveis e a intermediária. Em ambiente irrigado, os maiores valores dessa variável foram observados nas linhagens L5184180-04, L176-11-2-1 e L3. As plantas com maior quantidade desse pigmento nos tecidos foliares apresentam maiores leituras dessa característica, e, portanto, pressupõe-se que tenham potencial para apresentar maior atividade fotossintética. Como relatado por Taiz e Zeiger (2010), as clorofilas são fundamentais no processo fotossintético, por serem responsáveis pela captação da energia luminosa e o direcionamento ao centro de reação dos

fotossistemas. No entanto, a mensuração dessa característica é, apenas, um fator, dentre vários, que estão associados a proporcionar uma maior eficiência fotossintética nas plantas.

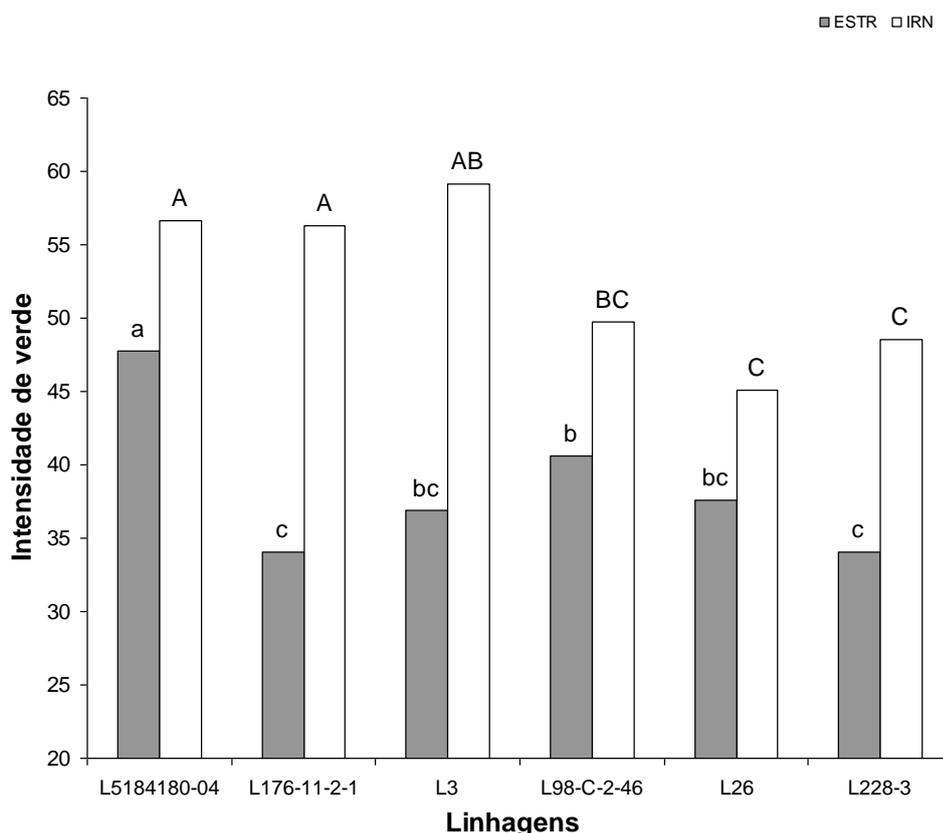


Figura 2 – Intensidade de verde (IV) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Pesquisas vêm sendo realizadas em diversas culturas com o medidor de clorofila Minolta SPAD-502 como ferramenta para estresses abióticos, como o hídrico e o de nitrogênio, pelas vantagens como a simplicidade no uso, além de possibilitar uma avaliação não-destrutiva do tecido foliar (Argenta et al., 2001; Zotarelli et al., 2003; Torres Netto et al. 2002; 2005).

As leituras de intensidade de verde, obtidas pelo medidor portátil SPAD-502, estão associadas a teor relativo de clorofilas totais nas folhas, conforme relatado por Argenta et al. (2001). As leituras mostradas no equipamento são

calculadas com base na quantidade de luz transmitida pela folha em dois comprimentos de ondas, 650nm (vermelho) e 940nm (infravermelho). Em milho, Gholamin e Khayatnezhad (2011), verificou-se que os genótipos com maior estimativa de clorofila foram mais tolerantes ao estresse hídrico, cuja variável apresentou alta correlação com a relação F_v/F_m (0,995**). Ainda, foi observada alta correlação entre essas características e o rendimento de grãos (0,88** e 0,745**, respectivamente), sendo, portanto, considerados bons parâmetros para avaliar a intensidade de estresse e auxiliar na seleção de genótipos mais tolerantes

Segundo Hendry e Price (1993), o teor de pigmentos fotossintéticos, principalmente as clorofilas, pode ser destruído por meio da ação de fatores do ambiente como deficiências minerais, estresse hídrico, poluição industrial e temperatura alta. Esse fato mostra que a determinação dos pigmentos fotossintéticos pode ser uma importante ferramenta no diagnóstico de estresse em plantas.

Quando comparado ao tratamento controle, o estresse hídrico proporcionou a todas as linhagens uma redução significativa ($P < 0,05$) das variáveis de trocas gasosas (A , g_s e E) (Figuras 3A, 3B e 3C). Tais resultados corroboram os encontrados por Ashraf et al., (2007), Grzesiak et al. (2006), Wang et al. (2008). Magalhães et al. (2009), avaliando linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância a seca, no florescimento, também verificaram que existem diferenças ecofisiológicas nas trocas gasosas e na fluorescência da clorofila, que caracterizam as linhagens tolerantes à seca em relação às linhagens sensíveis.

Na Figura 3A, relacionada à taxa fotossintética líquida, verifica-se que as linhagens L5184180-04, L176-11-2-1 e a L228-3 apresentaram valores superiores a demais linhagens em condições normais de irrigação. No entanto, quando todas as linhagens foram expostas à deficiência hídrica, a linhagem L176-11-2-1 foi a que apresentou maior valor, seguida da linhagem L5184180-04. Ambas consideradas tolerantes. As demais linhagens (L3, L98-C-2-46 e L26) apresentaram médias estatisticamente semelhantes para essa característica, mas, por sua vez, inferiores à das linhagens tolerantes juntamente com a linhagem sensível L228-3. Em ambos os níveis de disponibilidade hídrica, resultados semelhantes foram verificados para a condutância estomática (Figura 3B).

Com relação à transpiração foliar, observa-se que, em ambos os ambientes, com e sem estresse hídrico, a linhagem L176-11-2-1 apresentou a maior média, seguida das linhagens L5184180-04 e L228-3 (Figura 3C). Esse mesmo comportamento foi encontrado em trabalho realizado por Grzesiak et al. (2006). Em milho e tricale, sob condições de estresse prolongado, valores superiores de taxa fotossintética líquida, condutância estomática e transpiração foliar foram verificados em genótipos tolerantes em comparação aos sensíveis. Neste presente experimento com milho, na condição de limitação de água no solo, quando comparados às demais linhagens (intermediárias e sensíveis), os valores elevados de A , g_s e E dos genótipos tolerantes mostram que tais linhagens tolerantes não experimentaram, em grande intensidade, o estresse hídrico no tecido foliar, uma vez que os valores dessas variáveis foi bem maior. As características associadas ao comprimento total de raízes podem ter sido a justificativa para tal resposta, ou outros fatores associados à condutividade hidráulica de raízes, e/ou ajustamento osmótico, as quais não foram estudadas neste trabalho.

Nesse experimento, em condição de limitação hídrica do solo, os valores de A foram reduzidos. Para todas as linhagens estudadas, a resposta dos estômatos foi semelhante à resposta de A . Ou seja, os menores valores de A corresponderam a menores valores de g_s (Figura 3A e 3B). Esse fato mostra que, em todas as linhagens estudadas, os estômatos tiveram um efeito marcante no controle da assimilação fotossintética do carbono. Contudo, possivelmente, o estresse hídrico, também, causou decréscimo na concentração de clorofilas totais (Figura 2), o que evidencia que efeitos não-estomáticos, associados à ação desses pigmentos na fase fotoquímica (captura e uso da luz), também podem ter contribuído para a redução da taxa fotossintética líquida.

A queda da fotossíntese observada na Figura 3A, possivelmente, pode ser atribuída a uma limitação estomática, pois houve diferença significativa para níveis de disponibilidade hídrica aplicadas no solo (Tabela 2), no qual se pôde observar uma diminuição de condutância em condições de estresse hídrico (Figura 3B). Segundo Chaves (1991), o fechamento estomático é uma das primeiras respostas das plantas à deficiência hídrica, para evitar a desidratação dos tecidos. No entanto, são conhecidas múltiplas respostas das plantas ao estresse, surgindo da interação entre diferentes vias de sinalização, conforme

relatado por Chaves e Oliveira (2004). Esses autores ratificam a importância do conhecimento de sinais químicos sintetizados nas raízes e, posteriormente, transportados para a parte aérea através do xilema seiva. O entendimento dessa sinalização pode ser uma ferramenta importante para auxiliar na compreensão dos mecanismos de tolerância das plantas a estresse abiótico, como o hídrico.

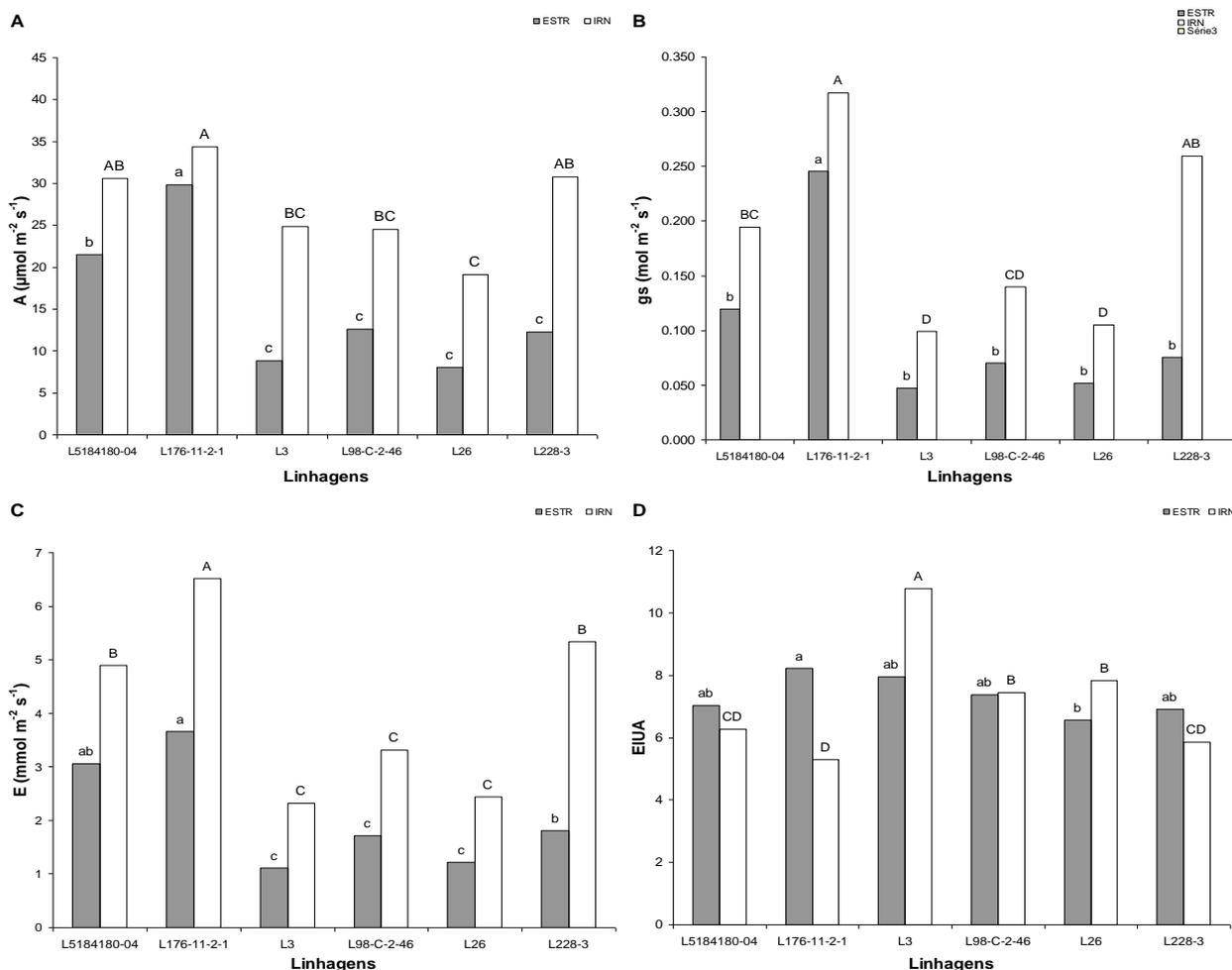


Figura 3 – (A) Taxa fotossintética líquida (A), (B) Condutância estomática (g_s), (C) Transpiração foliar (E), (D) Eficiência instantânea no uso da água (EIUA) de linhagens de milho submetidas a condições de estresse hídrico (ESTR) e sem estresse hídrico (IRN). Cada coluna representa a média das três repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula no tratamento ESTR ou maiúscula no tratamento IRN não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Sob déficit hídrico, a cultura do milho responde com uma série de alterações na morfofisiologia, na eficiência fotoquímica, no conteúdo de clorofila,

na condutância estomática, na taxa fotossintética, no ajustamento osmótico e na relação raiz/parte aérea, entre outros. Tais características vêm sendo utilizadas em programa de melhoramento genético como indicadores para seleção de genótipos para tolerância à seca (Ashraf et al., 2007).

Nesse experimento, quando submetidas à baixa disponibilidade hídrica no solo, as linhagens tolerantes L5184180-04 e a L176-11-2-1 apresentaram os maiores valores de A (21,5 e 29,9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e g_s (0,120 e 0,246 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente). Em trabalho realizado por Atteya (2003), o genótipo de milho GIZA2 mostrou-se o mais tolerante à seca por apresentar essa mesma resposta, que proporcionou uma menor perda de rendimento de grãos. A regulação estomática pode atuar nessa resposta, uma vez que uma maior abertura estomática permite um maior influxo de CO_2 para o mesófilo foliar, o que proporciona uma maior taxa fotossintética (Mohammadkani e Heidari, 2008). No tratamento com limitação hídrica do solo, uma observação interessante é que, juntamente com maiores valores de g_s , essas linhagens apresentaram valores altos de E (Figura 3D). Possivelmente a maior abertura dos estômatos proporcionou maior assimilação de CO_2 e, por sua vez, maiores perda de água para atmosfera. Tal resposta pode, novamente, mostrar que, comparando as linhagens tolerantes com as linhagens sensíveis, na condição de limitação hídrica, as linhagens tolerantes não experimentaram o estresse hídrico e mantiveram um bom estado hídrico. Como relatado anteriormente, os fatores relacionados a uma melhor condutividade hidráulica das raízes das plantas tolerantes podem estar atuando.

Estudos revelam que, além dos fatores estomáticos, os não-estomáticos, como redução da atividade e concentração de enzimas envolvidas no Ciclo de Calvin (ex. Ribulose 1-5 bifosfato carboxilase/oxigenase, denominada de Rubisco) (Parry et al., 2002), redução da eficiência fotoquímica do fotossistema II e a fotoinibição, também podem prejudicar a fotossíntese em condições de estresse hídrico (Kaiser, 1987; Flexas e Mendrano, 2002; Yordanov et al., 2003). No presente trabalho, apenas os fatores não-estomáticos, associados à concentração de clorofilas, atuaram como controladores da taxa fotossintética líquida (Figura 2), uma vez que a eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) não apresentou diferenças significativas entre genótipos (Tabela 2). Contudo, nada impede de postular que outros efeitos não-estomáticos, associados à redução na atividade

de enzimas envolvidas na assimilação fotossintética do carbono, também podem ter atuado. Entretanto, tais técnicas não fizeram parte do escopo deste trabalho.

Em condições de deficiência hídrica, como pode ser observada na Figura 3D, a linhagem L176-11-2-1 apresentou maior eficiência instantânea no uso da água. Tal resultado foi devido aos elevados valores de A proporcionados pelos maiores de g_s , sugerindo um menor consumo de água por unidade de CO_2 assimilado. Por sua vez, neste trabalho, essa característica não foi considerada eficiente para discriminar as linhagens tolerantes das sensíveis. A linhagem L26 apresentou o menor valor de EIUA, devido aos elevados valores de E , sugerindo uma maior perda de água para atmosfera por unidade de CO_2 assimilado. Essa maior eficiência do uso da água pelas linhagens eficientes, também, foi encontrada por Magalhães et al. (2009) e Hund et al. (2009) em plantas de milho.

A busca de respostas diferentes entre genótipos em relação ao estresse hídrico pode ser fundamental em programas de melhoramento genético da espécie *Zea mays*. Assim, características morfofisiológicas, como teor relativo de clorofila, trocas gasosas e eficiência fotoquímica, concomitantemente com o estudo do sistema radicular, podem se tornar ferramentas potenciais a auxiliar os programas de melhoramento que visam ao melhor entendimento dos mecanismos fisiológicos de adaptação de milho às condições de deficiência hídrica no solo.

3.3.6. CONCLUSÕES

1- Existe variabilidade genética entre as linhagens contrastantes de milho quanto à tolerância ao estresse hídrico para discriminação de plantas com base nas características relacionadas às trocas gasosas estudadas (A , g_s , E e EIUA).

2- Plantas de milho submetidas ao estresse hídrico apresentaram alterações nas variáveis de trocas gasosas. Houve diminuição nas taxas fotossintética líquida (A), devido a alterações na condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E).

3- Existem diferenças nas trocas gasosas que caracterizam as linhagens tolerantes à seca em relação às linhagens sensíveis.

4- Os resultados indicaram superioridade das linhagens tolerantes L5184180-04, L176-11-2-1 em comparação às linhagens sensíveis, por apresentarem maiores valores de A e g_s , quando submetidas à baixa disponibilidade hídrica no solo. Possivelmente, tais linhagens, na condição de limitação hídrica, não experimentaram um estresse hídrico severo ao ponto de comprometer as trocas gasosas. Em trabalhos anteriores, o comprimento total de raízes pode ser um fator que contribuiu para tal fato.

3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anjum, S.A.; Xie, X.; Wang, L.-C.; Saleem, M.F.; Man, C.; Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, V. 6(9): 2026-2032.

Argenta, G.; Silva, P.R.F. da; Bortolini, C.G. (2001) Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. *Ciência Rural*, 31(4): 715-722.

Ashraf, M.; Nawazish, S.; Athar, H.U.R. (2007) Are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 39(4): 1123-1131.

Atteya, A. M. (2003) Alteration of water relations and yield of corn genotypes in response to drought stress. *Bulgarian Journal Plant Physiology*, 29: 63–76.

Baker, N.R.; Rosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1607–1621.

- Bänzinger, M.; Edmeades, G.O.; Beck, D.; Bellon, M. (2000) Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico, D.F.: CIMMYT, 1-68p.
- Bòlhar-Nordenkampf, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Öquist, G., Schreiber, U., Lechner, E.G. (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. *Func. Ecol.* 3:497-514.
- Bray, E.A. (1993) Molecular Responses to water deficit. *Plant Physiology*, 103:1035-1040.
- Çakir, R. (2004) Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, 89: 1–16.
- Chaves, J.E.B.; Oliveira, M.M. (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 55(407): 2365-2384.
- Chaves, M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42:1-16.
- Chaves, M.M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103: p.551-560.
- Cruz, C.D. (2006) *Programa Genes: biometria*. Viçosa: UFV, 382p.
- Embrapa (1999) Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, 412p.
- Flexas, J., Medrano, H. (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals Botany*, 89: 183-189.

- Gholamin, R.; Khayatnezhad, M. (2011) The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars. *Scientific Research and Essays*, v.6(25): 5351-5357.
- Grzesiak, M.T.; Grzesiak, S.; Skoczowski, A. (2006) Changes of leaf water potential and gas exchange during after drought in tricale and maize genotypes differing in drought tolerance. *Photosynthetica*, 44(4): 561-568.
- Hund, A.; Ruta, N.; Liedgens, M. (2009) Rooting depth and water efficiency of tropical maize inbred lines, differing in drought tolerance. *Plant Soil*, 318: 311-325.
- Kaiser, W. M. (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71, n.2, p. 142-149.
- Lawlor, D. W., Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. *Plant Cell Environ*, 25: 275–294.
- Magalhães, P.C.; Souza, T.C. de; Albuquerque, P.E.P. de; Karam, D.; Magalhães, M.M.; Cantão, F.R. de O. (2009) Caracterização ecofisiológica de linhagens de milho submetidas a baixa disponibilidade hídrica durante o florescimento. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 8(3): 223-232.
- Mohammadkhani, N.; Heidari, R. (2008) Water stress induced stomatal closure in two maize cultivars. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(7): 750-754.
- Parry, M.A.J.; Andralojc, P.J.; Khan, S.; Lea, P.J.; Keys, A.J. (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany*, 89: 833-839.
- Pimentel-Gomes, F. (1985) Curso de estatística experimental. São Paulo: Esalq, 467 p.

- Rahaman, M.U.; Gul, S.; Ahmad, I. (2004) Effects of water stress on growth and photosynthetic pigments of corn (*Zea mays* L.) cultivars. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(4): 652-655.
- Sayed, O.H. (2003) Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*, 41(3): 321-330.
- Scapim, C.A., Carvalho, C.G.P., Cruz, C.D. (1995) Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 30 (5):683-686.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*, Fifth edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. (In press), 690p.
- Torres Netto, A.; Campostrini, E.; Oliveira, J.G. de; Yamanishi, O.K. (2002) Portable chlorophyll content meter: quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and possible use for assesment of the photochemical process in *Carica papaya*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Unicamp, 14(3): 143-150.
- Torres Netto, A.; Campostrini, E.; Oliveira, J.G. de; Smith, R.E.B. (2005) Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 104: 199-209.
- Wang, B.; Zhaohu, L.; Eneji, E.; Tian, X.; Zhai, Z.; Li, J.; Duan, L. (2008) Effects of coronatine on growth, gas exchange traits, chlorophyll content, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in maize (*Zea mays* L.) seedlings under simulated drought stress. *Plant Production Science*, 11(3): 283-290.
- Weatherley, P.E. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist*, 49: p.81-97.

Yordanov, (2003) Plants responses to drought and stress tolerance. *Bulg. J. Plant Physiol.*, p.187-206.

Zhang, J.; Nguyen, H.T.; Blum, A. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 50(332): 291-302.

Zotarelli, L.; Cardoso, E.G.; Piccinin, J.L.; Urquiaga, S., Boddey, R.M.; Torres, E.; Alves, B.J.R. (2003) Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do contudo de nitrogênio do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Notas Científicas. Brasília, 38(9): 1117-1122.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O estresse hídrico é um dos fatores abióticos mais limitantes para produtividade vegetal, e, dessa forma, a obtenção pelos melhoristas de genótipos tolerantes e/ou eficientes vem se tornando de suma importância para a sustentabilidade ambiental, além de vantajosa do ponto de vista econômico. Visando à continuidade do Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo para obtenção de genótipos tolerantes à deficiência hídrica, bem como o entendimento de mecanismos fisiológicos que contribuem para essa tolerância, foram implementados três experimentos. No primeiro experimento, objetivou-se estimar a capacidade combinatória de oito linhagens de milho sob restrição hídrica no solo, visando ao entendimento do controle genético da produtividade de grãos e outras características morfo-agronômicas nessa condição de estresse, e a identificação das melhores genitores e combinações para o programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. Para tanto, utilizaram-se, no dialelo, três linhagens tolerantes ao déficit hídrico (L5184180-04, L176-11-2-1, e L531164), duas intermediárias (L3 e L20) e três linhagens sensíveis (L26, L98-C-2-46 e L228-3). As respectivas combinações híbridas foram avaliadas em delineamento em látice, com três repetições, em ambiente submetido a estresse hídrico no campo experimental em Janaúba-MG. Em 2011, foram avaliadas dez características morfo-agronômicas. Em concomitância com o primeiro experimento, foi realizado o segundo experimento, em que se objetivou a avaliação da morfologia radicular de seis linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico e, no terceiro experimento objetivou-se a

avaliação das características de trocas gasosas e eficiência fotoquímica dessas mesmas linhagens de milho contrastantes. Em ambos os experimentos, foram avaliadas seis linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, sendo duas linhagens tolerantes (L176-11-2-1, L5184180-04), uma intermediária (L3), e três linhagens sensíveis ao déficit hídrico (L98-C-2-46, L26, L228-3), em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 6x2, sendo seis genótipos e dois níveis de disponibilidade hídrica, com três repetições. Os tratamentos foram considerados sem estresse hídrico (IRN), em que a reposição diária de água foi realizada até o solo atingir a umidade na capacidade de campo, ou seja, 100% de reposição, e o tratamento com estresse hídrico (ESTR), que foi feito com a reposição hídrica realizada diariamente, aplicando-se 50% da água total disponível, ou seja, a reposição de água foi feita até o potencial da água no solo atingir, aproximadamente, -70 kPa, cujo valor corresponde ao solo especificado.

De forma sucinta, as conclusões foram:

- a) Os efeitos aditivos, proporcionalmente, foram mais importantes do que os não-aditivos para as características IV, FF, FM, IF, AP, AE, %AC+QB e IE;
- b) Evidencia-se a ação de genes de efeitos dominantes no controle da produtividade de grãos;
- c) As linhagens L176-11-2-1 (L_2) e L531164 (L_3) mostraram-se superiores para formação de híbridos com maior tolerância ao estresse hídrico.
- d) As combinações híbridas $L_3 \times L_5$ e $L_3 \times L_8$ apresentaram maiores médias de produtividade de grãos e índice de espigas, tornando-se materiais promissores em programas de melhoramento genético, visando à tolerância a estresse hídrico;

- e) Existe variabilidade genética entre as linhagens de milho para discriminar plantas com base nas características de morfologia de raiz (CTR, DMR, ASR, VTR, CRMF, CRF, CRG, ASMF, ASF e ASG);
- f) As características CTR e relação MSR/MSPA foram as promissoras na diferenciação de genótipos de milho para tolerância ao estresse hídrico;
- g) Esta técnica mostrou-se como uma ferramenta promissora, uma vez que ela permite avaliar várias características relacionadas aos estudos de raízes em fase precoce do milho. Contudo, necessita-se de continuidade nos estudos em programas de melhoramento genético para melhor entender os mecanismos de adaptação do milho sob baixa disponibilidade hídrica no solo;
- h) Existe variabilidade genética entre as linhagens contrastantes de milho quanto à tolerância ao estresse hídrico para discriminação de plantas com base nas características relacionadas às trocas gasosas estudadas (A, g_s , E e EIUA);
- i) Plantas de milho submetidas ao estresse hídrico apresentaram alterações nas variáveis de trocas gasosas. Houve diminuição nas taxas fotossintética líquida (A), devido a alterações na condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E);
- j) Existem diferenças nas trocas gasosas que caracterizam as linhagens tolerantes à seca em relação às linhagens sensíveis;
- k) Os resultados indicaram superioridade das linhagens tolerantes L5184180-04, L176-11-2-1 em comparação às linhagens sensíveis, por apresentarem maiores valores de A e g_s , quando submetidas à baixa disponibilidade hídrica no solo. Possivelmente, tais linhagens, na condição de limitação hídrica, não experimentaram um estresse hídrico severo ao ponto de comprometer as trocas gasosas. Em trabalhos anteriores, o comprimento total de raízes pode ser um fator que contribuiu para tal fato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, C.G.; Scapim, C.A.; Pinto, R.J.B.; Amaral Junior, A.T.; Silvério, L.; Andrade, C.A. de B. (2004) Análise dialéctica de linhagens de milho na safrinha. *Ciência Rural*, Santa Maria, 34(6): 1731-1737.
- Alberte, R.S.; Thornber, J.P. (1977) Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiology*, 59: 351-353.
- Alves, G.F. (2006) *Relações entre seleção de testadores de milho e suas divergências genéticas*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/ USP, 145p.
- Anjum, S.A.; Xie, X.; Wang, L.-C.; Saleem, M.F.; Man, C.; Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9): 2026-2032.
- Argenta, G.; Silva, P.R.F. da; Bortolini, C.G. (2001) Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. *Ciência Rural*, 31(4): 715-722.

- Ashraf, M.; Nawazish, S.; Athar, H.U.R. (2007) Are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 39(4): 1123-1131.
- Aslam, M.; Tahir, M.H.N. (2003) Correlation and Path Coefficient Analysis of Different Morpho-Physiological Traits of Maize Inbreds under Water Stress Conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*. 5(4): 446-448.
- Atteya, A. M. (2003) Alteration of water relations and yield of corn genotypes in response to drought stress. *Bulgarian Journal Plant Physiology*, 29: 63–76.
- Baker, N.R.; Rosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1607–1621.
- Bänziger, M.; Mugo, S.; Edmeades, G.O. (2000) Breeding for drought tolerance in tropical maize - conventional approaches and challenges to molecular approaches, p.69-72 In: Ribaut, J.-M. and Poland, D. (eds.), *Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments. A Strategic Planning Workshop held at CIMMYT, El Batan, Mexico, 21-25 June 1999*. Mexico D.F.: CIMMYT.
- Bänzinger, M.; Edmeades, G.O.; Beck, D.; Bellon, M. (2000) Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico, D.F.: CIMMYT, 1-68p.
- Barnabás, B.; Katalin, J.; Fehér, A. (2008) The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell and Environment*: 31: 11 -38.
- Bauhus, J.; Christian, M. (1999) Evaluation of fine root length and diameter measurements obtained using WinRhizo image analysis. *Agronomy Journal*, Madison, 91(1): 142-147.

- Bergamaschi, H.; Dalmago, G.A.; Bergonci, J.I.; Bianchi, C.A.M.; Müller, A.G.; Comiran, F.; Heckler, B.M.M. (2004) Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 39(9):831-839.
- Bhom, W. (1979) *Methods of studying root systems*. New York: Springer-Verlag, 189p.
- Bianchi, C.A.M.; Bergonci, J.I.; Bergamaschi, H.; Dalmago, G.A. (2005) Ajuste osmótico em milho cultivado em diferentes sistemas de manejo de solo e disponibilidade hídrica. *Pesquisa. Agropecuária Brasileira*, Brasília, 40(7): 645-651.
- Blum, A. (2005) Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*, 56: 1159–1168.
- Bòlhar-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Öquist, G., Schreiber, U., Lechner, E.G. (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. *Func. Ecol.* 3:497-514.
- Bordallo, P.N., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T. do, Gabriel, A.P.C. (2005) Análise dialéctica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 23(1):123-127.
- Borém, A.; Giúdice, M.P. del (2004) Cultivares Transgênicos. In: Galvão, J.C.C.; Miranda, G.V. (eds) *Tecnologias de Produção do Milho*. 20.ed. Viçosa:UFV, p.85-108.
- Bouma, T.J.; Nielson, K.L.; Koutstaal, B.A.S. (2000) Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*, Dordrecht, 218: 185-196.

- Bray, E.A. (1993) Molecular Responses to water deficit. *Plant Physiology*, 103:1035-1040.
- Bray, E.A. (1997) Plant responses to water deficit. *Trends in plant science*, 2(2): 48-54.
- Buckler, E.S.; Stevens, N.M. (2005) *Maize Origins, Domestication, and Selection*. In: Genetics and origins of crops. Chapter IV, p.67-90.
- Çakir, R. (2004) Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, 89: 1–16.
- Câmara, T.M.M.; Bento, D.A.V.; Alves, G.F.; Santos, M.F.; Moreira, J.U.V.; Júnior, C.L. de S. (2007) Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. *Bragantia*, Campinas, 66(4): 595-603.
- Campostrini, E. (2001) *Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas*. Disponível em<<http://www.uenf.br/downloads/ApostiladeFluorescencia.pdf>>. Acesso em: 03. jan. 2012.
- Cantão, F.R. de O. (2007) *Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio*. Tese (Mestrado em Agronomia) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 98p.
- Cantão, F.R.O.; Durães, F.O.M.; Oliveira, A.C. de; Soares, A.M.; Magalhães, P.C. (2008) Morphological attributes of root system of maize genotypes contrastins in drought tolerance due to phosphorus stress. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 7(2): 113-127.

- Carlesso, R.; Zimmermann, L.F. (2000) *Água no solo: parâmetros para dimensionamento de sistemas de irrigação*. Santa Maria: Imprensa Universitária, 88p.
- Carvalho, L.P. de.; Moraes, C.F.de; Cruz, C.D. (1994) Capacidade de combinação e heterose em algodoeiro herbáceo. *Revista Ceres*, 41(237):514-527.
- Chaves, J.E.B.; Oliveira, M.M. (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 55(407): 2365-2384.
- Chaves, M.; Davies, B. (2010) Drought effects and water use efficiency: improving crop production in dry environments. *Functional Plant Biology*, 37, p.3–6.
- Chaves, M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42:1-16.
- Chaves, M.M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103: p.551-560.
- Chaves, M.M.; Maroco, J.P.; Pereira, J.S. (2003) Understanding plant response to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30:239-264.
- Chaves, M.M.; Pereira, J.S.; Rodrigues, M.L.; Ricardo, C.P.P.; Osório, M.L.; Carvalho, I.; Faria, T.; Pinheiro, C. (2002) How plants cope with water stress in the Field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89:907-916.
- CIB - CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. Disponível em: <http://www.cib.org.br>. Acesso em: 07 outubro 2008.
- CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos (2008/2009). Brasília, 24p. 2009.

- Costa, C.; Dwyer, L.M.; Zhou, X.; Dutilleul, P.; Hamel, C.; Reid, I.M.; Smith, D.L. (2002) Root morphology of contrasting maize genotypes. *Agronomy Journal*, Madison, 94(1): 96-101.
- Costa, R.C.L. da (1999) *Assimilação de nitrogênio e ajustamento osmótico de plantas noduladas de feijão-de-corda (Vigna unguiculata (L.) Walp submetidas ao estresse hídrico. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, 235p.*
- Cruz, C.D. (2006) *Programa Genes: Biometria*. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p.
- Cruz, C.D. (2007) Programa GENES. *Aplicativo computacional em genética e estatística*. Viçosa:UFV. Versão 2007.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (1997) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa:UFV, 380p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 390p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. v.1, 3. ed. Viçosa: UFV, 480p.
- Davies, W.J.; Zhang, J. (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 42: 55-76.
- Davis, R.L. (1927) Report of the plant breeder. *Puerto Rico Agr. Exp. Sta. Ann. Rpt.*, p.14-15.
- Doebley, J.F.; Iltis, H.H. (1980) Taxonomy of *Zea* (Graminea). I. A subgeneric classificatio with key to taxa. *Annals Journal Botany*, 67(6): 982-993.

- Durães, F.O.M.; Magalhães, P.C.; Oliveira, A.C. de; Santos, M.X. dos; Gomes, E.E.; Guimarães, C.T. (2002) Combining ability of tropical maize inbred lines under drought stress conditions. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(2): 291-298.
- Durães, F.O.M.; Magalhães, P.C.; Santos, M.X.; Lopes, M.A.; Paiva, E. (1998) Intervalo entre florescimentos masculino e feminino como parâmetro fenotípico útil ao melhoramento de milho tropical para tolerância à seca. pp. 27. *In: Resumos do Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 22*, Recife: IPA.
- Durães, F.O.M.; Santos, M.X.dos; Gama, E.E.G.; Magalhães, P.C.; Albuquerque, P.E.P.; Guimarães, C.T. (2004) *Fenotipagem associada à tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores*. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 35), 20 p.
- Efeoğlu, B.; Ekmekçi, Y.; Çiçek, N. (2009) Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany* , 75: 34–42.
- Eissenstat, D. M.; Wells, C. E.; Yanai, R. D. (2000) Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, Oxford, 147(1): 33-42.
- Eissenstat, D.M. (1997) Trade-offs in root form and function. In: Jackson, I.E. (ed). *Ecology in Agriculture*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 173-179.
- Embrapa (1999) Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, 412p.
- Falconer, D.S.; Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*. 4ed.; London: Longman Scientific e Technical, 464p.
- Fancelli, A.L., Dourado Neto, D. (2005) *Milho: Tecnologia & Produção*. Piracicaba: ESALQ/USP/LVP, 149p.

- Fao (2011) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Versão eletrônica. Disponível em: < [http\www.fao.org.br](http://www.fao.org.br)>. Acesso em: Dezembro de 2011.
- Fernández, C.J.; McInnes, K.J.; Cothren, J.T. (1996) Water status and leaf area production in water-and nitrogen-stressed cotton. *Crop Science*, Madison, 36: 914-921.
- Ferreira, E.A.; Guimarães, P.S.; Silva, R.M.; Paterniani, M.E.A.G.Z. (2008) Capacidade combinatória de linhagens de milho de germoplasma tropical e temperado e heterose dos híbridos simples. *Revista Biociência*, Unitau, 1(14): 32-40.
- Ferreira, V.M., Magalhães, P.C., Durães, F.O.M., Oliveira, L.E.M., Purcino, A.A.C. (2002) Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Ciência Rural*, 32 (1):13-17.
- Flexas, J., Medrano, H. (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals Botany*, 89: 183-189.
- Flexas, J.; Bota, J.; Cifre, J.; Escalona, J. M.; Galmés, J.; Gulias, J.; Lefi, E.K.; Martinez-Canellas, S. F.; Moreno, M. T.; Ribas-Carbo, M.; Riera, D.; Sampol, B.; Medrano, H. (2004). Understanding down regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals Applied Biology*, 144, p. 273–283.
- Gahoonia, T.S.; Nielsen, N.E. (2004) Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties. *Plant and Soil*, 260: 47-57.
- Galinat, W.C. (1973) Intergenomic mapping of maize, teosinte, and tripsacum. *Evolution*, 27:644-655.

- Galinat, W.C. (1977) The origin of corn. *In*: Sprague, G.F. (ed.) *Corn and corn improvement*. New York, Academic Press, p.1-48.
- Galmés, J.; Ribas-Carbó, M.; Medrano, H.; Flexas, J. (2010) Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress. *Journal of Experimental Botany*, 1-13.
- Galon, L.; Tironi, S.P.; Rocha, A.A. da; Soares, E.R.; Concenço, G.; Alberto, C.M. (2010) Influência dos fatores abióticos na produtividade da cultura do milho. *Revista Tropicana – Ciências Agrárias e Biológicas*. 4(3): 18-38.
- Gardner, C.O., Eberhart, S.A. (1966) Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, North Caroline, 22:439-452.
- Ghannoum, O. (2009) C4 photosynthesis and water stress. *Annals of Botany*, 103: 635–644.
- Gholamin, R.; Khayatnezhad, M. (2011) The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars. *Scientific Research and Essays*, 6(25): 5351-5357.
- Gomes, P.H.F.; Mendes, F.F.; Parentoni, S.N.; Guimarães, L.J.;M.; Guimarães, P.E.O.; Oliveira, K.G.; Reis, D.P.; Tavares, R.B. (2011) Caracterização de Híbridos de Milho quanto à Tolerância ao Estresse Hídrico. *In*: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Búzios. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas.
- Goodman, M.M. (1980) História e Origem do Milho. *In*: Paterniani, E. (Ed.). *Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas, Fundação Cargill, p. 1-31.

- Gouvêa, J.R.F. (2008) *Mudanças climáticas e a expectativa de seus impactos na cultura da cana de açúcar na região de Piracicaba, SP*. Tese de Mestrado – Piracicaba - SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, 98p.
- Grant, R.F. (1992) Interaction between carbon dioxide and water deficits affecting canopy photosynthesis: simulation and testing. *Crop Science*, Madison, 32:1322-1328.
- Griffing, B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Australian Journal Biology Science*, East Melbourne, 9:462-493.
- Grzesiak, M.T.; Grzesiak, S.; Skoczowski, A. (2006) Changes of leaf water potential and gas exchange during after drought in tricale and maize genotypes differing in drought tolerance. *Photosynthetica*, 44(4): 561-568.
- Guei, R.G.; Wassom, C.E. (1993) Genetics of osmotic adjustment in breeding maize for drought tolerance. *Heredity*, 71: 436-441.
- Gustafson, D.I. (2011) Climate change: a crop protection challenge for the twenty-first century. Published online wileyonlinelibrary.com/journal/ps. *Pest Management Science*; 67: 691–696.
- Hallauer, A.R.; Miranda Filho, J.B. (1988) *Quantitative genetics in maize Breeding*. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 468p.
- Hayman, B.I. (1954) The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, Austin, 39:789-809.
- Hendry, G.A.F., Price, H. (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (eds.). *Methods in comparative plant ecology*. London: Chapman & Hall, 148-152.

- Himmelbauer, M.L.; Loiskandl, W.; Kastanek, F. (2004) Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses systems. *Plant and Soil*, 260: 111-120.
- Hoogenboom, G.; Huck, M.G.; Peterson, C.M. (1987) Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, Madison, 79: 697-614.
- Hund, A.; Ruta, N.; Liedgens, M. (2009) Rooting depth and water efficiency of tropical maize inbred lines, differing in drought tolerance. *Plant Soil*, 318: 311-325.
- Hura, T.; Hura, K.; Grzesiak, M.; Rzepka, A. (2007) Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C3 and C4 plants. *Acta Physiol Plant*, 29:103–113.
- IBGE (2011) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola*. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201111.pdf>. Acesso em 04 de jan. 2012.
- Imada, S.; Yamanaka, N.; Tamai, S. (2008) Water table depth effects *Populus alba* fine root growth and whole plant biomass. *Functional Ecology*, London, 22(6): 1018-1026.
- IPCC (2011) Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate change Reconsidered: 2011 Interim Report of the Nongovernmental International Panel on Climate Change* (NIPCC). Craig, D.I.; Robert, M.C.; Singer, S.F. (Eds.). Chicago, IL: The Heartland Institute, 416p. Disponível em: <<http://www.nipccreport.org/reports/2011/2011report.html>>

- Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Jasim Al-Juburi, H.J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. (2009) Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture & biology*, 11(1): 100–105
- Kaiser, W. M. (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71, n.2, p. 142-149.
- Khan, M.B.; Hussain, N.; Iqbal, M. (2001) Effect of water stress on growth and yield components of maize variety Yhs 202. *Journal of Research Science*, 12(1): 15-18.
- Kramer, P.J.; Boyer, J.S. (1995) *Water relations of plant and soils*. New York: Academic Press, 495p.
- Larcher, W. (1995) *Physiological Plant Ecology*. 3 ed. Berlin: Springer Verlage, 506p.
- Larcher, W. (2004) *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Rima, 531p.
- Lawlor, D. W.; Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25: 275–294.
- Lawlor, D.W. (1993) *Photosynthesis: metabolism, control and physiology*. Longman Publication. Harlow, 282p.
- Lawlor, D.W. (2002) Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals Botany*, 89: 871-85.
- Lima, M.A. de (2002) Agropecuária brasileira e as mudanças climáticas globais: caracterização do problema, oportunidades e desafios. *Cadernos de Ciência e Tecnologia, Brasília*, 19(3):451-472.

- Lombardini, L. (2006) Ecophysiology of plants in dry environments. D'Odorico, P.; Porporato, A. (Eds) Chapter 4. In: *Dryland Ecohydrology*, Springer, Printed in the Netherlands, 47-65.
- Magalhães, P.C.; Durães, F.O.M.; Carneiro, N.P.; Paiva, E. (2002) *Fisiologia do Milho*. 1 ed. Sete Lagoas: Circular Técnica, Embrapa Milho e Sorgo. 23p.
- Magalhães, P.C.; Souza, T.C. de; Albuquerque, P.E.P. de; Karam, D.; Magalhães, M.M.; Cantão, F.R. de O. (2009) Caracterização ecofisiológica de linhagens de milho submetidas a baixa disponibilidade hídrica durante o florescimento. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 8(3): 223-232.
- Magalhães, P.C.; Souza, T.C.; Cantão, F.R.O. (2011) Early evaluation of root morphology of maize genotypes under phosphorus deficiency. *Plant Soil Environment*, 57 (3): 135–138.
- Mahouachi, J; Socorro, A.R.; Talon, M. (2006) Responses of papaya seedlings (*Carica papaya* L.) to water stress and re-hydration: growth, photosynthesis and mineral nutrient imbalance. *Plant and Soil*, 281:137–146.
- Maia, P.S.P.; Neto, C.F.O.; Castro, D.S.; Freitas, J.M.N.; Lobato, A.K.S.; Costa, R.C.L. (2007) Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. *Revista Brasileira de Biociências* (Nota Científica), Porto Alegre, 5:918-920.
- Mangesdorf, P.C. (1974) *Corn its origin, evolution and improvement*. Cambridge: Harvard University Press, 262p.
- Matzenauer, R.; Bergamaschi, H.; Berlato, M.A.; Riboldi, J. (1995) Relações entre rendimento de milho e variáveis hídricas. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, 3:85-92.

- Medici, L.O.; Azevedo, R.A.; Canellas, L.P.; Machado, A.T.; Pimentel, C. (2007) Stomatal conductance of maize under water and nitrogen deficits. *Notas Científicas. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 42(4): 599-601.*
- Miranda Filho, J.B.; Geraldi, I.O. (1984) An adapted model for the analysis of partial diallel crosses. *Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 7: 677-688.*
- Mohammadkhani, N.; Heidari, R. (2008) Water stress induced stomatal closure in two maize cultivars. *Research Journal of Biological Sciences, 3(7): 750-754.*
- Morizet, J.; Togola, D. (1984) Effect et arrière-effect de la sécheresse sur la croissance de plusieurs génotypes de maïs. *In: Conférence internationale des irrigations et du drainage. Versailles. Les besoins en eau des cultures. Paris: INRA. p.35-360.*
- Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S. Valadaris-Inglis, M.C. Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas. Rondonópolis. Fundação mt. 2001 1183 p.
- Neill, S.; Barros, R.; Bright, J.; Desikan, R.; Hancock, J.; Harrison, J.; Morris, P.; Ribeiro, D.; Wilson, I. (2008) Nitric oxide stomatal closure, and abiotic stress. *Journal of Experimental Botany, 59(2): 165-176.*
- O'Neill, P.M.; Shanahan, J.F.; Schepers, J.S. (2006) Use of Chlorophyll Fluorescence Assessments to Differentiate Corn Hybrid Response To Variable Water Conditions. *Crop Science, 46:681–687.*
- Paini, J.N.; Cruz, C.D.; Delboni, J.S.; Scapim, C.A. (1996) Capacidade combinatória e heterose em cruzamentos intervarietais de milho avaliados sob condições climáticas da região sul do Brasil. *Revista Ceres. 43(247): 288-300.*

- Parry, M.A.J.; Andralojc, P.J.; Khan, S.; Lea, P.J.; Keys, A.J. (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany*, 89: 833-839.
- Paterniani, E.; Campos, M.S. (1999) Melhoramento do milho. In: Borém, A. *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa, [s.n.], p. 429-485.
- Pereira, P.G.; Bergonci, J.I.; Bergamaschi, H.; Rosa, L.M.G.; França, S. (2003) Efeitos de diferentes níveis de déficit hídrico na fotossíntese e condutância foliar em milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, 11(1):53-62.
- Pimentel, C. (1999) Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(11): 2021-2027.
- Pimentel, C. (2011) Metabolismo de carbono de plantas cultivadas e o aumento de CO₂ e de O₃ atmosférico: situação e previsões. *Bragantia*, Campinas, 70(1): 1-12.
- Pimentel, C.; Rossiello, R.O.P. (1995) Entendimento sobre relações hídricas. In: *Simpósio Internacional sobre estresse ambiental: o milho em perspectiva*. Belo Horizonte, MG. Anais. Embrapa/CNPMS, 1:131-146.
- Pimentel-Gomes, F. (1985) Curso de estatística experimental. São Paulo: Esalq, 467 p.
- Pimentel-Gomes, F.; Garcia, C.H. (1991) Experimentos em látice: planejamento e análise por meio de “pacotes” estatísticos. *Série Técnica IPEF*, Piracicaba, 7(23): 1-69.
- Rahaman, M.U.; Gul, S.; Ahmad, I. (2004) Effects of water stress on growth and photosynthetic pigments of corn (*Zea mays* L.) cultivars. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(4): 652-655.

- Ramalho, M.P.A., Santos, J.B. dos, Zimmermann, M.J.O. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao feijoeiro*. Goiânia: UFG, 271p.
- Reis, D.P. dos; Soares, F.R.; Oliveira, K.G. de; Mendes, F.F.; Guimarães, L.J.M.; Guimarães, P.E.O.; Parentoni, S.N.; Gomes, P.H.F.; Tavares, R.B. (2011) Correlações entre características de milho sob estresse hídrico. In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Búzios. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas.
- Restle, J.; Neumann, M.; Brondani, I.L.; Pascoal, L.L.; Silva, J.H.S.; Pellegrini, L.G.; Souza, A.N.M. (2002) Manipulação da Altura de Corte da Planta de Milho (*Zea mays*, L.) para Ensilagem Visando a Produção do Novilho Superprecoce. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(3): 1235-1244.
- Rezaeieh, K.A.; Eivazi, A. (2011) Evaluation of morphological characteristics in five Persian maize (*Zea mays* L.) under drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(18): 4409-4411.
- Ryser, P. (2006) The mysterious root length. Commentary. *Plant Soil*, 286: 1-6.
- Sage, R.F.; Zhu, X.G. (2011) Exploiting the engine of C4 photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 62(9): 2989–3000.
- Santos, R.F.; Carlesso, R. (1998) Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, 2(3):287-294.
- Sayed, O.H. (2003) Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*, 41(3): 321-330.

- Scapim, C.A., Carvalho, C.G.P., Cruz, C.D. (1995) Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 30 (5):683-686.
- Schimildt, E.R.; Cruz, C.D.; Zanuncio, J.C.; Pereira, P.R.G.; Ferrão, R.G. (2001) Avaliação de métodos de correção do estande para estimar a produtividade em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 36(8): 1011-1018.
- Scott, A.J.; Knott, M.A. (1974) A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Raleigh, 30(3): 507-512.
- Serraj, R.; Sinclair, T.R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25:333-341.
- Shiri, M.; Aliyev, R.T.; Choukan, R. (2010) Water stress effects on combining ability and gene action of yield and genetic properties of drought tolerance indices in maize. *Research Journal of Environmental Sciences*, 4(1): 75-84.
- Silva, H.D.; Ferreira, D.F.; Pacheco, A.P.P.(2000) Avaliação de quatro alternativas de análise de experimentos em látice quadrado quanto à estimação de componentes de variância. *Bragantia*, Campinas, 59(1): 117-123.
- Silva, M.A.; Santos, C.M. dos; Labate, C.A.; Guidetti-Gonzalez, S.; Borges, C.A.; Ferreira, L.C.; DeLima, R.O.; Fritsche-Neto, R. (2011) Melhoramento para eficiência no uso da água. *In: Fritsche-Neto e Borém (eds) Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos*. 2.ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p.127-150.
- Soares, M.O.; Marriel, I.E.; Magalhães, P.C.; Guimarães, L.J.M.; Cantão, F.R.O.; Rocha, M.C. da; Junior, G.A.C.; Miranda, G.V. (2009) Discriminação de linhagens de milho quanto à utilização de nitrogênio, por meio da avaliação de características do sistema radicular. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 8(1): 93-103.

- Souza, L.V. de; Miranda, G.V.; Galvão, J.C.C.; Guimarães, L.J.M.; Santos, I.C. dos (2009) Combining ability of maize grain yield under different levels of environmental stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 44(10): 1297-1303.
- Souza, P.M. de, Braga, M.J. (2005) Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil. *In: Galvão, J.C.C., Miranda, G.V. (eds.) Tecnologias de Produção do Milho*. 20.ed. Viçosa:UFV, p.13-53.
- Sprague, G.F.; Tatum, L.A. (1942) General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Journal of American Society of Agronomy*, Madison, v.34, n.10, p.923-932.
- Strasser, R.J., Tsimilli- Michael, M., Srivastava, A. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *In Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, eds M. Yunus, U. Pather, P. Mohanly, London, Taylor and Francis, p. 445-483.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*, Fifth edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. (In press), 690p.
- Taylor, C.B. (1996) Proline and water deficit: Ups, dows, ins, and outs. *The Plant Cell*, 8:1221-1224.
- Torres Netto, A.; Campostrini, E.; Oliveira, J.G. de; Smith, R.E.B. (2005) Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 104: 199-209.

- Torres Netto, A.; Campostrini, E.; Oliveira, J.G. de; Yamanishi, O.K. (2002) Portable chlorophyll content meter: quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and possible use for assesment of the photochemical process in *Carica papaya*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Unicamp, 14(3): 143-150.
- Varney, G.T.; Canny, M.J. (1993) The branch roots of *Zea*. 1. First order branches, their number, sizes and division into classes. *Ann Bot. (Lond)*, 67: 357-364.
- Vencosvsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani, E.; Viegas, G.P. (Eds.). *Melhoramento e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, p.135-214.
- Viana, J.M.S.; Silveira, M.G. da; Pacheco, C.A.P.; Cruz, C.D.; Carvalho, C.R. de (1999) Hibridação em Milho. In: Borém, A. (ed.). *Hibridação Artificial de Plantas*. Viçosa, UFV. p. 401-426.
- Wang, B.; Zhaohu, L.; Eneji, E.; Tian, X.; Zhai, Z.; Li, J.; Duan, L. (2008) Effects of coronatine on growth, gas exchange traits, chlorophyll content, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in maize (*Zea mays* L.) seedlings under simulated drought stress. *Plant Production Science*, 11(3): 283-290.
- Weatherley, P.E. (1950) Studies in the water relations of the colton plant. I. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist*, 49: p.81-97.
- Weatherwax, P. (1954) *Indian corn in old America*. New York, USA: The MacMillan Co., 253p.
- Xu, Z.Z.; Zhou, G.S.; Wang, Y.L.; Han, G.X.; LI, Y.J. (2008) Changes in chlorophyll fluorescence in maize plants with imposed rapid dehydration at different leaf ages. *Journal Plant Growth Regulation*, Berlin, 27: 83-92.

- Yordanov, (2003) Plants responses to drought and stress tolerance. *Bulg. J. Plant Physiol.*, p.187-206.
- Zhang, J.; Nguyen, H.T.; Blum, A. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 50(332): 291-302.
- Zlatev, Z.S.; Yordanov, I.T. (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in beans plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30: 3-18.
- Zotarelli, L.; Cardoso, E.G.; Piccinin, J.L.; Urquiaga, S., Boddey, R.M.; Torres, E.; Alves, B.J.R. (2003) Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Notas Científicas. Brasília, 38(9): 1117-1122.