IMPACTO DA SECA EM CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO-PIPOCA

DANIELLE LEAL LAMÊGO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2023

IMPACTO DA SECA EM CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO-PIPOCA

DANIELLE LEAL LAMÊGO

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

Orientador: Prof. Antônio Teixeira do Amaral Junior

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2023

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

L228 Lamego, Danielle Leal.

IMPACTO DA SECA EM CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO-PIPOCA / Danielle Leal Lamego. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

64 f.
Bibliografia: 39 - 50.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.
Orientador: Antonio Teixeira do Amaral Junior.

1. Estresse hídrico. 2. dialelo Parcial. 3. *Zea Mays* L. everta. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

IMPACTO DA SECA EM CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO-PIPOCA

DANIELLE LEAL LAMÊGO

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

Aprovada em 15 de fevereiro de 2023

Comissão examinadora:

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

Prof. Weverton Pereira Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UEMASUL

Dr. Samuel Henrique Kamphorst (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Junior (D.Sc. Genética e Melhoramento) - UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus irmãos Dryellen Leal Lamêgo e Douglas Leal Lamêgo

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao bom Senhor Deus, pela oportunidade, saúde e por permitir mais essa vitória.

Agradeço a minha tia Luciene pela preocupação e pela ajuda.

Agradeço a tia Rosilene pelas orações e por todo amor.

Serei eternamente grata a tia Ozenir, que me acolheu em sua casa quando eu mais precisei.

Prima Ana Beatriz, eu sinto sua vibração com as minhas conquistas, assim como eu vibro com as suas. Te amo muito e obrigada por tudo.

Cleudiane Lopes, obrigada por cada momento que passamos juntas e mais ainda por cuidar tão bem do nosso menino Bart.

Bart, meu doguinho, me trocaria por um passeio, mas nunca machucaria meu coração. Seus sentimentos são os mais sinceros e tornou meus dias melhores.

Agradeço a toda equipe do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) pela contribuição, em especial aos alunos de Iniciação Científica Samuel Pereira, Jardel Figueiredo e Lara Fuly, aos demais colegas de laboratório Jacymara Lopes, Úeliton Alves, Jhean Torres, Samuel Kamphorst e Valter Jário.

Jacyzinha, uma pessoa que conseguiu contornar meus dias difíceis em dias mais leves e com boas risadas, não sei expressar o tamanho da minha gratidão em ter conhecido você, uma pessoa que transmite luz e cheia de energia. Te admiro como pessoa, mulher e amiga, obrigada por tudo.

Samuel Kamphorst, você foi uma pessoa que esteve comigo durante esses últimos três anos e acompanhou todo o meu processo. Quero te agradecer imensamente por todo aprendizado, gratidão.

Uéliton Alves, você é uma pessoa que está sempre disposta a ajudar o próximo e não mediu esforços para fazer o mesmo por mim, muito obrigada por toda ajuda e continue sendo essa pessoa do bem.

Agradeço ao Professor Amaral, pela oportunidade, sou muito grata em tê-lo como meu orientador e por seus ensinamentos.

Agradeço a parceria com o Laboratório de Ciências Ambientais (LCA), em especial ao professor Carlos Eduardo de Rezende e seus orientados Marcelo Almeida, Braulio Cherene e Mariana Freitas que contribuíram nas análises de isótopos de carbono e nitrogênio.

Agradeço ao Guilherme Augusto, integrante do Laboratório de Fisiologia de Plantas pela contribuição durante as avalições das características.

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, aos órgãos de fomento, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnólogo (CNPQ) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade e por transformar a vida de milhares de pessoas através da educação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO ix

ABSTRACT xi

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 4

2.1. Objetivos gerais 4

2.2. Objetivos específicos 4

3. REVISÃO DA LITERATURA 5

3.1. Aspectos gerais da cultura do milho-pipoca 5

3.2. Importância econômica do milho-pipoca 7

3.3. Deficiência hídrica na cultura do milho 8

3.4. Deficiência hídrica e implicações no melhoramento vegetal 10

3.5. Estudos de ação gênica em condição de déficit hídrico 12

4. MATERIAL E MÉTODOS 15

4.1. Genótipos 15

4.2. Obtenção dos híbridos 15

4.3. Condição experimental e desenho experimental 16

4.4. Características avaliadas 18

4.4.1. Características morfológicas 18
4.4.2. Pigmentos foliares 19
4.4.3. Teor relativo de água e área foliar específica 19
4.4.4. Densidades de estômatos e de células epidérmicas 19
4.4.5.. Evapotranspiração cumulativa da planta e eficiência agronômica no uso da água 20
4.4.6.ssinatura de isótopos de carbono e nitrogênio 20
4.4.7.Características radiculares 21
4.5. Análises estatísticas 22
4.6. Análise estatística do dialelo parcial 23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 24
5.1. Impactos da limitação hídrica no solo nas medidas de crescimento e pigmentos foliares 24
5.2. Índice e densidade estomática, evapotranspiração cumulativa, eficiência agronômica no uso da água e assinatura estáveis de isótopos de carbono e nitrogênio em ambiente com limitação hídrica e irrigação plena 27
5.3.Características radiculares em condições hídricas contrastantes 30
5.4. Significância e importância dos quadrados médios associados à capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação 33
5.5. Implicações do quadrado médio para o melhoramento de plantas 36
6. CONCLUSÕES 38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de variância individual e conjunta, valores de médias e desvio-padrão de medidas de crescimento e pigmentos foliares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca em ambiente contrastante (WS, estresse hídrico; WW, irrigação plena). 25

Tabela 2. Análise de variância individual e conjunta, valores de médias e desvio-padrão de medidas de trocas gasosas, índice estomático e assinaturas estáveis de isótopos de carbono e nitrogênio, testadores e híbridos de milho-pipoca em ambiente contrastante.....28

Tabela 3. Análise de variância individual e conjunta, valores de médias e desvio-padrão de características radiculares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca em diferentes regimes hídricos (WS, estresse hídrico; WW, irrigação plena).....31

Tabela 4. Resumo da análise de variância e quadrado médio para características de medidas de crescimento e pigmentos foliares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca sob diferentes condições hídricas (WS, estresse hídrico; WW, irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para um dialelo parcial. 33

Tabela 5. Resumo da análise de variância e quadrado médio para características estomáticas, *status* hídricos e composição isotópica de carbono e nitrogênio de

linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca em diferentes condições hídricas (WS, estresse hídrico; WW, irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para um dialelo parcial.....34

Tabela 6. Resumo da análise de variância e quadrado médio para características radiculares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca em condições hídricas contrastantes (WS, estresse hídrico; WW, irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para um dialelo parcial. 35

RESUMO

LAMÊGO, Danielle Leal; MSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2023; Impacto da seca em características associadas à tolerância ao déficit hídrico em milho-pipoca; Orientador: DSc. Antônio Teixeira do Amaral Junior. Conselheiros: DSc. Eliemar Campostrini e DSc. Marcelo Vivas.

A seca é um dos principais fatores abióticos que causa perdas na produtividade e representa séria ameaça em todo o sistema agrícola. Objetivou-se avaliar linhagens S_7 de milho-pipoca, por meio de cruzamentos de dialelo parcial, utilizando dois testadores, para assim, conhecer a importância dos quadrados médios relacionados, estimar a capacidade geral e específica de combinação de características morfofisiológicas, inferir sobre o modo de ação gênica e propor estratégias de melhoramento a serem aplicadas em condição de seca. Para fins de avaliação foram consideradas as seguintes características: morfológicas, como: altura de planta, biomassa seca de diferentes estruturas e raízes que incluem densidade e comprimento específico para cinco secções do perfil radicular espaçadas em 30 cm; fisiológicas, como o conteúdo de água foliar, evapotranspiração cumulativa, eficiência agronômica no uso da água e assinaturas isotópicas de carbono e de nitrogênio; Anatômicos, como o número e índice estomático e pigmentos foliares. As diferenças significativas entre linhagens e híbridos foram observadas em características relacionadas à altura de planta, à biomassa aérea, nos *status* hídricos e na densidade de peso radicular, sobretudo manifestadas na condição WS. De maneira geral, dada a comparação entre as

condições hídricas, as linhagens em relação aos híbridos sofreram maior impacto da seca, este foi o caso para altura de planta, biomassa da parte aérea, evapotranspiração cumulativa, eficiência agronômica no uso da água e aquelas relacionadas à assinatura isotópica de carbono e de nitrogênio e nitrogênio total (Ntotal). Os efeitos gênicos não-aditivos foram expressos no controle da maior parte das características radiculares, sendo a exploração da heterose a alternativa mais adequada para a obtenção de plantas superiores em condição de seca.

Palavras chaves: Estresse hídrico; dialelo parcial; *Zea Mays* L. everta

ABSTRACT

LAMÊGO, Danielle Leal; MSc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; february of 2023; Drought impact on traits associated with water deficit tolerance in popcorn; Advisor: DSc. Antônio Teixeira do Amaral Junior. Committee Membrers: DSc. Eliemar Campostrini and DSc. Marcelo Vivas.

Drought is one of the main abiotic factors that cause losses in productivity and poses a serious threat to the entire agricultural system. The objective was to evaluate S_7 popcorn lines, through partial diallel crosses, using two testers, to know the importance of related mean squares, estimate the general and specific capacity of combining morphophysiological traits, infer the way of gene action, and propose improvement strategies to be applied in drought conditions. For evaluation purposes, the following traits were considered: morphological, such as plant height, dry biomass of different structures and roots that enclude density and specific length of the root profile spaced at 30 cm; physiological, such as leaf water content, cumulative transpiration, agronomic efficiency in water use, and carbon and nitrogen isotopic signatures; Anatomical, stomatal number and index and leaf pigments. Significant differences between lines and hybrids were observed in traits related to plant height, aerial biomass, water status, and root weight density, mainly manifested in the WS condition. In general, given the comparison between water conditions, the lines in relation to the hybrids suffered a greater impact from drought, this was the case for plant height, shoot biomass, cumulative evapotranspiration, agronomic efficiency in water use and those related to the isotopic signature of

carbon and nitrogen and total nitrogen (Ntotal). The non-additive genetic effects were expressed in the control of most of the root traits, with the exploitation of heterosis being the most adequate alternative to obtain superior plants in dry conditions.

Keywords: Water stress; partial diallel; *Zea mays* L. everta.

1. INTRODUÇÃO

A seca é um dos principais fatores abióticos que causa perdas na produtividade e que representa séria ameaça em todo o sistema agrícola. As irregularidades nas distribuições pluviométricas, causadas principalmente pelo aquecimento global, têm propiciado períodos de seca cada vez mais frequentes, dificultando a estabilidade das colheitas (Silva, 2020; Esmaeili et al., 2022). A limitação hídrica no solo pode desencadear estresse severo nas plantas, reduzindo drasticamente o rendimento de grãos (Araus et al., 2010; Perdomo et al., 2015; Sabagh et al., 2018). Além disso, segundo relatos da IPCC (2022), na ausência de adaptação ao déficit hídrico, a produtividade de algumas culturas, incluindo o milho-pipoca (Afuye e Kehinde, 2021), vem diminuindo. Tendo como referencial as mudanças climáticas, o aumento populacional e a crescente demanda por alimentos, urge a necessidade de estudos voltados para o melhoramento e adaptação de cultivares que combinem maior potencial de produção e tolerância ao déficit hídrico (Heinemann, 2021; Esmaeili et al., 2022).

Nesse sentido, algumas características morfofisiológicas têm sido utilizadas como base para estudos que buscam maior adaptação à seca. Além disso, já se sabe que os efeitos nocivos da seca nas plantas de milho dependem da duração e da intensidade de ocorrência, do estádio fenológico da cultura quando o estresse inicia e, sobretudo, do potencial genético de resposta à seca, esse último fato, passível de seleção pelo melhorista (Santos e Carlesso, 1998; Cairns et al., 2012). De modo geral, o déficit hídrico ocorre na medida em que a quantidade de água

disponível no solo reduz em níveis que tornam mais difícil a absorção hídrica pelo sistema radicular, de modo a haver um desbalanço entre a conservação de água pela planta e a alta demanda evaporativa, causando mudanças anatômicas, fisiológicas e bioquímicas (Santos e Carlesso, 1998; Sousa et al., 2015; Campos et al., 2021). Nessas condições, as plantas são induzidas ao fechamento estomático, o que provoca redução de assimilados de CO_2, causando alterações na partição de carbono (Monteiro, 2009; Perdomo et al., 2015; Blankenagel et al., 2018). Segundo Liu e Qin (2021), o estádio crítico de ocorrência de déficit hídrico no milho perdura da pré-floração até o enchimento de grãos. Nesse momento, a baixa disponibilidade de água no solo pode comprometer a viabilidade do pólen no processo da formação do zigoto e no início do enchimento de grãos, o que implica na diminuição da produtividade, principalmente na redução do número de grãos por espiga (Cairns et al., 2012; Lima et al., 2019).

A deficiência hídrica aciona nas plantas certos mecanismos de defesa que permitem respostas agronômicas e adaptativas que favorecem a uma maior capacitação do transporte interno e do armazenamento de água. Nesse sentido, destaca-se a resposta e frequência estomática, quando há o fechamento dos estômatos com o envolvimento de sinais hidráulicos e químicos, como o incremento da síntese do hormônio ácido abscísico (ABA) em resposta ao déficit hídrico. Isso reduz a perda de água pela planta, favorecendo um melhor *status* hídrico (Santos e Carlesso, 1998; Tardieu, 2013; Araus et al., 2018). O fechamento prolongado dos estômatos inibe os processos fotossintéticos, afetando seu crescimento e desenvolvimento (Campos et al., 2021). Além disso, nas plantas, o estresse hídrico causa redução da área foliar, aceleração da senescência, aumento da abscisão das folhas e inibição da expansão radicular (Santos e Carlesso, 1998; Tardieu, 2013; Santos et al., 2021; Kamphorst et al., 2022).

No intento de mitigar a adaptação à seca, algumas plantas adequam suas raízes sob condições de estresse hídrico. Esse mecanismo permite modificar espacialmente a arquitetura do sistema radicular, alterando seu comprimento, profundidade, número, ângulo, diâmetro, densidade e biomassa para melhor absorção de água (Trachsel et al., 2011; Shoaib et al., 2022). Estudos de Gao e Lynch (2016) descreveram que genótipos de milho com reduzido número das raízes da coroa possuem maior profundidade de enraizamento sob condição de déficit hídrico (WS, do inglês “water stressed”) e, por isso, maior crescimento e

produtividade. Zhan et al. (2015) assinalaram que a redução de densidade de ramificações radiculares aumenta a tolerância do milho ao déficit hídrico, uma vez que reduz os custos metabólicos de exploração do solo, permitindo maior profundidade de enraizamento. Além disso, a heterose para características radiculares é apontada para justificar o melhor desempenho agronômico de híbridos em condições de seca, quer seja pela maior densidade de peso, quer seja pelo menor comprimento específico radicular (Ali et al., 2016; Chairi et al., 2016). Kamphorst et al. (2022) relataram em estudos envolvendo milho-pipoca em condições de seca, que os híbridos apresentaram valores maiores de densidade de peso radicular do que as linhagens, indicando um sistema radicular mais desenvolvido, cujos valores de heterose aumentam em razão da profundidade.

Como perspectiva para incrementos na eficiência agronômica no uso da água, o melhoramento de plantas torna-se uma opção de geração de genótipos superiores. Para tanto, conhecer os efeitos das ações aditivas, bem como não-aditivas e ambientais, torna-se uma tarefa imperiosa, tendo como uma possibilidade para tanto a estimação da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação (Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2012). Dentre as estratégias de estimação da CGC e da CEC, há o dialelo parcial, o qual consiste no cruzamento entre dois grupos de genitores complementares para as características de interesse, cuja finalidade é explorar ao máximo os efeitos associados às potencialidades dos genitores e de suas combinações híbridas (Kempthorne e Curnow, 1961; Elmyhun et al., 2020; Lima et al., 2020).

Nesse sentido, considerando que a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) possui um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de milho-pipoca, o qual vem sendo utilizado na seleção de genótipos superiores em condição de estresse hídrico (Kamphorst et al., 2018a, 2018b, 2019, 2021 e 2022), objetiva-se, por meio de linhagens pré-selecionadas com elevada capacidade de expansão e com testadores contrastantes para rendimento de grãos em condição de seca, avaliar diferenças no crescimento, *status* hídrico, composição de isótopos estáveis de C e N, pigmentos foliares e de características radiculares sob distintas condições hídricas, bem como investigar o mecanismo genético que controla essas características para propor estratégias de melhoramento a serem aplicadas na cultura do milho-pipoca sob déficit hídrico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

O Objetivo deste trabalho foi avaliar diferenças no crescimento, pigmentos foliares, *status* hídrico, composição isotópica de C e N e em características radiculares, bem como inferir sobre o mecanismo genético que controla essas características em linhagens e híbridos de milho-pipoca obtidos de um modelo de dialelo parcial cultivadas em duas condições de disponibilidade hídrica.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Estimar a importância dos quadrados médios relacionados à capacidade geral e específica de combinação em genótipos de milho-pipoca avaliados em condições hídricas contrastantes, para características de crescimento, pigmentos foliares, composição isotópica de C e N e características radiculares; e
- ✓ Gerar informações sobre a cultura do milho-pipoca, na expectativa de contribuir para futuras recomendações de híbridos superiores e de estratégias de melhoramento vegetal a serem aplicadas para adaptação à seca.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Aspectos gerais da cultura do milho-pipoca

O milho-pipoca é um tipo especial de milho pertencente à espécie botânica *Zea mays* L. Everta, que se insere na família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae (Koo e Jiang, 2008). Caracteriza-se como uma espécie monoica, apresentando crescimento herbáceo anual. Segundo a Normativa Nº 61, de 22 de dezembro de 2011, Capítulo 1, Art. 3, determinada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), diferentemente dos demais tipos de milho, entende-se por milho-pipoca os grãos provenientes da espécie *Zea mays* L, e*verta* (Sturtev.), subespécie *mays*, com capacidade de estourar, transformando-se em pipoca, quando submetido a uma temperatura superior a 177ºC (Hoseney et al., 1983).

Há controvérsias entre os pesquisadores em relação às hipóteses relacionadas à origem do milho-pipoca. A mais aceita é a defendida por Beadle (1978) e Galinat (1973, 1988), a qual sugere que o milho tenha se originado de forma direta e unicamente do teosinto, por intermédio de intensa seleção praticada pelo homem.

Em comparação ao milho comum (*dent* e *flint*), o milho-pipoca assemelha-se quanto às condições climáticas e épocas de cultivo. Além disso, as duas espécies apresentam os estádios fenológicos de crescimento e desenvolvimento muito parecidos, embora o milho-pipoca seja considerado superprecoce, atingindo

a maturação fisiológica dos grãos, variando de 62 a 68 dias após o florescimento. Em decorrência disto, os estudos de caracterização e avaliação de germoplasma de milho-pipoca utilizam-se dos mesmos descritores mínimos utilizados para o milho comum (Ziegler, 2001). No entanto, considerando cuidadosamente algumas características morfológicas e fisiológicas, observam-se determinadas particularidades para o milho-pipoca, quais sejam: menor porte, menor número de folhas, colmo mais fino e fraco, tornando-se mais suscetível a pragas e doenças. Além disso, seu sistema radicular é considerado menos desenvolvido, sofrendo maior dano com ataque de larvas de diabrotica e nematoides, o que torna a planta mais vulnerável ao acamamento e à seca. A planta de milho-pipoca é mais prolífica, as espigas apresentam posições relativas mais altas e com maior produção de grãos duros e pequenos, com formatos variando de pontiagudo a arredondando, (Zinsly e Machado, 1978; Sawazaki, 2001; Sawazaki, 2010).

O milho-pipoca, diferentemente do que acontece com o milho comum, é utilizado exclusivamente para o consumo humano. Quanto a aspectos nutricionais, em uma porção de 100 g, advém-se a uma densidade energética de 375 Kcal. De maneira geral, seus grãos possuem frações ricas de carboidratos (74,00%) e lipídios (4,30%) (Ranum et al., 2014). Presentes nos grãos, também, encontram-se proteínas (11,00%), fibras (13,00%) e vitaminas do complexo B (0,30%) (Tissot et al., 2001).

A capacidade de expansão (CE) está associada à rigidez do pericarpo e à presença de umidade interna nos grãos que, quando aquecidos em torno de 177ºC, exercem forte pressão, aproximadamente 135 psi, ocasionando a expansão do amido e consequente rompimento do pericarpo, expondo o endosperma, assim, resultando na explosão dos grãos e formação da pipoca (Zinsly e Machado, 1978; Hoseney et al., 1983). Obtém-se a CE pela razão entre a massa de 30 g pelo volume (L) após o pipocamento. Segundo informações da literatura, a CE pode multiplicar-se por até mais de 40 vezes o volume inicial utilizado (Pina Matta e Viana, 2001). De acordo com Nobre et al. (2000), a avaliação da qualidade do milho-pipoca é feita por meio da análise da CE, de maneira que, quanto maior for esta capacidade, maior também será sua maciez e seu valor comercial (Sawazaki, 2001). Para ser considerado um genótipo de milho-pipoca de boa qualidade, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) considera o valor mínimo de 30 mL g^{-1} de CE (Pina Matta e Viana, 2001).

3.2. Importância econômica do milho-pipoca

O milho (*Zea mays* L.) possui grande relevância no agronegócio, sendo considerado uma das principais espécies cultivadas no mundo. No Brasil, o interesse pelo manejo do milho-pipoca se intensificou após o ano de 2010, frente ao cenário de busca dos agricultores e das agroindústrias pela diversificação de culturas mais rentáveis em cultivo de segunda safra (Bertolucci, 2022). O principal incentivo para investir no milho-pipoca está no seu alto valor agregado, que pode superar em três vezes o milho comum. Segundo dados das Centrais de Abastecimento de Uberlândia – Minas Gerais (Ceasa – MG), o milho comum foi recentemente cotado a R$ 80,00 a saca de 25 Kg, enquanto os produtores de milho-pipoca receberam R$ 190,00 pela mesma quantidade em massa, conforme dados publicados na mesma central de abastecimento (Brasil, 2023).

Sabe-se que em território nacional, a produção de milho-pipoca atingiu cerca de 260 mil toneladas, das quais 220 mil foram consumidas internamente, movimentando US$ 628 milhões. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de grãos de milho-pipoca, atrás apenas dos Estados Unidos da América, com produção de aproximadamente 375,7 mil toneladas (Filho e Borghi, 2019; Catalho, 2021). Segundo Filho e Borghi (2019), há estimativa de que o consumo dos brasileiros atinja 385 mil toneladas em 2024, movimentando cerca de US$ 850 milhões. O motivo pelo acréscimo de vendas de grãos de milho-pipoca se deve ao distanciamento social durante a pandemia do coronavírus, onde as famílias têm buscado mais entretenimento residencial, aumentando o consumo do *streaming* e da TV (Gazeta, 2020; Tooge, 2020).

Apesar da cadeia produtiva da cultura ser positiva, por muitos anos a maioria das sementes de milho-pipoca utilizada nacionalmente foi importada de outros países, principalmente dos Estados Unidos da América e da Argentina. Segundo os produtores, isto ocorre devido à qualidade dos grãos importados serem superiores, quando comparados com a nacional (Oliveira, 2021). Porém, com os avanços das pesquisas brasileiras, o mercado de sementes nacional já disponibiliza para comercialização 163 cultivares de milho-pipoca registradas no MAPA (Brasil, 2022). Quanto a essas cultivares registradas, apenas 36 foram desenvolvidas por instituições públicas, particularmente pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC), com 13 registros; e pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

(UENF), com 23 registros (Brasil, 2022). Destes registros, apenas um híbrido (WS – 01) possui estabilidade de produção em ambiente com déficit hídrico. Tem-se, pois, uma grande carência de cultivares com características agronômicas desejáveis para enfrentamento à seca, havendo necessidade de intensificar o lançamento de variedades e híbridos comerciais que atendam às condições edafoclimáticas brasileiras para o estresse hídrico.

De modo geral, *Zea mays* L. é uma das culturas que utiliza dos recursos hídricos em abundância.

Nesse sentido, o Grupo de Melhoramento de Milho-Pipoca (GMMP) da UENF vem atuando em pesquisas com foco na tolerância ao déficit hídrico, cuja finalidade é desenvolver cultivares mais produtivas em condição de seca no solo para o agronegócio nacional (Kamphorst et al., 2018a; b; 2019; 2021; Lima et al., 2019; Leite et al., 2021; Santos et al., 2021). Crê-se que o avanço dos trabalhos com o melhoramento do milho-pipoca para adaptação ao estresse hídrico promoverá impacto sobremaneira positivo para o agronegócio brasileiro, traduzido por maior rendimento por unidade de cultivo.

3.3. Deficiência hídrica na cultura do milho

A seca é o principal evento meteorológico que causa perdas severas na produtividade do milho. Os períodos de escassez de chuvas e a má distribuição dos recursos hídricos estão se tornando cada vez mais frequentes. Tal condição está diretamente relacionada com as mudanças climáticas, a qual vem se agravando desde o século passado (Araus et al., 2018; Wang et al., 2020). De acordo com os dados do IPCC (2022), a temperatura mundial pode aumentar até 3,2ºC, afetando gravemente o sistema agrícola e colocando em risco a soberania alimentar.

Na cultura do milho, o estresse hídrico pode reduzir o rendimento de grãos em percentagens que variam de 17% a 80%, conforme informações obtidas na literatura (Edmeades et al., 1995). O déficit hídrico diminuiu significativamente o rendimento de grãos e seus componentes em linhagens e híbridos de milho, em experimentos conduzidos com o estresse abiótico em questão. Em estudo dirigido por Cairns et al. (2012) a redução observada foi em média de 80% e 76%, para linhagens e híbridos, respectivamente. A perda de rendimento e seus

componentes, para ambos os genótipos avaliados foi associada, em grande parte, à diminuição no número de grãos produzidos por unidade de área (Cairns et al., 2012). Existe uma tendência para a performance nos rendimentos de grãos, em que se observa que os genótipos que apresentarem melhores índices, tenderão a apresentar melhor desempenho, tanto nas condições adequadas de cultivo, quanto nas condições de estresse hídrico (Zia et al., 2013). Esses resultados corroboram com as observações de Kamara et al. (2003), que também verificaram essa tendência de desempenho nas distintas condições de cultivo.

O déficit hídrico acontece quando a disponibilidade de água no solo diminui ou quando ocorre a distribuição irregular ao longo do ciclo de desenvolvimento das culturas agrícolas (Mir et al., 2012). Para os casos mais graves, a ocorrência do déficit hídrico, coincide com os estádios fenológicos de florescimento e de enchimentos de grãos. Nessa fase fenológica, a sensibilidade da cultura ao déficit hídrico é observada nos processos fisiológicos relacionados à formação do zigoto, influenciando diretamente na viabilidade dos estigmas e do grão de pólen (Edmeades et al., 1995; Farooq et al., 2014).

Em decorrência do déficit hídrico, observam-se alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares nas plantas, assim como a paralização do seu crescimento, devido a redução da pressão de turgor das células, culminando na redução ou paralisação da expansão celular, causando uma desaceleração do alongamento celular (Costa et al., 2008). Além disso a atividade da redutase do nitrato é afetada, podendo aumentar o incremento da síntese de ácido abscísico (ABA), contribuindo com o fechamento estomático e com a diminuição na assimilação de CO_2 (Hsiao et al., 1976; Taiz et al., 2015).

As pesquisas com milho-pipoca relacionadas com a tolerância ao déficit hídrico e/ou eficiência agronômica no uso da água vem aumentando. Nesse cenário, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, vem desde 2015 conduzindo estudos visando à adaptação de genótipos de milho-pipoca ao estresse hídrico, gerando importantes informações aos melhoristas da cultura. As pesquisas desenvolvidas já identificaram linhagens eficientes agronomicamente no uso da água em condições de déficit hídrico (Kamphorst et al., 2018a, 2018b, 2019, 2020a, 2020b, 2021; Leite et al., 2021). Neste contexto, merece destaque o trabalho desenvolvido por Kamphorst et al. (2018a), que constataram redução média de 55,00% na produtividade de grãos e de 29,00% na capacidade de expansão, em

linhagens de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico. Em valores absolutos, isto significa a redução no rendimento de grãos e na capacidade de expansão de 1.408,95 kg ha^{-1} e de 8,62 mL g^{-1}, respectivamente (Kamphorst et al., 2018a). Já em outra pesquisa, Kamphorst et al. (2021) ao avaliarem genótipos de milho-pipoca em ambiente de estresse hídrico, constataram uma redução de 39,00% no rendimento de grãos e 3,20% na capacidade de expansão. Nesse estudo, foram utilizadas 10 linhagens e 15 híbridos.

3.4. Deficiência hídrica e implicações no melhoramento vegetal

A seca é um fator abiótico que vem se intensificando, principalmente devido a emissões de gases do efeito estufa (GEE), o qual tem provocado mudanças climáticas, como o aumento de temperatura e irregularidade nas distribuições de chuvas (IPCC, 2022). Os efeitos deletérios desses fenômenos já estão presentes e diversas culturas agrícolas vêm sofrendo com essas alterações (Assad, 2021).

Na produção de grãos de milho, a deficiência hídrica tem sido apontada como o principal fator de perdas no rendimento. Esse fenômeno ocorre quando a disponibilidade de água no solo se limita ou quando a distribuição de chuvas ocorre de maneira irregular ao longo do ciclo da cultura (Mir et al., 2012). Geralmente o estresse hídrico tem maiores impactos e danos irreversíveis quando ocorre em determinados estádios de desenvolvimento, sendo que para o milho o período crítico estende-se da pré-floração até o enchimento de grãos (Lima et al., 2019; Assad, 2021; Liu e Qin, 2021). Essas informações corroboram com os resultados de Cairns et al. (2012) e de Kamphorst et al. (2018b) que, avaliando linhagens de milho comum e milho-pipoca, respectivamente, em condições de estresse hídrico, identificaram reduções significativas no tamanho de espiga e no número de grãos por fileira. Para esses autores, a redução na produtividade de grãos se deve, em grande parte, à diminuição no número de grãos produzidos, sobretudo quando o estresse ocorre no estádio de floração, impedindo a fecundação. De tal sorte, existe uma tendência para melhor desempenho no rendimento de grãos de genótipos com maior adaptação a condições de redução de fornecimento de água no solo (Kamara et al., 2003; Zia et al., 2013).

Nesse sentido, o programa de melhoramento vegetal exerce uma importante função na seleção de genótipos tolerantes ao estresse hídrico e/ou de maior

eficiência agronômica no uso da água. O termo tolerante refere-se à capacidade de uma planta manter seus tecidos hidratados mesmo em condição de seca (Araus et al., 2012). Por outro lado, cultivares com maior eficiência agronômica no uso da água são aqueles com capacidade de produzir mais matéria seca por grama de água transpirada (Baptista, 2001).

Não obstante, avaliar um conjunto de características morfológicas e fisiológicas, tem revelado importantes informações sobre a cultura do milho-pipoca para adaptação à seca, além de vislumbrar a possibilidade de aplicação de estratégias de melhoramento vegetal mais adequadas a cultivos em ambiente com déficit hídrico. Nesse sentido, autores recomendam que, para se obterem performances aceitáveis de produção de grãos nas cultivares híbridas, as linhagens genitoras devem apresentar máxima sincronia possível entre o florescimento masculino e o feminino, aumentando, assim, o número de óvulos fertilizados e suprindo a espiga com enchimento de grãos (Betran et al., 1977; Sangoi et al., 2002; Santos et al., 2003). Além disso, a senescência foliar se delonga, contribuindo para um melhor desenvolvimento dos grãos, devido ao acúmulo de assimilados até o final do estádio reprodutivo, o qual é translocado para a espiga, formando maior número de grãos e totalmente desenvolvidos, resultando em peso médio mais elevado (Zaidi et al., 2004). Por isso, a senescência foliar tardia (*stay green*), de maneira geral, sob condições de estresse hídrico, tem sido utilizada como característica indicadora para a discriminação de genótipos tolerantes.

Outra característica que tem sido utilizada nesse contexto, é a temperatura do dossel. Em condições hídricas desfavoráveis, a temperatura foliar aumenta e, como resposta, as plantas de milho induzem o fechamento estomático, sinalizado pelo hormônio ABA, que reduz a transpiração e, portanto, a perda de água (Santos e Carlesso, 1998; Araus et al., 2018). Nesse processo, a taxa fotossintética é inibida, devido à redução no influxo de CO_2 para os sítios de carboxilação da Ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO). Por outro lado, isso reduz a perda de água pela planta, economizando o recurso hídrico do solo, no entanto, elevando a temperatura das folhas (Santos e Carlesso, 1998; Tardieu, 2013; Araus et al., 2018). Dessa forma, os genótipos selecionados como os mais tolerantes, em termos de rendimento absoluto, apresentam menor temperatura do dossel (Cairns et al., 2012; Zia et al., 2013).

Com reconhecida atuação no mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, também podem ser citados as seguintes características morfológicas: enrolamento das folhas e aumento do ângulo foliar em relação ao colmo. Em condições de déficit hídrico selecionam-se plantas que apresentam folhas não enroladas, o que indica maior turgor, e de menor ângulo em relação ao colmo (Durães et al., 2004). De acordo com os mesmos autores, esses caracteres foliares apresentam relação média a baixa para com o rendimento de grãos. Outros mecanismos, como maior relação entre raiz e a parte aérea, ajuste osmótico, dentre outros, também conferem maiores níveis de tolerância ao déficit hídrico (Durães et al., 2004).

A composição de isótopos de carbono da matéria seca da planta ($\delta^{13}C/\ \delta^{12}C$) tem sido utilizada como indicadora de estresse hídrico. De maneira geral, plantas como o milho, assimilam CO_2 por meio dos ciclos fotossintéticos tipo C4 e incorporam o ^{13}C e ^{12}C. Em condição de estresse hídrico, os vegetais acionam mecanismo de defesa como o fechamento estomático, impedindo dessa forma que o ^{13}C seja eliminado através da transpiração. Assim, a assinatura do isótopo de carbono quando analisada na matéria seca da planta, expressa como acúmulo de $\delta^{13}C$, significa que aquela planta foi afetada pela seca. Consequentemente, a assinatura do isótopo de carbono tem sido usada para indicar o *status* de água no milho (Beltrão e Oliveira, 2008; Araus et al., 2010; Chairi et al., 2016; Kamphorst et al., 2022). Já a composição do isótopo de nitrogênio $\delta^{15}N$ indica como a água afeta a absorção de nitrogênio em seu metabolismo, que diminui em resposta à seca (Yousfi et al., 2009; Yousfi et al., 2012).

3.5. Estudos de ação gênica em condição de déficit hídrico

A compreensão da base genética fornece informações para a adequada seleção de genótipos que, ao serem cruzados, proporcionem complementação alélica que culminem em maior desempenho produtivo às suas progênies, tanto em condição de déficit hídrico, quanto em condições de irrigação plena. Em se tratando em específico da tolerância à seca, é inequívoco que estudar o modo da ação gênica envolvida no controle de características de importância econômica, possibilita identificar de forma fidedigna genótipos superiores. Porém, para o sucesso desses estudos, são necessários métodos de melhoramento capazes de

capitalizar com tenacidade as informações auferidas em estudos de herança de características relacionadas ao déficit hídrico.

Nesse aspecto, a análise dialélica tem possibilitado a seleção da melhor combinação de parentais, por meio da avaliação do comportamento das progênies oriundas dos cruzamentos, fornecendo, assim, inúmeras informações genéticas, dentre as quais a ação gênica que controla a característica (Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2014). Quanto aos métodos dialélicos, o dialelo parcial é uma metodologia adequada, visto que, segundo Pimentel et al. (2013), o desvio de dominância é reduzido em linhagens com gerações mais avançadas, de maneira que o efeito da capacidade específica de combinação não seja significativo. Além disso, as adaptações do modelo de dialelo completo de Griffing (1956) para os dialelos parciais têm permitido maximizar as informações sobre os genótipos avaliados, possibilitando gerar um número reduzido de cruzamentos (Marino et al., 2012).

De modo geral, o esquema dialelo parcial, refere-se a uma metodologia que cruza dois grupos de genitores complementares, cujo objetivo é estimar o comportamento médio dos genitores em cruzamentos (Vencovsky e Barriga, 1992; Nurmberg et al., 2000). A partir desse método, torna-se possível estimar a existência de efeitos aditivos nos genitores e não-aditivos nos cruzamentos, como também, estimar a importância relativa dos efeitos aditivos, não-aditivos e ambientais sobre os caracteres (Cruz et al., 2012).

Lima et al. (2019), avaliando o desempenho de genótipos de milho-pipoca cultivados sob déficit hídrico em esquema de dialelo completo sem os recíprocos, descrevem que tanto os efeitos aditivos quanto os não-aditivos foram significativos, sendo os efeitos não-aditivos mais importantes para a determinação das características agronômicas, como rendimento de grãos e seus componentes (comprimento de espiga e número de grão por fileira). Kamphorst et al. (2022), também utilizando de dialelo completo, porém incluindo combinações recíprocas, relataram que os maiores efeitos de heterose estão presentes nas características de biomassa e raízes, resultando em maior vigor em plântulas de milho-pipoca e que os efeitos gênicos não-aditivos são os responsáveis pelo controle da maior parte dessas características, sobretudo, em condição de déficit hídrico.

Portanto, a compreensão desses mecanismos genéticos abre oportunidades para aumentar o potencial produtivo e, também, para a adaptação ao estresse

hídrico de híbridos e segregantes de interesse. Além disto, a quantificação dos efeitos da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação é útil na discriminação da superioridade dos genitores e dos híbridos. A CGC se refere ao comportamento médio de um genitor numa série de combinações híbridas e está associada aos efeitos aditivos dos alelos e às ações epistáticas do tipo aditiva (Cruz e Vencovsky, 1989). Por sua vez, a CEC representa o desvio, positivo ou negativo, de uma determinada hibridação, tomando como base a média da CGC dos parentais, por meio dos efeitos de dominância e epistasia envolvendo dominância (Cardoso, 2006). A diferença entre a capacidade geral e específica está na base genética do material em avaliação, sendo ampla ou restrita, respectivamente. Genótipos de base genética ampla quando usados como testadores proporcionam estimativas da capacidade geral de combinação, enquanto genótipos de base genética restrita – como é o caso das linhagens – possibilitam a estimativa da capacidade específica de combinação. É notório que essas diferenças são advindas das frequências alélicas dos genótipos envolvidos.

Para garantir o sucesso na realização do método dialelo parcial o cruzamento entre linhagens de grupos diferentes torna-se importante para fornecer informações que classifiquem o mérito relativo de linhagens e maximize o ganho genético.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Genótipos

Quatros linhagens endogâmicas S_7 foram utilizadas como genitoras femininas e testadas em esquema de dialelo parcial em regimes hídricos contrastantes. Oriundas da cultivar UENF 14 (polinização aberta), as linhagens L220, L292, L383 e L688, foram selecionadas a partir de um painel de 50 linhagens avaliadas em condições de campo sob déficit hídrico, as quais apresentam capacidade de expansão superior a 30 g mL^{-1} (Leite et al., 2022). Como genitores masculinos, foram utilizadas duas linhagens também em geração S_7, isto é, L61 e L76, a primeira originada da população “BRS-Ângela” e a segunda oriunda da população “Viçosa”. L61 caracteriza-se por apresentar baixa capacidade combinatória para rendimento de grãos quando avaliada em condições de estresse hídrico; e L76, alta capacidade combinatória para essa característica em ambiente com déficit hídrico (Kamphorst et al., 2021).

4.2. Obtenção dos híbridos

Os híbridos foram obtidos em casa de vegetação localizada na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes, RJ. Para tal, seis sementes de cada genótipo foram semeadas em vasos de 30 L, contendo solo, no qual foi adicionado

adubação NPK (04-14-08). Com base no conhecimento prévio da fenologia, os genótipos foram semeados em intervalos de 0 – 7 – 15 dias, de forma a sincronizar o florescimento masculino e feminino das plantas. Esses dados foram obtidos em experimentos anteriores realizados pelo Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) (Kamphorst et al., 2020; Leite et al., 2021; Santos et al., 2021). Aos 21 dias após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Aos 30 dias após a emergência, foi adicionada a adubação de cobertura, composta por NPK (20-00-20), disponibilizando 10 g por planta/vaso. As adubações de fundação e de cobertura foram realizadas de acordo com a recomendação para a cultura, de forma a atender as exigências nutricionais da mesma.

Os cruzamentos foram realizados manualmente, utilizando o método de dialelo parcial. Desta forma, antes do florescimento, as espigas foram previamente cobertas com sacos plástico antes de liberarem os estigmas. Cada genitor masculino (L61 e L76), forneceu pólen, quando observado a presença das anteras abertas, às quatros linhagens (L220, L292, L383, L688) utilizadas como genitoras. Na ocasião dos cruzamentos, os pendões foram cobertos com sacola de papel “Kraft”, sempre um dia antes do cruzamento ser realizado. No dia seguinte, foram feitos os cruzamentos, com um *bulk* de pólen de cada genitor doador e, logo após, realizada a polinização das linhagens aptas e cobrimento das espigas com sacola de papel ‘Kraft’, que ficaram assim protegidas até o momento da colheita. Após os cruzamentos, aproximadamente aos 20 dias, as espigas foram colhidas, debulhadas e as sementes foram armazenadas em envelope de papel a 15ºC.

4.3. Condição experimental e desenho experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da UAP/UENF, em blocos completos casualizados, com três repetições em cada condição hídrica (CH). A primeira CH refere-se àquela mantida a 100% da capacidade do tubo – designada WW, do inglês *well watered* –; e a segunda, a 45% da capacidade do tubo – denominada WS, do inglês *water stressed*.

As plantas desenvolveram-se em tubos de PVC, os quais possuíam 10 cm de diâmetro e 150 cm de comprimento. Os tubos foram divididos em duas metades longitudinalmente, as quais foram unidas com fitas adesivas no sentido vertical e horizontal. Para permitir a percolação do excesso de água durante o processo de

manutenção das CHs e evitar a perda de substrato, na parte inferior do tubo foi alocado um vaso de mesmo diâmetro – 10 cm – com furos. Para a junção do vaso ao tubo, foram feitos dois furos nas extremidades, os quais foram amarrados com arame. A seguir, a figura 1, visualiza-se os tubos de PVC utilizados no experimento.

Figura 1 Tubos de PVC organizados em fileiras durante a condução do experimento.

Em cada tubo foram semeadas seis sementes de cada genótipo, sendo realizado o primeiro desbaste após 21 dias, deixando-se três plantas por tubo; o segundo desbaste foi realizado 10 dias após o primeiro, deixando-se uma planta por tubo. As plantas foram espaçadas em 25 cm entre si e em 94 cm entre linhas, correspondendo a uma densidade de 42.553,20 plantas ha^{-1}, de forma semelhante à utilizada em condições de campo. As plantas foram cultivadas sob o abrigo de chuva, permitindo o controle da água disponibilizada.

Para calcular a capacidade de vaso, antes da semeadura, cada tubo foi pesado; logo após, foi adicionado o substrato, composto por 80% de perlita e 20% de turfa. Dando prosseguimento, os tubos foram irrigados com água em abundância e, após deixado percolar o excesso por 72 h foi novamente pesado. Dessa forma, foi calculada a capacidade de vaso de cada estrutura (CT – 100%) pela diferença entre o peso molhado (após drenagem do excesso) e o substrato seco (antes da saturação). Cada tubo conteve aproximadamente 2,266 L de água em sua capacidade máxima de retenção de água.

Para a CH bem-irrigada (WW), os tubos foram mantidos a 100% da sua capacidade até o momento das avaliações finais. Para isso, a cada 2-3 dias antes da irrigação, os tubos foram pesados e adicionada a quantidade de água correspondente para retornar à capacidade do tubo. Para a condição de WS, foi aplicada irrigação limitada aos 15 dias após a emergência. A quantidade de água disponível nos tubos foi abaixando gradualmente conforme o consumo das plantas, até que alcançaram 45% da capacidade de vaso e, assim, foi mantida, até a colheita. Em geral, o decréscimo na capacidade de água dos tubos foi homogêneo entre os genótipos, uma vez que as plantas que consumiram mais água receberam a quantidade precisa de irrigação para retornar à capacidade de água daquelas plantas que menos consumiram.

O suprimento nutritivo das plantas ocorreu via irrigação com solução de Hoagland e Arnon. (1950), que foi disponível durante todo o período experimental, de acordo com a necessidade da planta e o regime hídrico imposto.

4.4. Características avaliadas

4.4.1. Características morfológicas

A altura da planta (AP), expressa em centímetros (cm), foi determinada da superfície dos tubos até a última folha desenvolvida, utilizando uma trena. Logo após, as plantas foram seccionadas em folha, colmo e órgãos reprodutivos e, então, acondicionadas em envelopes de papel para armazenamento em estufa a 70ºC, até estabilizarem os pesos, determinando-se assim, as estimativas de folha seca (FS), colmo seco (CS) e órgãos reprodutivos secos (OS), em g.

4.4.2. Pigmentos foliares

Os pigmentos foliares foram avaliados um dia antes da colheita. Os teores de clorofila (CHL), de flavonoide (FLAV), de antocianina (ANTH) e o índice de balanço do nitrogênio (NBI) foram quantificados no terço médio da última folha desenvolvida e na folha bandeira, utilizando-se de medidor portátil Dualex® (FORCE-A, Orsay, França).

4.4.3. Teor relativo de água e área foliar específica

Antes da colheita, os discos foliares frescos (diâmetro = 1,65 cm) foram coletados na última folha desenvolvida de cada planta e imediatamente pesados, para determinar o peso fresco (PF). Em seguida, os discos foliares foram imersos em água destilada por 12 h, em geladeira a 4ºC na ausência de luz. Depois da embebição, os discos foram secos com papel toalha e novamente pesados, obtendo-se, assim, o peso túrgido (PT). Por fim, os discos foram depositados em estufa a 70ºC por 72 h e, por meio de pesagem, foi determinado o peso seco (PS). O teor relativo de água (TRA, expresso em %), foi calculado pela seguinte equação: $TRA = 100.\frac{(PF-PS)}{(PT-PS)}$. Utilizando-se dos mesmos discos foliares, com área foliar (AF) de 2,1282 cm^2, foi realizado o cálculo da área foliar específica (AFE) ($cm^2\ g^{-1}$) por meio da equação: $AFE = \frac{AF}{PS}$.

4.4.4. Densidades de estômatos e de células epidérmicas

A face epidérmica adaxial e abaxial do terço-meio da última folha desenvolvida, especificamente entre a nervura central e a extremidade, foi untada com esmalte de unha. Após secagem por 10 min, a camada de esmalte seca foi removida com fita adesiva e transferida para uma lamínula de vidro. A contagem do número de estômatos (*s*) e de células epidérmicas (*e*) foi realizada em microscópio, com lente objetiva de 40 X. Cada réplica foliar (adaxial e abaxial) foi quantificada em três campos do microscópio. A metodologia utilizada baseou-se no proposto por Radoglou e Jarvis (1990).

As densidades estomáticas (DE, estômatos em mm^{-2}) e de células epidérmicas (CE, células em mm^{-2}) foram calculadas pelas seguintes equações:

$DA = \frac{D}{0{,}152}$ e $CE = \frac{C}{0{,}152}$, em que 0,152 mm^{-2} é a área de superfície do microscópio (raio de 0,22 mm). O índice estomático (IA, %) de cada face foliar foi obtido pela seguinte expressão: $IA = 100\left(\frac{DE}{CE}\right)$.

4.4.5. Evapotranspiração cumulativa da planta e eficiência agronômica no uso da água

A quantidade total de água transpirada de cada planta ou transpiração cumulativa (TC, expressa em dm^3 $planta^{-1}$) foi controlada durante todo o ciclo de crescimento. Para isso, antes da irrigação, cada tubo foi pesado e a superfície superior de cada tubo foi coberta com plástico para evitar a evaporação direta da superfície do substrato. Além disso, com base no peso da biomassa aérea total (ABT) (folha, colmo e órgãos reprodutivos) e a TC, foi calculada a eficiência agronômica no uso da água (EAUA $_{Agro}$, g kg^{-1}), por meio da equação: $EAUA_{Agro} = \frac{ABT}{TC}$.

4.4.6. Assinatura de isótopos de carbono e nitrogênio

Para a determinação dos isótopos estáveis de C e N (razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ e $^{15}N/^{14}N$), juntamente com o teor de nitrogênio total, foram retiradas amostras da última folha desenvolvida em todas as plantas, sob ambas as CHs. Cerca de 10 mg de matéria seca foliar de cada planta, juntamente com materiais de referência, foram pesadas e seladas em cápsulas de prata (Kennedy et al., 2005). As medições da composição isotópica de carbono e nitrogênio foram realizadas nas Instalações Científicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro no LCA/CBB, utilizando o Flash 2000 (*Organic elemental analyzer – Thermo Scientific*), o qual é acoplado a interface *Conflo IV* e na sequência ao *Delta V Advantage* (*isotope ratio mass spectrometer – Thermo Scientific*). Os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio são determinados por um sistema em linha composto por um forno duplo contendo uma coluna de oxidação a 1.020°C e uma coluna de redução a 650°C. Os gases resultantes são quimicamente secos e após separação cromatográfica injetados no espectrômetro de massas para determinação das razões isotópicas. A razão isotópica é obtida como descrito

abaixo pela expressão: $\delta^N \mathrm{E}\ ‰ = [(Ramostras/Rpadrão)] - 1] * 1000\ (‰)$, em que N é o isótopo mais pesado do elemento E e R é a razão do isótopo mais pesado sobre o mais leve ($^{13}C/^{12}C$, $^{15}N/^{14}N$) desses elementos. O padrão para carbono é o calcário *Peedee Belemnite limestone* (PDB) e para o nitrogênio, o padrão é o N_2 atmosférico, aos quais são atribuídos δ^N valores de E de 0 ‰. A precisão obtida por meio de análises de amostras em triplicatas são: ±0,1‰ para $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$. As amostras foram mensuradas em relação aos gases dióxido de carbono e nitrogênio 5.0 analíticos fornecidos pela White Martins, que foram calibrados em relação aos padrões isotópicos de trabalho de ureia fornecido pelo IVA-Meerbusch-Germany (Carreira et al., 2002; Kennedy et al., 2005; Barros et al., 2010).

4.4.7. Características radiculares

No momento da colheita, os tubos foram abertos e o material radicular foi dividido em cinco seções iguais, desde a superfície superior dos tubos até a extremidade inferior, nas seguintes camadas: 0-30 cm (a); 30-60 cm (b); 60-90 cm (c); 90-120 cm (d); e 120-150 cm (e). As amostras foram lavadas em água corrente, envelopadas e armazenadas em saco de papel a 10ºC. Almejando calcular o volume total radicular (VT), as amostras foram expostas em bandeja de acrílico (40 x 40 cm), contendo cerca de 1,00 L de água (de 0,50 a 1,00 cm de profundidade), espalhadas e fotografadas por meio da câmera Sony α6000 DSLR (Sony Corporation, Japão). As fotografias radiculares foram analisadas pelo uso do *software* GiA Roots (Galkovskyi et al., 2012).

O comprimento específico radicular (CER) em cada uma das cinco seções do solo (a, b, c, d, e e) foi determinado por meio das imagens analisadas, da seguinte forma: $CER_{amostra} = CT_{amostra}/RB_{amostra}$, em que $CT_{amostra}$ refere-se ao comprimento total dos segmentos de raiz (m) obtido a partir das imagens radiculares fotografadas e da biomassa seca da raiz ($RB_{amostra}$) dos segmentos que foram analisados (g) (Elazab et al., 2012). O CER_{sec} (m g^{-1}) total do segmento foi calculado pela equação: $CER_{sec} = \frac{CT_{amostra} * RB_{sec}}{BR_{amostra}}$.

Posteriormente, cada seção radicular foi armazenada em envelope de papel e seca a 60°C em estufa. O peso seco radicular foi quantificado separadamente para cada uma das cinco seções. A densidade de peso radicular de cada seção do solo (RWD_{sec}, g m^{-3}) foi estimada seguindo o proposto por Elazab et al. (2012),

utilizando-se a expressão: $RWD_{sec} = RB_{sec}/\pi * R^2 * L$, em que RB_{sec} é a biomassa seca da raiz na seção de solo (g), R é o raio de tubos (0,07 m), e L é o comprimento da secção do tubo (0,30 m de comprimento).

Além disso, foi obtida a estimativa da razão entre a biomassa da parte aérea (biomassa aérea – AB) e a radicular (RB_{total} – soma das cinco RB_{sec}), por meio da proporção $\frac{AB}{RB_{total}}$.

4.5. Análises estatísticas

As análises foram realizadas utilizando-se o recurso computacional GENES (Cruz, 2013). Realizou-se a análise de variância individual para cada CH e conjunta da interação genótipo x condição hídrica para cada característica. A análise de variância individual foi realizada empregando-se o seguinte modelo genético-estatístico: $\boldsymbol{Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \varepsilon_{ij}}$, em que: $\boldsymbol{Y_{ijk}}$ é a observação do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente e no k-ésimo bloco; $\boldsymbol{\mu}$ é a média geral da característica; $\boldsymbol{G_i}$ é o efeito fixo do i-ésimo genótipo; $\boldsymbol{B_j}$ é o efeito aleatório do j-ésimo bloco; e $\boldsymbol{\varepsilon_{ijk}}$ refere-se ao erro experimental médio.

Por conseguinte, realizaram-se os desdobramentos dos efeitos (contraste) das linhagens, testadores e híbridos separadamente, para cada característica. As análises estatísticas foram realizadas no *software* SAS. Os contrastes analisados foram: I, que corresponde às diferenças entre linhagens; II, que corresponde às diferenças entre testadores; III, que corresponde às diferenças entre os híbridos; e IV, que corresponde às diferenças entre linhagens*híbridos. Para a análise conjunta entre as CHs empregou-se o seguinte modelo estatístico: $\boldsymbol{Y_{ijk} = \mu + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk}}$, em que: $\boldsymbol{Y_{ijk}}$ é o valor observado do k-ésimo bloco avaliado no i-ésimo genótipo e j-ésimo ambiente; $\boldsymbol{\mu}$ é a média geral; $\boldsymbol{G_i}$ é o efeito fixo atribuído ao i-ésimo genótipo; $\boldsymbol{B/A_{jk}}$ é o efeito aleatório do k-ésimo bloco dentro do j-ésimo ambiente; $\boldsymbol{A_j}$ é o efeito fixo do j-ésimo ambiente; $\boldsymbol{GA_{ij}}$ é o efeito fixo da interação entre o i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente; e $\boldsymbol{\varepsilon_{ijk}}$ é o erro aleatório associado à observação $\boldsymbol{Y_{ijk}}$, com distribuição NID (0, σ^2).

4.6. Análise estatística do dialelo parcial

A análise do dialelo parcial foi realizada seguindo o modelo proposto por Griffing (1956), adaptado por Geraldi e Miranda Filho (1988). Em cada CH, as análises de variância dialélica foram realizadas de acordo com o esquema de dialelo parcial. Para a análise utilizaram-se os recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2013), empregando-se o modelo genético-estatístico $\boldsymbol{Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij}}$, em que: $\boldsymbol{Y_{ij}}$ é o valor médio da combinação híbrida entre o i-ésimo testador do grupo 1 e a j-ésima linhagem S_7 do grupo 2; $\boldsymbol{\mu}$ é a média geral; $\boldsymbol{g_i}$ é o efeito da capacidade geral de combinação do i-ésimo genitor do grupo 1; $\boldsymbol{g_j}$ é o efeito da capacidade geral de combinação j-ésimo genitor do grupo 2; $\boldsymbol{s_{ij}}$ é o efeito da capacidade específica de combinação dos híbridos formados, respectivamente; e ε_{ij} é o erro experimental médio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Impactos da limitação hídrica no solo nas medidas de crescimento e pigmentos foliares

De maneira geral, independente da CH, as características de crescimento e de pigmentos foliares revelaram diferenças estatísticas para o contraste IV, isto é, entre linhagens e híbridos. Duas exceções foram observadas na condição WW, esse foi o caso das características índice de flavonoides (FLAV) e área foliar específica (AFE) (Tabela 1).

Na análise conjunta, para fonte de variação genótipo (G), todas as caraterísticas apresentaram significância; para fonte de variação condição hídrica (CH), todas as anteriores, exceto FLAV; e para interação genótipo x condição hídrica (G*CH), apenas para AFE.

O estresse hídrico causou reduções expressivas (> 20%) nas características altura de planta (AP), folha seca (FS), colmo seco (CS) e órgãos reprodutivos secos (OS) para linhagens e híbridos. Esses efeitos foram maiores nas linhagens, correspondendo a 49,40%, 46,00%, 60,40% e 70,50%; ao passo que por essa mesma ordem de características as reduções nos híbridos foram de 27,50%, 23,50%, 38,50% e 43,10%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância individual e conjunta, com valores de médias e desvio-padrão de medidas de crescimento e pigmentos foliares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados em ambientes contrastantes quanto à disponibilidade de água (WS = estresse hídrico; WW = irrigação plena)

Características	Estresse Hídrico (45% da CT)							Irrigação Plena (100% da CT)							Análise conjunta		
	Linhagens		Testadores		Híbridos		C	Linhagens		Testadores		Híbridos		C			
	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	G	CH	G*CH
AP	0,70	±0,33**	0,35	±0,23^{ns}	1,01	±0,39^{ns}	**	1,31	±0,37**	0,84	±0,35^{ns}	1,39	±0,29**	**	**	**	ns
FS	5,12	±0,73**	2,52	±0,91^{ns}	8,57	±1,15**	**	8,98	±1,28*	5,65	±0,54^{ns}	11,20	±1,32^{ns}	**	**	**	ns
CS	5,51	±0,86**	1,43	±0,31**	9,06	±1,43**	**	12,76	±1,45**	5,94	±0,69^{ns}	14,73	±1,77^{ns}	**	**	**	ns
OS	5,86	±1,67**	0,07	±0,42^{ns}	13,71	±2,03^{ns}	**	16,06	±1,91*	7,80	±1,16^{ns}	24,10	±2,40^{ns}	**	**	**	ns
CHL	25,85	±1,82**	23,63	±1,27^{ns}	41,37	±1,97*	**	41,57	±1,50**	37,04	±1,66^{ns}	46,45	±1,98^{ns}	**	**	*	ns
FLAV	0,57	±0,32^{ns}	0,62	±0,26^{ns}	0,63	±0,21**	*	0,63	±0,26*	0,66	±0,20^{ns}	0,65	±0,22**	ns	**	ns	ns
ANTH	0,20	±0,17**	0,22	±0,10*	0,14	±0,21^{ns}	**	0,15	±0,08**	0,17	±0,14^{ns}	0,13	±0,14^{ns}	**	**	*	ns
NBI	44,95	±2,42**	39,55	±2,54^{ns}	65,95	±2,55*	**	67,75	±3,14*	57,90	±1,90^{ns}	72,69	±2,70*	**	**	*	ns
AFE	211,74	±4,07**	226,87	±5,04^{ns}	183,41	±3,78^{ns}	**	172,95	±3,32*	184,26	±4,61^{ns}	176,18	±0,56*	ns	**	*	**

Os valores nas colunas $\bar{x}$ representam as médias e ± os desvios-padrão dos genótipos avaliados. As diferenças estatísticas I = entre linhagens, II = entre testadores, e III = entre híbridos em cada condição hídrica (CH). IV = Contraste médio entre linhagens e híbridos. Análise conjunta: refere-se à interação entre genótipo (G), condição hídrica (CH) e genótipo*condição hídrica (G*CH) nas respectivas condições de seca (WS) e de irrigação plena (WW). AP: altura de planta (cm); FS: folha seca (g); CS: colmo seco (g); OS: órgãos reprodutivos secos (g); AP: altura de planta (cm), CHL: teor de clorofila (µg/cm²); FLAV: teor de flavonoide (µmol g^{-1}); ANTH: teor de antocianina (µmol g^{-1}); NBI: índice de balanço de nitrogênio; AFE: área foliar específica (cm^2 g^{-1}). De acordo com os desdobramentos dos efeitos das linhagens, testadores e híbridos separadamente, tem-se que ns = não-significativo; * = significativo em $p < 0,05$; e ** = significativo em $p < 0,01$.

Os maiores acúmulos de biomassa seca, representados pelas características FS, CS e OS, foram observados nos híbridos, assim como maiores médias para AP. Na pesquisa realizada por Kamphorst et al. (2022) mostraram-se resultados semelhantes para medidas de biomassa e que geralmente se expressam com alta taxa de crescimento. Nesse aspecto, o maior acúmulo de biomassa e matéria seca no híbrido é, pelo menos em parte, um resultado combinado do vigor inicial da plântula, o que resulta em maior área de fotossíntese, proporcionando aumento na assimilação de C (Tollenaar et al., 2004). Por sua vez, nas fases de brotação e pendoamento, a área foliar tende a diminuir, coincidindo com a translocação de fotoassimilados para o caule e órgãos reprodutivos (Tollenaar et al., 2004; Tollenaar e Lee, 2006; Blum, 2013).

Na condição WS, a AFE foi maior, independente da categoria de genótipos; e, nessa mesma condição, as linhagens foram aquelas que apresentaram valores mais elevados. Isso quer dizer que suas folhas foram mais finas e/ou menos densas (Garnier et al., 1997; Vergara-Díaz et al., 2016), provavelmente associado a um tamanho de folha reduzido em relação aos híbridos. Tanto a densidade de células adaxial, quanto a densidade de células abaxial foram maiores nas linhagens independente da CH, contudo os híbridos apresentaram maior número de células epidérmicas sob WW. De acordo com Parkhurst, (1978), a localização de estômatos na folha pode estar de alguma forma, relacionada com a espessura foliar, pois o percurso de difusão de gases (CO_2), aumenta com a espessura do mesófilo, o que pode explicar o tamanho de folha ser maior nos híbridos em relação aos seus genitores. Em pesquisas com milho e milho-pipoca, Chairi et al. (2016) e Kamphorst et al. (2022) concluíram em seus estudos que as características de crescimento da planta são influenciadas pelo maior número de células em vez de um tamanho de célula maior.

O colmo foi a estrutura não laminar mais afetada pela seca, tanto para as linhagens, quanto para os híbridos. O colmo tem função estrutural e no transporte de água e nutrientes. Além disso, essa estrutura contém considerável reserva de fotoassimilados, os quais são translocados para a espiga durante o período de enchimento de grãos, dada a alta demanda de fotoassimilados nessa fase de desenvolvimento. Devido à menor fotoassimilação, o colmo torna-se fino e suscetível ao acamamento, o que deve também interferir negativamente na folhas das plantas (Magalhães et al., 1998; Forell et al., 2015).

Quanto ao índice de clorofila (CHL), apenas as linhagens tiveram redução expressiva, com estimativas superiores a 37,30% (Tabela 1). Incremento expressivos (> 20%) ocorreu em maior impacto nas linhagens para as características antocianina (ANTH), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e área foliar específica (AFE), com valores de 40,00%, 33,10% e 22,70%, nessa ordem (Tabela 1). De maneira geral, as concentrações de N nas folhas, o NBI e o teor de CHL sofreram reduções tanto nos híbridos quanto nas linhagens em resposta a seca. De fato, os híbridos apresentaram valores mais elevados em relação às linhagens, independente da condição de cultivo. Estudos de Araus et al. (2010) relataram que durante o enchimento de grãos, as diferenças no teor de clorofila podem aumentar, com valores diminuindo de forma constante de 20 dias a 25 dias após a antese em resposta ao estresse hídrico, sendo que as linhagens apresentam reduções no teor de clorofila foliar mais rapidamente do que os híbridos, particularmente sob seca.

As estimativas de FLAV foram maiores nos híbridos em ambas as condições hídricas aplicadas. Este composto fenólico é produzido pelo metabolismo secundário das plantas que funcionam como antioxidantes, osmorreguladores e compostos foto-protetores em células vegetais. Essa substância age como filtro de raios ultravioletas, protegendo as plantas de estresse bióticos e abióticos, o que inclui o estresse hídrico (Wahid et al., 2007; Nakabayashi et al., 2014; Kalaji et al., 2017). Dessa forma, possuir maiores valores de compostos fenólicos pode garantir uma vantagem adaptativa, sobretudo em condição WS.

5.2. Índice e densidade estomática, evapotranspiração cumulativa, eficiência agronômica no uso da água e assinatura estáveis de isótopos de carbono e nitrogênio em ambiente com limitação hídrica e irrigação plena

Em condição WS, com exceção do índice estomático abaxial (IABA), tiveram diferenças estatísticas para o contraste IV as demais características relacionadas ao índice estomático adaxial (IADA) e densidade estomática adaxial (DADA) e abaxial (DABA), trocas gasosas como evapotranspiração cumulativa (TC), teor relativo de água foliar (TRA), eficiência agronômica no uso da água ($EAUA_{agro}$) e aquelas relacionadas à assinatura isotópica, sendo de carbono ($\delta^{13}C$) e de nitrogênio ($\delta^{15}N$) e nitrogênio total (Ntotal) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância individual e conjunta, com valores de médias e desvio-padrão de medidas de trocas gasosas, bem como estimativas de índice estomático e assinaturas estáveis de isótopos de carbono e de nitrogênio para testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados em ambientes contrastantes quanto à disponibilidade de água (WS = estresse hídrico; WW = irrigação plena)

Caract.	Estresse Hídrico (45% da CT)							Irrigação Plena (100% da CT)							Análise conjunta		
	Linhagens		**Testadores**		**Híbridos**		**C**	**Linhagens**		**Testadores**		**Híbridos**		**C**			
	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	G	CH	G*CH
DADA	76,02	$\pm$3,87^{ns}	84,61	$\pm$4,52^{ns}	62,87	$\pm$3,33^{ns}	**	62,04	$\pm$3,46^{ns}	68,35	$\pm$1,97*	59,30	$\pm$3,21^{ns}	ns	**	ns	ns
DABA	103,07	$\pm$4,18^{ns}	99,42	$\pm$4,47^{ns}	86,21	$\pm$3,35^{ns}	**	87,54	$\pm$4,04^{ns}	94,30	$\pm$1,54^{ns}	83,88	$\pm$3,80^{ns}	ns	**	ns	ns
IADA	22,81	$\pm$2,23^{ns}	23,86	$\pm$1,18^{ns}	19,71	$\pm$1,85^{ns}	**	19,88	$\pm$1,92^{ns}	20,86	$\pm$0,84*	23,42	$\pm$2,54^{ns}	ns	ns	ns	ns
IABA	28,14	$\pm$1,93^{ns}	27,76	$\pm$2,17^{ns}	26,05	$\pm$1,81^{ns}	ns	26,55	$\pm$1,83*	26,06	$\pm$1,00^{ns}	28,57	$\pm$2,77^{ns}	ns	ns	ns	ns
TC	3,33	$\pm$0,70**	1,96	$\pm$0,93^{ns}	6,03	$\pm$1,14^{ns}	**	9,58	$\pm$0,85**	6,73	$\pm$0,85^{ns}	12,53	$\pm$1,25^{ns}	**	**	**	ns
$EAUA_{agro}$	4,54	$\pm$0,83**	2,33	$\pm$1,24^{ns}	5,18	$\pm$0,58^{ns}	**	3,87	$\pm$0,71^{ns}	2,86	$\pm$0,54^{ns}	3,95	$\pm$0,14^{ns}	**	**	**	**
TRA	85,76	$\pm$2,35^{ns}	86,91	$\pm$1,26^{ns}	89,56	$\pm$2,03^{ns}	*	85,82	$\pm$1,83^{ns}	87,89	$\pm$1,39^{ns}	85,15	$\pm$2,11^{ns}	ns	**	ns	ns
$\delta^{13}C$	-14,24	$\pm$0,49^{ns}	-14,66	$\pm$0,59^{ns}	-14,13	$\pm$0,47^{ns}	**	-14,00	$\pm$0,58^{ns}	-13,83	$\pm$0,30^{ns}	-13,72	$\pm$0,45^{ns}	*	**	**	ns
$\delta^{15}N$	-2,24	$\pm$0,70**	-1,83	$\pm$0,58^{ns}	-1,00	$\pm$0,71*	**	-1,21	$\pm$0,66^{ns}	-0,26	$\pm$0,61*	-0,96	$\pm$3,18^{ns}	ns	**	**	**
Ntotal	2,59	$\pm$0,46*	2,48	$\pm$0,42^{ns}	3,18	$\pm$0,51**	**	3,23	$\pm$0,52^{ns}	3,58	$\pm$0,21*	3,45	$\pm$0,67*	ns	**	**	**

Os valores nas colunas $\bar{x}$ representam as médias e ± os desvios-padrão dos genótipos avaliados. As diferenças estatísticas I = entre linhagens, II = entre testadores, e III = entre híbridos em cada condição hídrica (CH). IV = Contraste médio entre linhagens e híbridos. Análise conjunta: refere-se à interação entre genótipo (G), condição hídrica (CH) e genótipo*condição hídrica (G*CH) nas respectivas condições de seca (WS) e de irrigação plena (WW). DABA: densidade estomática abaxial (mm^{-2}); DADA: densidade estomática adaxial (mm^{-2}); IABA: Índice estomático abaxial (%); IADA: Índice estomático adaxial (%); TC: evapotranspiração cumulativa (dm^3 $planta^{-1}$); TRA: Teor relativo de água foliar (%); EAUA: eficiência agronômica no uso da água (g kg^{-1}); $\delta^{13}C$: assinatura estável de isótopos de carbono (‰); $\delta^{15}N$: assinatura estável de isótopos de nitrogênio (‰); Ntotal: nitrogênio total. De acordo com os desdobramentos dos efeitos das linhagens, testadores e híbridos separadamente, tem-se que ns = não-significativo; * = significativo em $p < 0,05$; e ** = significativo em $p < 0,01$.

Em condição WW, TC, $EAUA_{agro}$ e $\delta^{13}C$ foram aquelas características que tiverem diferenças estatísticas para o contraste IV. Dada a análise conjunta, os efeitos significativos foram observados para a fonte de variação genótipo (G) para a maioria das características, exceto para os índices estomáticos abaxial e adaxial (IADA); para fonte de variação condição hídrica (CH), para TC, $EAUA_{agro}$, $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ e Ntotal; e para interação G*CH, para $EAUA_{agro}$, $\delta^{15}N$ e Ntotal (Tabela 2). As linhagens, quando comparadas com os híbridos, sofreram maiores reduções expressivas, isto é, 94,50%, 82,10%, 82,80%, 60,80%, 87,30% para TC, $EAUA_{agro}$, $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ e Ntotal, respectivamente. Incremento expressivo superior nos híbridos, foi observado para as características TC e $EAUA_{agro,}$ alcançando 51,90% e 31,20%, respectivamente (Tabela 2). A escassez hídrica leva o fechamento estomático a fim de controlar a transpiração e, assim, evitar a perda de água, entretanto, isso reduz a taxa fotossintética, causando efeitos negativos nas plantas. A densidade e o índice estomático determinam a máxima condutância difusiva do CO_2 para a folha (Brodribb et al., 2013). No presente estudo, a densidade estomática foi maior na condição de estresse hídrico, tanto nos híbridos, quanto nas linhagens, indicando um maior uso de água. Corroborando com os resultados aqui obtidos, Zhao et al. (2015) mostraram que o reduzido conteúdo de água no solo aumenta significativamente a densidade estomática, mas reduz o tamanho e a abertura dos estômatos em milho.

Nos resultados do trabalho aqui realizado, particularmente em condição WS, os híbridos apresentaram TRA maior em relação às linhagens. De fato, os genótipos mais tolerantes à seca em comparação com aqueles mais sensíveis, exibem maior TRA, principalmente pela capacidade de aprofundar o sistema radicular e absorver água nas camadas mais profundas do solo, ou, então, em decorrência de maior ajustamento osmótico (Gao e Lynch, 2016).

A característica TC apresentou elevados valores nos híbridos em relação aos seus genitores, independente da CH. De forma igual, nos estudos de Chairi et al. (2016) e Kamphorst et al. (2022), foi observado que os híbridos se manifestaram com maior consumo de água, tornando-os mais vigorosos, com maior acúmulo de biomassa e área foliar, além de adquirirem um sistema radicular mais desenvolvido em comparação com as linhagens. Além disso, no nosso cálculo de TC, não foi levado em consideração o peso das plantas em crescimento, o que resultou em alguma subestimação na quantidade de água necessária para atingir 100% e 45%

da capacidade do tubo e, portanto, também no TC calculado. Isso acabou tendo um efeito maior no TC dos híbridos do que nas linhagens devido ao maior crescimento e peso dos primeiros. Esse fato pode ter influenciado, sobretudo, os valores de $EAUA_{agro}$, os quais expressaram valores maiores nos híbridos, independente da condição de cultivo.

Não houve diferenças estatísticas para isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}C$), porém as linhagens exibiram valores ligeiramente mais negativos em relação aos seus híbridos, como resposta ao WS, o que indica a ocorrência de maior fechamento dos estômatos nas linhagens em resposta ao estresse hídrico. De fato, $\delta^{13}C$ indicou o melhor uso da água nos híbridos, exclusivamente em condição WS (Cabrera-Bosquet et al., 2009; Araus et al., 2010, 2013; Chairi et al., 2016).

5.3. Características radiculares em condições hídricas contrastantes

De maneira geral, tanto em WS quanto em WW, as características densidade de peso radicular (RWD), volume (NV) e comprimento específico radicular (CER), independente de seção de solo (a, b, c, d e e), tiveram diferenças estatísticas para o contraste IV (Tabela 3).

Na análise conjunta, para fonte de variação G observou-se significância para a maioria das características, exceto para CER (c, e); para fonte de variação CH houve diferenças significativas para RWD (a, b, c, e), NV (b, c, e) e NV (a, b, d, e), já para interação G*CH, diferenças significativas ocorreram apenas para as características NV (a, b) e (R. PAR) (Tabela 3).

De maneira geral, independente da CH, a densidade de peso radicular (RWD) e volume de raiz (NV) foi reduzida em relação à profundidade. Tal constatação não foi possível de se observar para CER, que não apresentou esse mesmo padrão. O que se percebe nessa última característica é que as raízes apresentaram-se mais finas em WS. De maneira geral, a limitação hídrica impactou em maior expressão a densidade de peso radicular (RWD), o volume (NV) e o comprimento específico nas linhagens, quando comparadas aos híbridos.

Tabela 3. Análise de variância individual e conjunta, com estimativas dos valores de médias e desvio-padrão de características radiculares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados em diferentes regimes hídricos (WS = estresse hídrico; e WW = irrigação plena)

Caract.	Estresse Hídrico (45% da CT							Irrigação Plena (100% da CT							Análise conjunta		
	Linhagens		Testadores		Híbridos		C	Linhagens		Testadores		Híbridos		C			
	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	$\bar{x}$	I	$\bar{x}$	II	$\bar{x}$	III	IV	G	CH	G*CH
RWDa	713,13	±14,75*	491,44	±11,38^{ns}	1110,60	±16,70^{ns}	**	968,01	±10,42**	871,27	±14,47*	1262,33	±18,92^{ns}	**	**	*	ns
RWDb	212,42	±8,24**	66,07	±4,11^{ns}	483,54	±11,09*	**	330,84	±9,59^{ns}	224,63	±10,03^{ns}	502,18	±11,82^{ns}	**	**	*	ns
RWDc	106,72	±7,54^{ns}	27,00	±2,76^{ns}	244,30	±7,50**	**	134,61	±9,46^{ns}	44,23	±4,46^{ns}	303,27	±9,06*	**	**	*	ns
RWDd	57,33	±7,68^{ns}	4,39	±3,28^{ns}	125,44	±8,18^{ns}	**	53,75	±7,38*	6,44	±3,97^{ns}	125,21	±8,67*	**	**	ns	ns
RWDe	32,17	±5,59^{ns}	0,00	±0,00^{ns}	67,15	±7,34^{ns}	**	0,89	±1,75^{ns}	0,00	±0,00^{ns}	29,74	±6,57*	**	*	**	ns
NVa	13,35	±1,89^{ns}	15,72	±2,26^{ns}	16,45	±1,22*	*	13,99	±1,63^{ns}	14,54	±2,01^{ns}	18,22	±1,27^{ns}	**	**	ns	ns
NVb	4,18	±1,49^{ns}	8,46	±1,12*	6,34	±1,47^{ns}	ns	2,14	±1,00^{ns}	3,69	±1,35^{ns}	3,11	±1,08^{ns}	ns	**	*	**
NVc	2,89	±1,52^{ns}	4,27	±1,02^{ns}	6,41	±1,21**	**	2,29	±0,98^{ns}	3,44	±1,27^{ns}	2,52	±1,33*	ns	**	**	**
NVd	1,91	±1,41^{ns}	1,20	±0,99^{ns}	5,34	±1,22**	**	1,31	±1,03^{ns}	1,25	±1,45^{ns}	3,27	±1,34*	**	**	ns	ns
NVe	1,27	±0,65**	0,00	±0,00^{ns}	3,32	±1,46^{ns}	**	0,44	±0,77^{ns}	0,00	±0,00^{ns}	1,59	±2,37^{ns}	**	**	*	ns
CERa	1580,48	±24,28^{ns}	2415,76	±16,41^{ns}	1071,55	±17,79^{ns}	**	1055,71	±32,49**	1275,05	±12,08*	986,47	±21,58**	*	**	**	ns
CERb	2460,31	±41,49^{ns}	6106,81	±78,15^{ns}	1283,01	±24,05^{ns}	**	913,36	±22,54^{ns}	1927,85	±43,11^{ns}	651,79	±23,59^{ns}	*	**	*	ns
CERc	3428,11	±66,23^{ns}	6318,88	±52,20^{ns}	1617,25	±41,86^{ns}	*	1661,96	±33,37^{ns}	7314,24	±72,34^{ns}	1157,01	±49,46**	*	ns	ns	ns
CERd	2297,45	±50,45^{ns}	1557,10	±61,76^{ns}	3594,73	±65,13^{ns}	ns	1874,08	±51,00^{ns}	2663,85	±80,78^{ns}	3647,49	±66,30^{ns}	ns	*	*	ns
CERe	1975,28	±32,27**	0,00	±0,00^{ns}	4378,73	±53,87^{ns}	**	1090,07	±61,45^{ns}	0,00	±0,00^{ns}	3100,08	±64,43^{ns}	ns	ns	*	ns
R. PAR	4261,26	±86,60^{ns}	3252,13	±75,67^{ns}	8572,10	±99,09^{ns}	ns	11,09	±1,38^{ns}	8,02	±0,79*	9,79	±0,00*	ns	**	**	**

Os valores nas colunas $\bar{x}$ representam as médias e ± os desvios-padrão dos genótipos avaliados. As diferenças estatísticas I = entre linhagens, II = entre testadores, e III = entre híbridos em cada condição hídrica (CH). IV = Contraste médio entre linhagens e híbridos. Análise conjunta: refere-se à interação entre genótipo (G), condição hídrica (CH) e genótipo*condição hídrica (G*CH) nas respectivas condições de seca (WS) e de irrigação plena (WW). RWD: densidade do peso radicular; NV: volume radicular; CER: comprimento específico radicular; a-b-c-d-e refere-se à profundidade de cada seção de solo, isto é, 0-30 cm (a); 30-60 cm (b); 60-90 cm (c); 90-120 cm (d); e 120-150 cm (e); R. PAR: razão entre o peso de raízes e da parte aérea. De acordo com os desdobramentos dos efeitos das linhagens, testadores e híbridos separadamente, tem-se que ns = não significativo; * = $p < 0,05$; e ** = $p < 0,01$.

Como resposta ao déficit hídrico, houve uma diminuição em RWD em todos as seções do solo, tanto nas linhagens quanto nos híbridos. As raízes desempenham um importante papel adaptativo em ambientes propensos à seca; e, nesta situação, possuir um sistema radicular mais bem desenvolvido, sobretudo em profundidade, proporciona maiores produtividades de grãos (Ali et al., 2016). Lambers et al. (2002) descreveram que é alto o custo metabólico do sistema radicular para explorar o solo em condição de seca, o qual pode exceder em 50% a taxa fotossintética diária de uma planta. Os híbridos apresentaram os valores mais elevados para RWD, independente da seção de solo (a, b, c, d ou e), indicando possuírem um sistema radicular mais desenvolvido.

O sistema radicular desenvolvido em camadas mais profundas do solo contribui para a extração eficiente da água desses perfis mais longínquos (Lynch, 2013), constatação observada nos híbridos de milho-pipoca e que tende a proporcionar vantagens adaptativas em condição de campo ao estresse hídrico. Ali et al. (2016) apoiam a hipótese de que existe uma associação entre a massa de raízes profundas (superiores a 45 cm) de milho e o aumento no rendimento de grãos sob condição de WS em campo e que o desenvolvimento de porções radiculares mais profundas é importante para a tolerância à seca.

Existe uma tendência ao aumento da CER em razão da profundidade do solo (estratos a, b, c, d e e) em ambas as classes genotípicas, bem como nas diferentes CHs. Sabe-se que raízes mais finas apresentam maior atividade biológica, favorecendo a absorção de água e captação de nutrientes (Eissenstat, 1992). Os resultados da presente pesquisa indicam afinamento radicular em detrimento da profundidade, com aumentos do CER na condição WS, demonstrando que as raízes são mais finas nessa condição, indicando maior eficiência na aquisição de água.

De maneira geral, em ambas as CHs e estratos do solo, as linhagens apresentam estimativas de médias menores para CER (raízes mais finas), nos estratos a, b e c; por outro lado, nas seções d e e, os híbridos apresentaram maiores valores para CER. Em condição WS, Li et al. (2008) observaram que plântulas de híbridos de milho desenvolvem um número maior de raízes finas em relação aos seus genitores, o que indica uma adaptação favorável ao déficit hídrico. Estudos de Gao e Lynch (2016) relataram que genótipos de milho com raízes mais profundas possuem melhor capacidade de aquisição de água, todavia, esses autores registraram decréscimo da razão PAR em condição WS (maior massa de raízes em relação à parte aérea), resultado aqui não observado.

5.4. Significância e importância dos quadrados médios associados à capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação

Em condição WS, o quadrado médio (QM) associado à capacidade geral de combinação (CGC) I, isto é, entre linhagens, revelou significância para as características altura de planta (AP), folha seca (FS), colmo seco (CS), órgão reprodutivo seco (OS), índice de clorofila (CHL) e teor de antocianina (ANTH). Nesta mesma CH o quadrado médio associado à CGC II, isto é, entre testadores, revelou significância apenas para ANTH. Ainda na CH de WS houve significância para o quadrado médio associado à capacidade específica de combinação (CEC), ou seja, entre híbridos, para ANTH e área foliar específica (AFE). Também, em condição WW, o QM associado à CGC I revelou significância para as características flavonoide (FLAV) e AFE; e associado à CEC apenas as características FS, CS e OS foram significativas (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância, com estimativas dos quadrados médios para características de medidas de crescimento e pigmentos foliares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados sob diferentes condições hídricas (WS = estresse hídrico; e WW = irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para dialelo parcial

Caract.	Estresse Hídrico (45% da CT)			Irrigação plena (100% da CT)		
	CGC I	CGC II	CEC I*II	CGC I	CGC II	CEC I*II
	QM	QM	QM	QM	QM	QM
AP	0,36*	0,12^{ns}	0,12^{ns}	0,21^{ns}	0,09^{ns}	0,14^{ns}
FS	23,03*	3,05^{ns}	3,05^{ns}	5,96^{ns}	6,01^{ns}	27,54*
CS	95,25**	4,37^{ns}	4,37^{ns}	21,78^{ns}	4,74^{ns}	51,34*
OS	175,55**	79,28^{ns}	79,28^{ns}	38,95^{ns}	0,08^{ns}	165,01*
CHL	351,57*	47,54^{ns}	47,54^{ns}	170,96^{ns}	112,55^{ns}	112,76^{ns}
FLAV	0,04^{ns}	0,04^{ns}	0,04^{ns}	0,09*	0,02^{ns}	0,03^{ns}
ANTH	0,01**	0,01*	0,01*	0,00^{ns}	0,00^{ns}	0,00^{ns}
NBI	565,41^{ns}	105,44^{ns}	105,44^{ns}	102,90^{ns}	556,38^{ns}	305,07^{ns}
AFE	3688,48^{ns}	7,15^{ns}	1922,00**	1024,64**	153,01^{ns}	261,05^{ns}

Efeito do quadrado médio (QM) está representado por ns = não significativo; * = significativo em p < 0,05; e ** = significativo em p < 0,01, respectivamente, pelo Teste F. CGC I = capacidade geral de combinação das linhagens; CGC II = capacidade geral de combinação dos testadores; CEC I*II = capacidade específica de combinação dos híbridos. AP: altura de planta; FS: folha seca; CS: colmo seco; OS: órgãos reprodutivos secos; CHL: índice de clorofila; FLAV: teor de flavonoide; ANTH: teor de antocianina; NBI: índice de balanço de nitrogênio; e AFE: área foliar específica.

Em condição WS, o QM para CGC I revelou significância para TC, $EAUA_{agro}$ e Ntotal; enquanto em WW a significância ocorreu para $EAUA_{agro}$ e Ntotal. Por sua vez, considerando-se o QM para CGC II, houve significância para as características DADA e IADA em WS; e para IADA e $EAUA_{agro}$ em WW. Com relação ao contraste CEC I*II verificou-se significância para TC e $\delta^{13}C$ em WS; e para as características TC e WUE_{agro} em WW (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância, com estimativas dos quadrados médios para características estomáticas, *status* hídrico e composição isotópica de carbono e de nitrogênio de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados em diferentes condições hídricas (WS = estresse hídrico; e WW = irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para dialelo parcial

Caract.	Estresse Hídrico (45% da CT)			Irrigação Plena (100% da CT)		
	CGC I	CGC II	CEC I*II	CGC I	CGC II	CEC I*II
	QM	QM	QM	QM	QM	QM
DABA	$20,32^{ns}$	$141,04^{ns}$	$1055,78^{ns}$	$674,04^{ns}$	$625,40^{ns}$	$529,12^{ns}$
DADA	$229,2^{ns}$	$2020,60^{*}$	$662,34^{ns}$	$142,31^{ns}$	$1418,75^{*}$	$391,92^{ns}$
IABA	$16,15^{ns}$	$52,35^{ns}$	$56,28^{ns}$	$8,41^{ns}$	$17,45^{ns}$	$52,43^{ns}$
IADA	$9,63^{ns}$	$160,78^{*}$	$44,17^{ns}$	$14,79^{ns}$	$36,89^{ns}$	$54,37^{ns}$
TC	$19,33^{**}$	$10,50^{ns}$	$12,10^{**}$	$2,47^{ns}$	$9,87^{ns}$	$25,86^{*}$
TRA	$179,4^{ns}$	$503,82^{ns}$	$373,65^{ns}$	$91,71^{ns}$	$851,68^{ns}$	$430,75^{ns}$
$EAUA_{agro}$	$4,11^{**}$	$0,01^{ns}$	$4,44^{ns}$	$0,67^{*}$	$0,94^{*}$	$0,51^{*}$
$\delta^{13}C$	$0,06^{ns}$	$0,00^{ns}$	$0,19^{*}$	$0,20^{ns}$	$0,05^{ns}$	$0,13^{ns}$
$\delta^{15}N$	$3,32^{ns}$	$0,38^{ns}$	$1,98^{ns}$	$0,34^{ns}$	$5,02^{ns}$	$0,11^{ns}$
Ntotal	$0,63^{**}$	$0,08^{ns}$	$0,64^{ns}$	$0,48^{**}$	$0,00^{ns}$	$0,07^{ns}$

Efeito do quadrado médio (QM) está representado por ns = não significativo; * = significativo em $p < 0,05$; e ** = significativo em $p < 0,01$, respectivamente, pelo Teste F. CGC I = capacidade geral de combinação das linhagens; CGC II = capacidade geral de combinação dos testadores; CEC I*II = capacidade específica de combinação dos híbridos. DABA: densidade estomática abaxial; DADA: densidade estomática adaxial; IABA: Índice estomático abaxial; IADA: Índice estomático adaxial; TC: evapotranspiração cumulativa; TRA: Teor relativo de água foliar; $EAUA_{agro}$: eficiência agronômica no uso da água; $\delta^{13}C$: assinaturas estáveis de isótopos de carbono; $\delta^{15}N$: assinaturas estáveis de isótopos de nitrogênio; Ntotal: nitrogênio total.

Para a CGC I o QM foi significativo para RWD (b, e), NV (d, e) e CERa em WS; já no ambiente WW, as significâncias ocorreram para as seções RWDd, NVc e CERa. Com relação ao QM associado à CGC II, as características significativas foram NV (b, c) e R. PAR em WS, enquanto na condição WW houve significância para RWDa e NVd. Com relação ao contraste CEC I*II, o QM foi significativo para as características RWD (b, c, d), NV (b, e) e CER (a, b, e) em WS; e para RWD (b, c, d, e), NV (a, b, d) e CER (a, c) em WW (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância, com estimativas dos quadrados médios para características radiculares de linhagens, testadores e híbridos de milho-pipoca avaliados em condições hídricas contrastantes (WS = estresse hídrico; e WW = irrigação plena), segundo modelo proposto por Griffing (1956) para dialelo parcial

Caract.	Estresse Hídrico (45% da CT)			Irrigação Plena (100% da CT)		
	CGC I	CGC II	CEC I*II	CGC I	CGC II	CEC I*II
	QM	QM	QM	QM	QM	QM
RWDa	136717,44^{ns}	36,45 ^{ns}	273645,48 ^{ns}	51835,70 ^{ns}	885910,46*	347992,69 ^{ns}
RWDb	87034,76*	19,78 ^{ns}	116335,82**	31356,18 ^{ns}	1767,58 ^{ns}	68868,71*
RWDc	16398,43 ^{ns}	6485,82 ^{ns}	41009,19**	19999,28 ^{ns}	12663,63 ^{ns}	64494,34**
RWDd	7236,11 ^{ns}	335,81 ^{ns}	13632,93*	24568,82 **	5436,40 ^{ns}	19481,17**
RWDe	8010,65*	817,41 ^{ns}	3657,72 ^{ns}	1526,42 ^{ns}	1321,01 ^{ns}	2413,66*
NVa	26,79 ^{ns}	0,00 ^{ns}	10,18 ^{ns}	5,17 ^{ns}	1,56 ^{ns}	19,95*
NVb	5,94 ^{ns}	53,24 **	15,96**	2,07 ^{ns}	1,82 ^{ns}	1,33 ^{ns}
NVc	3,72 ^{ns}	17,78 *	25,90 ^{ns}	5,55*	2,80 ^{ns}	2,40 ^{ns}
NVd	14,93**	0,01 ^{ns}	30,39 ^{ns}	4,49 ^{ns}	17,81*	9,05*
NVe	11,04*	1,99* ^{ns}	13,55**	3,42 ^{ns}	1,74 ^{ns}	3,87 ^{ns}
CERa	694721,07*	24380,17^{ns}	1300743,46**	189575,59*	1662204,26 ^{ns}	205474,51**
CERb	5041526,84 ^{ns}	7662793,65 ^{ns}	13065268,83**	977845,20 ^{ns}	204539,21 ^{ns}	829021,63 ^{ns}
CERc	10583774,95 ^{ns}	1039026,18 ^{ns}	8246689,66 ^{ns}	2644731,99 ^{ns}	18704602,51 ^{ns}	20448500,14*
CERd	11181098,12 ^{ns}	33343834,16 ^{ns}	14301579,78 ^{ns}	14016657,86 ^{ns}	35434061,00 ^{ns}	8199115,69^{ns}
CERe	13558612,21 ^{ns}	12602846,93 ^{ns}	55452985,62*	21245575,97 ^{ns}	17048,32 ^{ns}	11461617,44 ^{ns}
R. PAR	21,31 ^{ns}	17,61 **	7,39**	12,01 ^{ns}	12,87 ^{ns}	12,75 ^{ns}

Efeito do quadrado médio (QM) está representado por ns = não significativo; * = significativo em p < 0,05; e ** = significativo em p < 0,01, respectivamente, pelo Teste F. CGC I = capacidade geral de combinação das linhagens; CGC II = capacidade geral de combinação dos testadores; CEC I*II = capacidade específica de combinação dos híbridos. RWD: densidade do peso radicular; NV: volume radicular; CER: comprimento específico radicular; a-b-c-d-e refere-se à profundidade de cada seção de solo, isto é, 0-30 cm (a); 30-60 cm (b); 60-90 cm (c); 90-120 cm (d); e 120-150 cm (e); R. PAR: razão entre o peso da parte aérea e de raízes.

5.5. Implicações do quadrado médio para o melhoramento de plantas

Os programas de melhoramento genético de plantas vêm trabalhando no desenvolvimento de cultivares adaptadas a diversas condições ambientais, dentre elas, a seca. A indisponibilidade de recursos hídricos pode resultar em significativas reduções da produção agrícola. Diante disso, melhoristas relatam que o desenvolvimento de híbridos é a melhor estratégia para desenvolver genótipos tolerantes à seca na cultura do milho-pipoca. Nesse sentido, investigações com o melhoramento de plantas estão sendo implementadas na tentativa de compreender o modo da ação genética de características relacionadas ao déficit hídrico.

Considerando que a análise de variância dialélica permite discriminar os efeitos e significância da capacidade combinatória, sendo a capacidade geral de combinação (CGC) atribuída ao componente aditivo, enquanto a capacidade específica (CEC) está associada ao efeito não-aditivo dos cruzamentos, o conhecimento destes efeitos possibilita delinear estratégias de melhoramento mais eficientes a serem aplicadas no germoplasma-alvo de estudos visando à obtenção de ganhos genéticos em ambiente de seca. Nesse sentido, para as características de medidas de crescimento e pigmentos foliares avaliadas no presente trabalho, houve influência dos efeitos aditivos (Tabela 4). Duas exceções foram observadas para ANTH e AFE, que se manifestaram com supremacia de ação gênica não-aditiva (Tabela 4). Diferentemente dos resultados apresentados, Tollenaar et al. (2004) e Kamphorst et al. (2021) relataram maior influência dos efeitos não-aditivos no controle da biomassa foliar e dos pigmentos foliares. Esses autores constataram haver maior acúmulo de matéria seca antes do florescimento para as características biomassa foliar, do colmo e maior tamanho das folhas e índice de área foliar, recomendando a exploração da heterose como estratégia de melhoramento.

Para as características TC e $\delta^{13}C$, o QM relacionado foi aquele mais importante, indicando efeitos não-aditivos (Tabela 5). Isso pode explicar o fato dos híbridos possuírem maior crescimento e peso em relação aos seus genitores. Chairi et al. (2016) descreveram que a evapotranspiração total acumulada foi maior nos híbridos de milho comum do que nos seus genitores e que essa característica se correlaciona fortemente com a biomassa da parte aérea. Além disso, observou-se

um efeito da capacidade específica predominante em $\delta^{13}C$ sob WS, indicando que os híbridos sofreram menos no estresse hídrico do que as linhagens.

As características do sistema radicular têm sido associadas como bons indicadores no desempenho agronômico e adaptativo em milho-pipoca tanto em WS quanto em WW. Kamphorst et al. (2022) afirmam que a exploração da heterose é recomendada para aumentar a densidade de peso radicular (RWD) em ambas as condições hídricas. Neste trabalho, de maneira geral, a maioria das secções das características RWD, NV e CER tiveram influência dos efeitos não-aditivos tanto em WS quanto em WW. Gao e Lynch (2016), em estudos com estresse hídrico e irrigação plena, descreveram que milhos com reduzidos número de coroa, tendem a ter raízes mais profundas e melhor absorção de água. Dessa forma, possuir um sistema radicular mais desenvolvido em condições limitante de água pode contribuir no rendimento de grãos, como também relataram Hassouni et al. (2018), que correlacionaram raízes mais profundas com o aumento da produção de grãos de trigo.

De maneira geral, não houve alteração entre CH do quadrado médio com maior importância para as características avaliadas nesse estudo. Isto infere que o modo de expressão das características são os mesmos nas distintas condições hídricas. Lima et al. (2019), em estudo sobre herança em milho-pipoca avaliado nas condições WS e WW, apoiaram a versão de que os efeitos genéticos não se alteram entre as diferentes condições hídricas aplicadas nos estudos. Esses mesmos autores sugeriram que os mesmos métodos de melhoramento podem ser aplicados em ambas as CHs.

6. CONCLUSÕES

Apesar dos genótipos sofrerem com o impacto da limitação hídrica, de maneira geral, os híbridos expressaram maiores taxas relacionadas ao acúmulo de biomassa aérea, *status* hídrico e do sistema radicular, o que deve representar vantagens adaptativas em comparação com seus genitores. Possuir um sistema radicular mais desenvolvido, com raízes mais profundas, permite aos híbridos melhor aquisição de água e maiores taxas de crescimento, particularmente sob condição WS. Efeitos nessas características também foram observados na condição irrigada, mesmo que em menor intensidade. Adicionalmente, os híbridos mostraram maior uso de água como refletido pelos valores de $\delta^{13}C$, exclusivamente em condição WS.

Recomenda-se aos programas de melhoramento o uso de híbridos na cultura do milho-pipoca, como sendo a melhor estratégia para mitigar os efeitos da seca, devido aos efeitos gênicos não-aditivos estarem expressos em maior magnitude na maioria das características, principalmente no controle do sistema radicular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ali, M.L., Luetchens, J., Singh, A., Shaver, T.M., Kruger, G.R., Lorenz, A.J. (2016) Greenhouse screening of maize genotypes for deep root mass and related root traits and their association with grain yield under water-deficit conditions in the field. *Euphytica* 207: 79–94.

Araus, J.L., Cabrera-Bosquet, L., Serret, M.D., Bort, J., Nieto-Taladriz, M.T. (2013) Comparative performance of δ13C, δ18O and δ15N for phenotyping durum wheat adaptation to a dryland environment. *Funct Plant Biol* 40: 595–608.

Araus, J.L., Kefauver, S.C., Zaman-Allah, M., Olsen, M.S., Cairns, J.E. (2018) Translating High-Throughput Phenotyping into Genetic Gain. *Trends Plant Sci* 23: 451–466.

Araus, J.L., Sánchez, C., Cabrera-Bosquet, L. (2010) Is heterosis in maize mediated through better water use?. *New Phytol* 187: 392–406.

Araus, J.L., Serret, M.D., Edmeades, G.O. (2012) Phenotyping maize for adaptation to drought. *Front Physiol*. doi: 10.3389/fphys.2012.00305

Assad, E.D. (2021) Sistemas agrícolas adaptados às mudanças climáticas. *Cienc Cult* 73: 35–40.

Baptista, J.M. (2001) Programa nacional para o uso eficiente da água. *Lisboa Inst Super Agron* 212.

Barros, G.V., Martinelli, L.A., Oliveira Novais, T.M., Ometto, J.P.H.B., Zuppi, G.M. (2010) Stable isotopes of bulk organic matter to trace carbon and nitrogen dynamics in an estuarine ecosystem in Babitonga Bay (Santa Catarina, Brazil). *Sci Total Environ* 408: 2226–2232.

Beadle, G.W. (1978) Teosinte and the origin of maize.

Beltrão, N.E. de M., Oliveira, M.I.P. de. (2008) PRODUÇÃO DE ENERGIA E PRODUTIVIDADE: *Ricinus communis* L. x *Saccharum officinale* L. *Embrapa Algodão-Artigo em An Congr* 4: 2–7.

Bertolucci, M.F. (2022) Análise da concentração e expansão da produção e do beneficiamento do milho-pipoca (*Zea mays* L. var. everta (Sturtev.) L. H. Bailey) no Brasil.

Betran, F.J., Beck, D., Banziger, M., Ribaut, J.M., Edmeades, G.O. (1977) Breeding for drought tolerance in tropical maize. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1997038577.

Blankenagel, S., Yang, Z., Avramova, V., Schön, C.C., Grill, E. (2018) Generating plants with improved water use efficiency. *Agronomy*. doi: 10.3390/agronomy8090194

Blum, A. (2013) Heterosis, stress, and the environment: a possible road map towards the general improvement of crop yield. *J Exp Bot* 64: 4829–4837.

Brasil, P.A. (2022) Precota Agro Brasil. https://precota.com.br/agro/grafico-preco-tabela-milho-pipoca-ceasa-belo-horizonte-sc-60-kg/.

Brasil, P.A. (2023) Cotação de Produtos Agrícolas.

Brodribb, T.J., Jordan, G.J., Carpenter, R.J. (2013) Unified changes in cell size permit coordinated leaf evolution. *New Phytol* 199: 559–570.

Cabrera-Bosquet, L., Sánchez, C., Araus, J.L. (2009) How yield relates to ash content, Δ13C and Δ18O in maize grown under different water regimes. *Ann Bot* 104: 1207–1216.

CABRERA-BOSQUET, L., SÁNCHEZ, C., ARAUS, J.L. (2009) Oxygen isotope enrichment (Δ 18 O) reflects yield potential and drought resistance in maize. *Plant Cell Environ* 32: 1487–1499.

Cairns, J.E., Sanchez, C., Vargas, M., Ordoñez, R., Araus, J.L. (2012) Dissecting Maize Productivity: Ideotypes Associated with Grain Yield under Drought Stress and Well-watered Conditions. *J Integr Plant Biol* 54: 1007–1020.

Campos, A.J. de M., Santos, S.M., Nacarath, I.R.F.F. (2021) Estresse hídrico em plantas: uma revisão. *Res Soc Dev* 10: e311101523155.

Cardoso, A.I.I. (2006) Dialelo entre linhagens de uma população de pepino do tipo “Caipira.” *Hortic Bras* 24: 259–263.

Carreira, R.S., Wagener, A.L.R., Readman, J.W., Fileman, T.W., Macko, S.A., Veiga, Á. (2002) Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, Guanabara Bay, Brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. *Mar Chem* 79: 207–227.

Catalho, L. (2021) Mais de 100 cidades do Paraná têm produção de milho-pipoca.

Chairi, F., Elazab, A., Sanchez-Bragado, R., Araus, J.L., Serret, M.D. (2016) Heterosis for water status in maize seedlings. *Agric Water Manag* 164: 100–109.

Costa, E.F.N., Santos, M.F., Moro, G.V., Alves, G.F., De Souza, C.L. (2008) Herança da senescência retardada em milho. *Pesqui Agropecu Bras* 43: 207–213.

Cruz, CDCD, Regazzi, AJ, Carneiro, PCSPCS, Regazzi, IAJ e Carneiro, P. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético.

Cruz, C.D. (2013) Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Sci Agron* 35: 271–276.

Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S., Regazzi, A.J. (2014) *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético - Vol II*. Viçosa: UFV, 668p.

Cruz, C.D., Vencovsky, R. (1989) Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Rev Bras Genética* 12: 425–438.

De Lima, V.J., Do Amaral Júnior, A.T., Kamphorst, S.H., Bispo, R.B., Leite, J.T., De Oliveira Santos, T., Medeiros Schmitt, K.F., Chaves, M.M., De Oliveira, U.A., Araújo Diniz Santos, P.H., Bernardo Gonçalves, G.M., Khan, S., Moreira

Guimarães, L.J. (2019) Combined dominance and additive gene effects in trait inheritance of drought-stressed and full irrigated popcorn. *Agronomy* 9: 6–8.

de Pina Matta, F., Soriano Viana, J.M. (2001) Popping expansion tests in popcorn breeding programs. *Sci Agrícola* 58: 845–851.

Durães, F.O.M., Santos, M.X. dos., Gama, E.E.G. e., Magalhães, P.C., Albuquerque, P.E.P., Guimarães, C.T. (2004) Fenotipagem Associada a Tolerância a Seca em Milho. *Circ Técnica - EMBRAPA* 39: 1–15.

Edmeades, G.O., Bolanos, J., Lafitte, H.R., Listman, G.M. (1995) Progress in breeding for drought tolerance in maize.

Eissenstat, D.M. (1992) Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *J Plant Nutr* 15: 763–782.

Elazab, A., Molero, G., Serret, M.D., Araus, J.L. (2012) Root traits and δ13C and δ18O of durum wheat under different water regimes. *Funct Plant Biol* 39: 379.

Elmyhun, M., Liyew, C., Shita, A., Andualem, M. (2020) Combining ability performance and heterotic grouping of maize (*Zea mays*) inbred lines in testcross formation in Western Amhara, North West Ethiopia. *Cogent Food Agric* 6: 1727625.

Esmaeili, N., Shen, G., Zhang, H. (2022) Genetic manipulation for abiotic stress resistance traits in crops. 2100: 1–17.

Farooq, M., Hussain, M., Siddique, K.H.M. (2014) Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-filling Periods. *CRC Crit Rev Plant Sci* 33: 331–349.

Filho, I.A.P. e., Borghi, E. (2019) Milho-pipoca é um novo atrativo para o produtor? | Revista Campo & Negócios. https://revistacampoenegocios.com.br/milho-pipoca-e-um-novo-atrativo-para-o-produtor/. Accessed 3 Nov 2021

Forell, G. Von., Robertson, D., Lee, S.Y., Cook, D.D. (2015) Preventing lodging in bioenergy crops: a biomechanical analysis of maize stalks suggests a new approach. *J Exp Bot* 66: 4367–4371.

Galinat, W.C. (1973) Intergenomic mapping of maize, teosinte and Tripsacum. *Evolution (N Y)* 644–655.

Galinat, W.C. (1988) The origin of corn. *Corn corn Improv* 18: 1–31.

Galkovskyi, T., Mileyko, Y., Bucksch, A., Moore, B., Symonova, O., Price, C.A., Topp, C.N., Iyer-Pascuzzi, A.S., Zurek, P.R., Fang, S., Harer, J., Benfey, P.N., Weitz, J.S. (2012) GiA Roots: software for the high throughput analysis of plant root system architecture. *BMC Plant Biol* 12: 116.

Gao, Y., Lynch, J.P. (2016) Reduced crown root number improves water acquisition under water deficit stress in maize (*Zea mays* L.). *J Exp Bot* 67: 4545–4557.

Garnier, E., Cordonnier, P., Guillerm, J.-L., Sonié, L. (1997) Specific leaf area and leaf nitrogen concentration in annual and perennial grass species growing in Mediterranean old-fields. *Oecologia* 111: 490–498.

Gazeta, E. (2020) Mato Grosso lidera também no milho-pipoca – Editora Gazeta. https://www.editoragazeta.com.br/mato-grosso-lidera-tambem-no-milho-pipoca/. Accessed 4 Nov 2021

Geraldi, I.O., de Miranda Filho, J.B. (1988) Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel corsses.

Griffing, B. (1956) Concept of General and Specific Combining Ability in Relation to Diallel Crossing Systems. *Aust J Biol Sci* 9: 463.

Hallauer, A.R., Carena, M.J., Miranda Filho, J.B. (2010) Quantitative Genetics in Maize Breeding. *New York, NY: Springer New York, 477–529p*.

Hassouni, K., Alahmad, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., Hickey, L.T., Bassi, F.M. (2018) Root System Architecture and Its Association with Yield under Different Water Regimes in Durum Wheat. *Crop Sci* 58: 2331–2346.

Heinemann, A.B. (2021) Implicações no programa de melhoramento de arroz de terras altas devido às mudanças climáticas no Brasil central. 58–59.

Hoagland, D. R; Arnon, D.L. (1950) The water culturemethod for growing plants without soils.

Hoseney, R.C., Zeleznak, K., Abdelrahman, A. (1983) Mechanism of popcorn popping. *J Cereal Sci* 1: 43–52.

Hsiao, T.C., Acevedo, E., Fereres, E., Henderson, D.W. (1976) Water stress, growth and osmotic adjustment. *Philos Trans R Soc London B, Biol Sci* 273: 479–500.

IPCC Working Group III. (2022) Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. Summary for Policymakers. *Cambridge Univ Press* 1–64.

John Afuye, K., John Kehinde, A. (2021) The Impact of Climate Change on Maize (*Zea mays*) Production; Assessing the Biotic and Abiotic Stress. *ResearchgateNet* 10: 1–7.

Kalaji, H.M., Dąbrowski, P., Cetner, M.D., Samborska, I.A., Łukasik, I., Brestic, M., Zivcak, M., Tomasz, H., Mojski, J., Kociel, H., Panchal, B.M. (2017) A comparison between different chlorophyll content meters under nutrient deficiency conditions. *J Plant Nutr* 40: 1024–1034.

Kamara, A.Y., Menkir, A., Badu-Apraku, B., Ibikunle, O. (2003) The influence of drought stress on growth, yield and yield components of selected maize genotypes. *J Agric Sci* 141: 43–50.

Kamphorst, S.H., Amaral Júnior, A.T. do., de Lima, V.J., Santos, P.H.A.D., Rodrigues, W.P., Vivas, J.M.S., Gonçalves, G.M.B., Schmitt, K.F.M., Leite, J.T., Vivas, M., Mora-Poblete, F., Vergara-Díaz, O., Araus Ortega, J.L., Ramalho, J.C., Campostrini, E. (2020a) Comparison of Selection Traits for Effective Popcorn (*Zea mays* L. var. Everta) Breeding Under Water Limiting Conditions. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2020.01289

Kamphorst, S.H., Amaral Júnior, A.T. do., Vergara-Diaz, O., Gracia-Romero, A., Fernandez-Gallego, J.A., Chang-Espino, M.C., Buchaillot, M.L., Rezzouk, F.Z., Lima, V.J. de., Serret, M.D., Ortega, J.L.A. (2022) Heterosis and reciprocal effects for physiological and morphological traits of popcorn plants under different water conditions. *Agric Water Manag* 261: 107371.

Kamphorst, S.H., de Lima, V.J., Do Amaral Júnior, A.T., Schmitt, K.F.M., Leite, J.T., Carvalho, C.M., Silva, R.M.R., Xavier, K.B., Fereira, F.R.A., Santos, P.H.A.D., Campostrini, E. (2018a) Popcorn breeding for water-stress tolerance or for agronomic water-use efficiency?. *Genet Mol Res*. doi: 10.4238/gmr18184

Kamphorst, S.H., de Lima, V.J., Schimitt, K.F.M., Leite, J.T., Azeredo, V.C., Pena, G.F., Santos, P.H.A.D., Júnior, D.R.S., Júnior, S.B. da S., Bispo, R.B., Santos, T.O., Khan, S., Júnior, A.T. do A. (2018b) Research Article Water stress adaptation of popcorn roots and association with agronomic traits. Genet Mol Res. doi: 10.4238/gmr18078

Kamphorst, S.H., do Amaral, A.T., de Lima, V.J., Moreira Guimarães, L.J., Medeiros Schmitt, K.F., Leite, J.T., Diniz Santos, P.H.A., Chaves, M.M., Mafra, G.S., dos Santos, D.R., Cruz, C.D., Campostrini, E. (2019) Can genetic progress for drought tolerance in popcorn be achieved by indirect selection?. *Agronomy* 9: 5–10.

Kamphorst, S.H., do Amaral Junior, A.T., de Lima, V.J., Carena, M.J., Azeredo, V.C., Mafra, G.S., Santos, P.H.A.D., Leite, J.T., Schmitt, K.F.M., dos Santos Junior, D.R., Bispo, R.B., Santos, T. de O., Oliveira, U.A. de., Pereira, J.L., Lamêgo, D.L., Carvalho, C.M., Gomes, L.P., Silva, J.G. de S., Campostrini, E. (2021) Driving Sustainable Popcorn Breeding for Drought Tolerance in Brazil. *Front Plant Sci.* doi: 10.3389/fpls.2021.732285

Kamphorst, S.H., Gonçalves, G.M.B., Do Amaral, A.T., De Lima, V.J., Leite, J.T., Schmitt, K.F.M., Dos Santos, D.R., Santos, J.S., De Oliveira, F.T., Corrêa, C.C.G., Rodrigues, W.P., Campostrini, E. (2020b) Screening of popcorn genotypes for drought tolerance using canonical correlations. *Agronomy* 10: 1–15.

Kempthorne, O., Curnow, R.N. (1961) The Partial Diallel Cross. *Biometrics* 17: 229.

Kennedy, P., Kennedy, H., Papadimitriou, S. (2005) The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Commun Mass Spectrom* 19: 1063–1068.

Koo, D.H., Jiang, J. (2008) Extraordinary tertiary constrictions of Tripsacum dactyloides chromosomes: Implications for karyotype evolution of polyploids driven by segmental chromosome losses. *Genetics* 179: 1119–1123.

Lambers, H., Atkin, O., Millenaar, F. (2002) Respiratory Patterns in Roots in Relation to Their Functioning. *In*: *Plant Roots*. CRC Press, p. 521–552 521–552.

Leite, J.T., Amaral Junior, A.T. do., Kamphorst, S.H., Lima, V.J. de., Santos Junior, D.R. dos., Alves, U.O., Azeredo, V.C., Pereira, J.L., Bispo, R.B., Schmidt, K.F.M., Viana, F.N., Viana, A.P., Vieira, H.D., Ramos, H.C.C., Ribeiro, R.M., Campostrini, E. (2022) All Are in a Drought, but Some Stand Out: Multivariate Analysis in the Selection of Agronomic Efficient Popcorn Genotypes. *Plants* 11: 2275.

Leite, J.T., Do Amaral Junior, A.T., Kamphorst, S.H., de Lima, V.J., Dos Santos Junior, D.R., Schmitt, K.F.M., de Souza, Y.P., Santos, T. de O., Bispo, R.B., Mafra, G.S., Campostrini, E., Rodrigues, W.P. (2021) Water use efficiency in popcorn (*Zea mays* l. var. everta): Which physiological traits would be useful for breeding?. *Plants* 10: 1–17.

Li, B., Tian, X., Wang, G., Pan, F., Li, Z. (2008) Heterosis of root growth in maize (*Zea mays* L.) seedling under water stress. *Acta Agron Sin* 34: 662.

Lima, V.J., Viana, A.P., Amaral Júnior, A.T., Kamphorst, S.H., Leite, J.T., Santos, P.H.A.D., Bispo, R.B., Santos, T.O. (2020) Exploring the use of testers to maximize selection accuracy of partially inbred S3 popcorn progenies. *Rev Bras Ciências Agrárias - Brazilian J Agric Sci* 15: 1–11.

Liu, S., Qin, F. (2021) Genetic dissection of maize drought tolerance for trait improvement. *Mol Breed*. doi: 10.1007/s11032-020-01194-w.

Lynch, J.P. (2013) Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Ann Bot* 112: 347–357.

Magalhães, P.C., Durães, F.O., Oliveira, A.C. (1998) Efeitos do quebramento do colmo no rendimento de grãos de milho. *Ciência e Agrotecnologia* 22: 279–289.

Mir, R.R., Zaman-Allah, M., Sreenivasulu, N., Trethowan, R., Varshney, R.K. (2012) Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor Appl Genet* 125: 625–645.

Nobre, R.G., Liberalino Filho, J., Praça, E.F., Dias, N. da S., Ferreira Neto, M. (2000) Avaliação da qualidade de diferentes marcas comerciais de milho-pipoca. *Rev Bras Eng Agrícola e Ambient* 4: 133–135.

Nurmberg, P.L., Souza, J.C., Ramalho, M.A.P., Ribeiro, P.H.E. (2000) Desempenho de híbridos simples como testadores de linhagens de milho em" Top-Crosses". Universidade Federal de Lavras.

Oliveira, A. (2021) Milhos especiais - cultivo do milho-pipoca | Cursos a Distância CPT. https://www.cpt.com.br/cursos-agricultura/artigos/milhos-especiais-cultivo-do-milho-pipoca. Accessed 30 Oct 2021

Pablo Marino, T., Augusto Carvalho Dias, H., Camila Seiko Nakagawa, A., Bianca Lopes, K., Gabriel Dalto, P., Dalsente Krause, M., Padia Cavalcante, A., Koltun, A., Rockembacher, R., Ronaldo Carvalho Paiva, M., Maria Pinto Moreira, R., Maldonado Ferreira, J. (2012) Dialelo Parcial entre Linhagens Endogâmicas dos Sintéticos ST06 e ST20.

Parkhurst, D.F. (1978) The Adaptive Significance of Stomatal Occurrence on One or Both Surfaces of Leaves. *J Ecol* 66: 367.

Perdomo, J.A., Conesa, M., Medrano, H., Ribas-Carbó, M., Galmés, J. (2015) Effects of long-term individual and combined water and temperature stress on the growth of rice, wheat and maize: Relationship with morphological and physiological acclimation. *Physiol Plant* 155: 149–165.

Pimentel, A.J.B., Souza, M.A. de., Carneiro, P.C.S., Rocha, J.R. do A.S. de C., Machado, J.C., Ribeiro, G. (2013) Análise dialélica parcial em gerações avançadas para seleção de populações segregantes de trigo. *Pesqui Agropecuária Bras* 48: 1555–1561.

Radoglou, K. M.; Jarvis, P.G. (1990) Effects of CO2 Enrichment on Four Poplar Clones. I. Growth and Leaf Anatomy. *Ann Bot* 65: 617–626.

Ranum, P., Peña-Rosas, J.P., Garcia-Casal, M.N. (2014) Global maize production, utilization, and consumption. *Ann N Y Acad Sci* 1312: 105–112.

Rikardy Tooge. (2020) De onde vem o que eu como: milho vai além da pipoca e alimenta a economia do país | Agro a indústria-riqueza do Brasil | G1. https://g1.globo.com/economia/agronegocios/agro-a-industria-riqueza-do-brasil/noticia/2020/08/03/de-onde-vem-o-que-eu-como-milho-vai-alem-da-pipoca-e-alimenta-a-economia-do-pais.ghtml. Accessed 3 Nov 2021.

Sabagh, A. El., Hossain, A., Barutçular, C., Khaled, A.A., Fahad, S., Anjorin, F.B., Islam, M.S., Ratnasekera, D., Kizilgeçi, F., Singh, G., 10, Y., Yıldırım, M., Konuskan, O., Saneoka, H. (2018) Sustainable maize (*Zea mays* L.) production under drought stress by understanding its adverse effect, survival mechanism and drought tolerance indices. *J Exp Biol Agric Sci*. doi: 10.18006/2018.6(2).xxx.xxx

Sangoi, L., Almeida, M.L. de., Silva, P.R.F. da., Argenta, G. (2002) Bases morfofisiológicas para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. *Bragantia* 61: 101–110.

Santos, M.X., Andrade, C.L.T., Oliveira, A.C., Leite, C.E.P., Carvalho, H.W.L., Gama, E.E.G., Pacheco, C.A.P., Gumarães, P.E.O., Parentoni, S.N. (2003) Comportamento de Híbridos de Milho Selecionados e não Selecionados para Asi sob Estresse de Água no Florescimento e no Enchimento de Grãos. *Rev Bras Milho e Sorgo* 2: 71–81.

Santos, R.F., Carlesso, R. (1998) Water Deficit and Morphologic and Physiologic Behavior of the Plants. *Rev Bras Eng Agrícola e Ambient* 2: 287–294.

Santos, T. de O., Do Amaral Junior, A.T., Bispo, R.B., de Lima, V.J., Kamphorst, S.H., Leite, J.T., Dos Santos Júnior, D.R., Santos, P.H.A.D., de Oliveira, U.A., Schmitt, K.F.M., Campostrini, E., Moulin, M.M., Viana, A.P., de Amaral Gravina, G., Corrêa, C.C.G., Gonçalves, G.M.B. (2021) Phenotyping latin american open-pollinated varieties of popcorn for environments with low water availability. *Plants*. doi: 10.3390/plants10061211.

Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho pipoca no Brasil. *O agronômico* 53: 11–13.

Sawazaki, E. (2010) “Milho pipoca.” *Congr Nac Milho e Sorgo Goiânia, GO UFG* 1–10.

Shoaib, M., Banerjee, B.P., Hayden, M., Kant, S. (2022) Roots’ Drought Adaptive Traits in Crop Improvement. *Plants* 11: 2256.

Silva, M.Z.T. da. (2020) A segurança e a soberania alimentares: conceitos e possibilidades de combate à fome no Brasil. *Config Rev Ciências Sociais* 97–111.

Sousa, R.S., de; Bastos, Edson Alves; Cardoso, Milton José; Ribeiro, Valdenir Queiroz; Brito, R.R. de B. (2015) Performance of maize genotypes under water deficit. 14: 49–60.

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M., Murphy, A., others. (2015) *Plant physiology and development.* Sinauer Associates Incorporated,

Tardieu, F. (2013) Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. Front Physiol. doi: 10.3389/fphys.2013.00017

Tissot, U.F., Zambiazi, R.C., Mendonça, C.R.B. (2001) Milho-Pipoca: Caracterização Física, Química, Microbiológica E Sensorial. *Bol do Cent Pesqui Process Aliment* 19: 1–12.

Tollenaar, M., Ahmadzadeh, A., Lee, E.A. (2004) Physiological Basis of Heterosis for Grain Yield in Maize. *Crop Sci* 44: 2086.

Tollenaar, M., Lee, E.A. (2006) Dissection of physiological processes underlying grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis. *Maydica* 51: 399–408.

Trachsel, S., Kaeppler, S.M., Brown, K.M., Lynch, J.P. (2011) Shovelomics: high throughput phenotyping of maize *(Zea mays* L.) root architecture in the field. *Plant Soil* 341: 75–87.

Vencovsky, R., Barriga, P. (1992) *Genética biométrica no fitomelhoramento*. Sociedade. Ribeirão Preto 496p.

Vergara-Díaz, O., Zaman-Allah, M.A., Masuka, B., Hornero, A., Zarco-Tejada, P., Prasanna, B.M., Cairns, J.E., Araus, J.L. (2016) A Novel Remote Sensing Approach for Prediction of Maize Yield Under Different Conditions of Nitrogen Fertilization. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2016.00666.

Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. (2007) Heat tolerance in plants: An overview. *Environ Exp Bot* 61: 199–223.

Wang, C., Linderholm, H.W., Song, Y., Wang, F., Liu, Y., Tian, J., Xu, J., Song, Y., Ren, G. (2020) Impacts of Drought on Maize and Soybean Production in Northeast China During the Past Five Decades. *Int J Environ Res Public Health* 17: 2459.

Yousfi, S., Serret, M.D., Araus, J.L. (2009) Shoot δ15N gives a better indication than ion concentration or Δ13C of genotypic differences in the response of durum wheat to salinity. *Funct Plant Biol* 36: 144.

Yousfi, S., Serret, M.D., Márquez, A.J., Voltas, J., Araus, J.L. (2012) Combined use of δ 13 C, δ 18 O and δ 15 N tracks nitrogen metabolism and genotypic adaptation of durum wheat to salinity and water deficit. *New Phytol* 194: 230–244.

Zaidi, P.H., Srinivasan, G., Cordova, H.., Sanchez, C. (2004) Gains from improvement for mid-season drought tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). *F Crop Res* 89: 135–152.

Zhan, A., Schneider, H., Lynch, J.P. (2015) Reduced Lateral Root Branching Density Improves Drought Tolerance in Maize. *Plant Physiol* 168: 1603–1615.

Zhao, W., Sun, Y., Kjelgren, R., Liu, X. (2015) Response of stomatal density and bound gas exchange in leaves of maize to soil water deficit. *Acta Physiol Plant* 37: 1704.

Zia, S., Romano, G., Spreer, W., Sanchez, C., Cairns, J., Araus, J.L., Müller, J. (2013) Infrared Thermal Imaging as a Rapid Tool for Identifying Water-Stress Tolerant Maize Genotypes of Different Phenology. *J Agron Crop Sci* 199: 75–84.

Ziegler K.E. (2001) Popcorn. In: Hallauer AR (ed) Specialty Corns. *CRC Press Boca Raton, Florida* 205–240.

Zinsly, J.R., Machado, J.A. (1978) [Popcorn maize [Variety; Vegetable genetics; *Zea mays*]].[Portuguese].