



**MATEUS VILELA PIRES**

**ANATOMIA FOLIAR DE DOIS GENÓTIPOS DE MILHO  
SUBMETIDAS À SECA E SUA INFLUÊNCIA NO  
CRESCIMENTO E NAS TROCAS GASOSAS**

**LAVRAS – MG  
2019**

**MATEUS VILELA PIRES**

**ANATOMIA FOLIAR DE DOIS GENÓTIPOS DE MILHO SUBMETIDAS À SECA E  
SUA INFLUÊNCIA NO CRESCIMENTO E NAS TROCAS GASOSAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pires, Mateus Vilela.

Anatomia foliar de dois genótipos de milho submetidas à seca e sua influência no crescimento e nas trocas gasosas /

Mateus Vilela Pires. - 2019.

58 p. : il.

Orientador(a): Evaristo Mauro de Castro.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Zea mays L. 2. Anatomia foliar. 3. Déficit hídrico. I. de Castro, Evaristo Mauro. II. Título.

**MATEUS VILELA PIRES**

**ANATOMIA FOLIAR DE DOIS GENÓTIPOS DE MILHO SUBMETIDAS À SECA E  
SUA INFLUÊNCIA NO CRESCIMENTO E NAS TROCAS GASOSAS**

**LEAF ANATOMY OF TWO MAIZE GENOTYPES UNDER DROUGHT AND THEIR  
INFLUENCE ON GROWTH AND GAS EXCHANGES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2019.

Dr. Fabrício José Pereira UNIFAL

Dr. Marcelo Polo UNIFAL

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2019**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus sempre por me ajudar nas jornadas de trabalho e pelas suas bênçãos na minha vida, dando força persistência e coragem para enfrentar os obstáculos da vida.

À Universidade Federal de Lavras / Departamento de Biologia e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pela oportunidade de realização da minha formação profissional.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pelo apoio e boa qualidade que proporcionou para realização do projeto de pesquisa.

Ao professor Dr. Evaristo Mauro de Castro pela orientação, amparo, confiança, amizade e pelos ensinamentos fundamentais para minha formação.

Aos professores Fabrício, Marinês e Jean pelo apoio e pelas contribuições no meu trabalho e na minha formação.

Aos meus grandes companheiros e amigos de pesquisa Márcio Paulo e Bethânia, pelos ensinamentos, convivência, grande ajuda e comprometimento no projeto de pesquisa.

Ao Ítalo pelo apoio no laboratório de anatomia vegetal do programa de Pós-Graduação em Botânica aplicada.

Aos meus amigos do Mestrado e Doutorado em Botânica Aplicada pela convivência e ensinamentos, dando força uns aos outros.

Agradeço a minha esposa, Marisa, pela motivação, compreensão e amor.

Agradeço aos meus pais, José e Nilza, pela confiança, dignidade e por sempre motivarem os meus estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001, e agradeço pela concessão da bolsa de estudos e pelo auxílio no desenvolvimento do projeto.

## RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é o principal cereal cultivado no mundo e sua produção está enfrentando grandes desafios como resultado da crescente frequência e intensidade da seca. Nesse contexto, as plantas apresentam uma gama de modificações morfofisiológicas para a resistência à seca. Dessa forma, são necessários mais estudos para a identificação de genótipos mais resistentes à deficiência hídrica decorrentes das mudanças climáticas visando a descoberta de modificações morfofisiológicas mediando respostas de tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca. Objetivou-se neste trabalho avaliar quais as modificações morfofisiológicas das folhas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) no estágio vegetativo sob deficiência hídrica, que contribuem na identificação da tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca. O experimento foi realizado com a utilização de dois genótipos de milho contrastantes em relação à resistência à seca, montado em esquema fatorial 2x2, sendo composto por dois genótipos de milho (DKB 390 tolerante e BRS 1010 sensível) e dois regimes de irrigação: plantas irrigadas (PI) e plantas sob deficiência hídrica (PDH). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com temperatura de 25±2 °C. As plantas sob deficiência hídrica foram mantidas com 30% da capacidade de campo, e os tratamentos irrigados foram mantidos a 100%, no período experimental de 30 dias. Após os períodos experimentais, foram realizadas análises de crescimento, trocas gasosas e análise quantitativa anatômica. O déficit hídrico provocou redução no crescimento, diminuição do potencial hídrico foliar e reduziu os tecidos vasculares em ambos os genótipos. O genótipo BRS 1010, considerado sensível, investe em mecanismo de evitação a seca devido a sua sensibilidade, por meio de modificações morfofisiológicas, ou seja, melhoram a habilidade na eficiência no uso da água, através da redução na transpiração, condutância estomática, aumento na densidade estomática (resistência estomática) e maior razão raiz parte/aérea. O genótipo DKB 390, considerado tolerante à seca, investe principalmente em mecanismos de tolerância, através de suas atividades fisiológicas normais mesmo em condições de déficit hídrico, ocorrendo a manutenção do turgor celular a nível de parte aérea, para manutenção das células, não levando à fotoinibição nem a danos às folhas.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. Anatomia foliar. Turgor celular. Déficit hídrico.

## ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is the primary cultivated cereal in the world, and its production is facing significant challenges due to drought increase in the frequency and intensity. In this context, plants present a range of morphophysiological modifications for the resistance to drought. Thus, more studies are needed to identify genotypes that are more resistant to water deficiency due to climatic changes, aiming at the discovery of morphophysiological modifications mediating tolerance or sensitive (avoidance) responses to drought. The objective of this study was to evaluate the morphophysiological changes of leaves of two maize genotypes DKB 390 (Tolerant) and BRS 1010 (Sensitive) in the vegetative stage under water deficit, which contribute to the identification of tolerance or sensitivity (avoidance) to drought. The experiment was carried out using two contrasting maize genotypes in relation to dry resistance, designed in a 2x2 factorial scheme. It was composed of two maize genotypes (DKB 390 tolerant and BRS 1010 sensitive) and two irrigation systems: irrigated plants (PI) and plants under water deficiency (PDH). The plants were grown in a greenhouse at  $25 \pm 2$  °C. Plants under water deficiency were maintained at 30% of the field capacity, and irrigated treatments were maintained at 100% of the field capacity, in the experimental period of 30 days. After the experimental period, growth, gas exchange, and quantitative anatomical analysis were performed. The water deficit reduced plant growth, decreased the leaf water potential, and reduced vascular tissue in both genotypes. The genotype BRS 1010, which is considered sensitive, invested in drought avoidance mechanism due to its sensitivity, through morphophysiological modifications, improving the ability in water use efficiency by reduction in perspiration, stomatal conductance, increase in density (stomatal resistance), and higher root/shoot ratio. The DKB 390 genotype, which is considered drought tolerant, invested mainly in tolerance mechanisms, through its normal physiological activities even under conditions of water deficit. Moreover, there was the maintenance of the cellular turgor at the level of aerial part for maintenance of the cells, which did not lead to photoinhibition and leaf damage.

**Keywords:** *Zea mays* L.. Leaf anatomy. Cellular turgor. Water deficit.

## LISTA DE FIGURAS

### SEGUNDA PARTE – ARTIGO

#### ARTIGO 1

Figura 1 - Características do crescimento de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	36
Figura 2 - Características do crescimento de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	37
Figura 3 - Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante 30 dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	38
Figura 4 - Características de trocas gasosas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	39
Figura 5 - Características anatômicas foliares de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante 30 dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	40
Figura 6 - Características anatômicas da espessura do mesofilo de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	41
Figura 7 - Secções transversais representando a lamina foliar de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	41
Figura 8 - Características anatômicas foliares de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	42
Figura 9 - Secções paradérmicas da face adaxial da epiderme da folha representando a densidade de estômatos e células epidérmicas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico. ....	43



## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	<b>9</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>9</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
2.1 A cultura do milho.....	11
2.2 Efeitos da deficiência hídrica na cultura do milho .....	12
2.3 Modificações morfofisiológicas nas folhas causadas pela seca .....	13
2.4 Mecanismo de resistência à seca .....	14
2.5 Modificações anatômicas foliares causadas pela seca .....	16
2.6 Estudos de tolerância e sensibilidade à seca dos genótipos selecionados .....	17
<b>3 CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	<b>20</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>
<b>SEGUNDA PARTE</b> .....	<b>27</b>
<b>ARTIGO 1 - AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DAS FOLHAS DO MILHO MELHORAM A RESISTÊNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO</b> .....	<b>27</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
2.1 Local de execução .....	31
2.2 Material vegetal .....	31
2.3 Delineamento experimental .....	31
2.4 Condições de cultivo .....	31
2.5 Análise de crescimento .....	32
2.6 Análise das trocas gasosas.....	32
2.7 Análise do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) .....	32
2.8 Análise quantitativa anatômica .....	33
2.9 Análise estatística.....	34
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
3.1 Características do crescimento.....	35
3.2 Características fisiológicas.....	38
3.3 Características anatômicas foliares .....	39
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>52</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura é uma atividade altamente dependente de fatores climáticos, por isso a mudança no clima pode afetar a produção agrícola de várias formas: mudança na severidade de eventos extremos, alterações na temperatura do ar, falta de água durante períodos de estiagem, doenças, pragas dentre outros. Sendo o estresse hídrico o principal fator responsável pelas perdas de produtividade do milho.

Segundo a United States Department of Agriculture (USDA, 2017), a produção mundial de milho (*Zea mays* L.) encontra-se, hoje, por volta de 1,64 bilhões de toneladas. Desse total, 36,25% provêm dos EUA, maior produtor, produzindo aproximadamente duas vezes mais que a China, segundo maior produtor, e aproximadamente 4,3 vezes mais que o Brasil, terceiro maior produtor. Esses três países contribuem com 66,68% da produção mundial. Os EUA também alcançam o mais alto índice de produtividade (10,670 t ha<sup>-1</sup>), sendo esse, aproximadamente duas vezes maior que a do Brasil com 5,2 t ha<sup>-1</sup>. Especificamente o milho é o cereal mais cultivado e consumido no Brasil (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2015).

Devido ao alto potencial de produção, sua ampla distribuição geográfica e sua alta variabilidade genética, o milho é uma espécie que apresenta grande potencial adaptativo para condições de deficiência hídrica, devido às novas tecnologias para seleção de genótipos mais resistentes à seca (CLEMENTE, 2017). Sendo assim, mesmo com sua ampla distribuição geográfica, um dos fatores que mais afeta a produtividade do milho é a estiagem, responsável pelas perdas de produtividade da cultura ao longo dos anos. Dessa forma, uma estiagem de grandes proporções, em regiões produtoras de milho, tem reflexos no mercado internacional de grãos e no agronegócio vinculado à sua produção, industrialização e comercialização (BERGAMASCH; MATZENAUER, 2014).

Pesquisas com a cultura do milho frente às mudanças climáticas, como a deficiência hídrica, são essenciais para o bom desempenho produtivo do milho, bem como sua estabilidade, pois objetivam desenvolver genótipos competitivos, que possuam características agronômicas desejáveis, adaptados às condições de seca, que estão correlacionadas a diversos fatores morfofisiológicos, que interagem entre si para expressar características de adaptabilidade e tolerância aos níveis de estresse. Dessa forma, são necessários mais estudos visando à identificação de genótipos tolerantes aos estresses abióticos decorrentes das

mudanças climáticas visando à descoberta de modificações morfológicas, fisiológicas e anatômicas mediando respostas de tolerância à seca.

Assim, a identificação e a caracterização destas modificações de tolerância do genótipo DKB 390 e na sua sensibilidade do genótipo BRS 1010 sob a deficiência hídrica, pode contribuir no entendimento dos tipos de modificações morfofisiológicas envolvidas na tolerância ou evitação à seca, auxiliando para a seleção de variedades mais competitivas, servindo como um fenótipo desejável nas condições de seca que poderá ser usado em programas de melhoramento genético. Diante ao exposto, no presente trabalho, o objetivo foi avaliar quais as modificações morfofisiológicas das folhas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (sensível) no estágio vegetativo sob deficiência hídrica, que contribuem na identificação da tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é originário da América Central e cultivado em todo o Brasil possuindo uma grande importância econômica, em decorrência das diversas formas de sua utilização, desde a alimentação humana e animal até a sua utilização na produção de biocombustíveis (FORNASIERI FILHO, 2007). O milho é cultivado praticamente em todo o território brasileiro e a maior parte da sua produção nacional concentra-se nas regiões Sul, Centro-oeste e Sudeste, correspondendo a 90% do total produzido no país (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2017). A estimativa de produção do milho, no Brasil, na safra 2018/2019 é de 90,018 milhões de toneladas, distribuídas entre primeira safra (26,283 milhões de toneladas) e segunda safra (safrinha) 63,734 milhões de toneladas, apresentando uma importância no crescimento do cenário econômico do Brasil (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2018).

No Brasil, o milho pode ser produzido em duas épocas: no período chuvoso ou plantio de verão (Primeira safra) e o plantio do milho safrinha, referente ao milho sequeiro, plantado nos meses de fevereiro e março (MATTOSO et al., 2006). Em período de milho safrinha, é comum ocorrer frio nos estádios mais avançados da cultura (florescimento e enchimento de grãos) e deficiência hídrica (seca) em vários estádios de desenvolvimento (MAGALHÃES; DUARTE; GUIMARÃES, 2007). No cultivo do milho, os fatores climáticos que exercem maior influência são: a radiação solar, a precipitação e a temperatura que interferem diretamente nas atividades fisiológicas da planta e, conseqüentemente, na produção de grãos e massa seca (LANDAU; SANS; SANTANA, 2009).

Estudos que avaliam a tolerância à seca para a cultura do milho podem trazer melhorias no crescimento e no rendimento da cultura em regiões que possuem limitação hídrica (LI; SPERRY; SHAO, 2009). Dessa forma, existem várias pesquisas sobre a tolerância à seca em diferentes genótipos de milho, realizando o entendimento de modificações morfofisiológicas para seleção ou criação de genótipos tolerantes a estresses abióticos, que promovem maior potencial produtivo. No entanto, são importantes mais pesquisas que mostrem quais as modificações morfofisiológicas das folhas que atribuem a tolerância do genótipo (DKB 390) e sua sensibilidade (BRS 1010) na seca.

## 2.2 Efeitos da deficiência hídrica na cultura do milho

Meteorologicamente, a seca se refere a um período de tempo suficientemente longo em que não há água suficiente no solo, o que pode resultar em lesão ou perda de produtividade em uma vegetação (KNEEBONE; MANCINO; KOPEC, 1992; MITRA, 2001).

Os estresses ambientais desencadeiam uma ampla variedade de respostas, variando na alteração da expressão gênica, metabolismo celular, mudanças na taxa de crescimento e produtividade da planta (Shao et al., 2008). O milho e a maioria das plantas cultivadas pertencem ao grupo das plantas mesófitas (que ocorrem principalmente em ambientes semiáridos e sub úmidos), o que faz com que a deficiência hídrica seja um problema para essas plantas (KNEEBONE; MANCINO; KOPEC, 1992; MITRA, 2001).

A consequência primária do déficit hídrico no rendimento de grãos ocorre devido à redução na expansão das folhas e à redução do aproveitamento dos nutrientes do solo (CLAASSEN; SHAW, 1970). O rendimento das culturas pode ser afetado mesmo em anos climaticamente favoráveis, se o déficit hídrico ocorrer no período crítico de desenvolvimento da cultura. Durante o período vegetativo, o déficit hídrico reduz o crescimento do milho, em função da redução da área foliar, dos entrenós e biomassa (BERGAMASCHI et al., 2007). O estresse hídrico poderá retardar ou, até mesmo, paralisar o crescimento vegetativo, bem como atrasar o desenvolvimento reprodutivo das plantas (FANCELLI, 2002). Em torno do estágio V10 o tempo de aparecimento de novas folhas é muito curto, da ordem de 2 a 3 dias (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014). As plantas iniciam um rápido aumento no acúmulo de nutrientes e massa seca, que continuará durante o período reprodutivo. A demanda por água e nutrientes aumenta, com o aumento na taxa de crescimento (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993). Sendo assim se o estresse hídrico avançar até a fase reprodutiva, poderá afetar ainda mais a produção de grãos. Segundo Magalhães e Durães (2006) o efeito mais pronunciado do déficit hídrico na produção de grãos ocorre no período de quinze dias antes e quinze dias após o florescimento, o qual é denominado de período crítico da cultura.

O estresse pela baixa disponibilidade hídrica (seca) é um dos principais problemas da agricultura e a habilidade das plantas para resistir a tal estresse é de relevância para o desenvolvimento do agronegócio de qualquer país (SHAO et al., 2008). Dessa forma, compreender estas respostas das plantas à seca é fundamental para tornar as culturas mais tolerantes à deficiência hídrica.

### 2.3 Modificações morfofisiológicas nas folhas causadas pela seca

O milho é uma planta de ciclo anual, pertencente à família Poaceae, que apresenta baixo ponto de saturação de CO<sub>2</sub>, caracterizada por ser uma planta C<sub>4</sub> que inicialmente envolve a fixação de CO<sub>2</sub> pela fosfoenolpiruvatocarboxilase (PEPC), nas células do parênquima fotossintetizante, formando um ácido de quatro carbonos, seguido pela sua descarboxilação nas células do feixe que resulta na liberação de CO<sub>2</sub> reassimilado pela ribulose-1-5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (TAIZ; ZEIGER, 2009). Possuem altas taxas fotossintéticas e baixo consumo de água para a formação de massa fresca (FANCELLI; DOURADO-NETO, 2000).

O pequeno desequilíbrio no fluxo da água dentro das células pode causar danos e mau funcionamento de muitos processos celulares. Como exemplo há as folhas de plantas C<sub>4</sub>, que quando abrem os estômatos para absorver o gás carbônico necessário à fotossíntese, perdem cerca de 250 moléculas de H<sub>2</sub>O para cada molécula de CO<sub>2</sub> absorvido, valor este que oferece a razão de altas taxas de transpiração para essas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2009), sendo que a deficiência hídrica leva à diminuição de sua transpiração. Dentre outras principais mudanças apresentadas por plantas submetidas ao estresse hídrico, pode-se citar a diminuição na condutância estomática decorrente do fechamento dos estômatos e das perdas de água por transpiração, e, conseqüentemente, a diminuição da fotossíntese (XOCONOSTLE-CAZARES et al., 2010), alteração na permeabilidade da cutícula nas folhas, redução de turgor, enrolamento das folhas, redução da área foliar, menor crescimento da parte aérea, maior crescimento do sistema radicular e abscisão floral (BASTOS et al., 2011; SILVA et al., 2011; VARSHNEY et al., 2011; XOCONOSTLE-CAZARES et al., 2010). Segundo Magalhães, Durães e Paiva (1995), alguns mecanismos podem contribuir para a tolerância à seca e que têm sido considerados em programas de melhoramento genético, tais como: sistema radicular extenso ou maior relação raiz/parte aérea, cutícula foliar (com maior espessura e cerosidade), mudanças nos vasos foliar, comportamento e densidade estomática, ajuste osmótico e resistência à desidratação das células.

Diferentemente dos animais, as plantas possuem células com paredes celulares, que suportam grandes pressões hidrostáticas chamadas de pressão de turgor. A pressão de turgor é essencial para muitos processos fisiológicos e de morfogênese, incluindo a expansão celular, trocas gasosas nas folhas, transporte no floema e vários processos de transporte pelas membranas (TAIZ; ZEIGER, 2009). Dessa forma, a deficiência hídrica afeta principalmente a

pressão de turgor e isso possui implicações biológicas fundamentais que devem ser investigadas.

De acordo com Farooq et al. (2009), o crescimento é alcançado através da divisão, expansão e diferenciação celulares, e envolve eventos genéticos, fisiológicos, ecológicos e morfológicos e suas complexas interações. Estas afirmações quanto à deficiência hídrica afeta principalmente a divisão celular (mitose), o alongamento e a expansão celular, resultando na redução da altura da planta, área foliar e crescimento da cultura (HUSSAIN et al., 2008; KAYA et al., 2006; NONAMI, 1998). Segundo Zhao et al. (2018), o estresse hídrico ocorrido durante o estágio vegetativo reduz a altura das plantas, massa seca da parte aérea, bem como o desenvolvimento da área foliar em comparação com as plantas bem irrigadas.

O fechamento estomático é um processo regulado por vários fatores, como a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> nas folhas, concentrações de solutos celulares, pH e ácido abscísico (ABA) produzido na folha ou na raiz (BLUM, 2009), limita a condutância estomática e a transpiração, que por sua vez, reduz a taxa fotossintética e a absorção de nutrientes (SILVA et al., 2006). Sendo assim, a baixa disponibilidade de água causa redução no crescimento, ocasionada pela diminuição da expansão e do alongamento celulares, em razão do decréscimo da turgescência (YASSEEN; AL-OMARY, 1994).

Sob o estresse da seca, as plantas alocam menos recursos para o crescimento da parte aérea em relação à raiz, o que pode resultar na redução da parte aérea e maior desenvolvimento das raízes para aumentar a aquisição de água (SHARP; DAVIES, 1989). O desequilíbrio entre a disponibilidade de água no solo e a demanda evaporativa, é capaz de reduzir o acúmulo de carbono, a expansão de tecidos e o número de células (MAGALHÃES; ALBUQUERQUE; VIANA, 2012).

#### **2.4 Mecanismo de resistência à seca**

A resposta à seca em plantas pode ser dividida em quatro tipos básicos: àquelas que evitam a seca, as que toleram a seca, as que escapam da seca e as plantas que se recuperam da seca (LAWLOR, 2012; FANG; XIONG, 2015). Dentre esses quatro tipos básicos, as plantas que evitam a seca e as plantas que toleram a seca são os dois principais mecanismos de resistência apresentado pelas plantas (YUE et al., 2006).

As plantas evitam a seca por meio da capacidade de manter processos fisiológicos fundamentais em condições de estresse hídrico leve ou moderado, por meio do ajuste de certas estruturas morfológicas ou taxas de crescimento, de modo a evitar os efeitos negativos

causados pelo estresse hídrico (BLUM, 2005; FANG; XIONG, 2015). Plantas que evitam a seca são caracterizadas pela manutenção de altos potenciais hídricos sob deficiência hídrica (FANG; XIONG, 2015; LUO, 2010). As plantas geralmente adotam três estratégias para evitar a seca: (1) reduzem a perda de água, através do rápido fechamento estomático, enrolamento foliar e aumento do acúmulo de cera na superfície da folha (FANG; XIONG, 2015; ZHANG et al., 2005); (2) melhoram a habilidade de absorção de água, através do desenvolvimento de um sistema radicular bem desenvolvido, com enraizamento mais profundo, aumento da densidade de raízes ou aumento da razão raiz/parte aérea e aumento da capacidade de armazenamento de água em órgãos específicos (como o tecido parênquima aquífero) (TARDIEU, 2013; OGBURN; EDWARDS, 2010) e (3) aceleram ou desaceleram a conversão de crescimento vegetativo para crescimento reprodutivo, a fim de evitar o aborto no estágio severo de seca (MITRA, 2001; LUO, 2010).

A tolerância à seca refere-se à capacidade das plantas em sustentar certo nível de atividades fisiológicas sob severas condições de estresse hídrico através da regulação de genes e de vias metabólicas para reduzir ou reparar os danos (FANG; XIONG, 2015; LUO, 2010). As plantas comumente exercem a tolerância protoplasmática, aumentando a quantidade de moléculas osmorreguladoras nas células a fim de manter o turgor celular, ajustar as atividades enzimáticas de defesa celular e reduzir o acúmulo de substâncias danosas ao seu metabolismo (FANG; XIONG, 2015).

O mecanismo associado à tolerância à seca, como o ajuste osmótico, constitui-se em um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes para manutenção da turgescência celular, sob condições de baixo potencial hídrico no solo (MARIJUAN; BOSCH, 2013). Esse mecanismo se estabelece mediante o acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de solutos compatíveis (prolina, glicina, betaína, trealose, sacarose, poliaminas, manitol, pinitol, entre outros) que contribuem para a manutenção do equilíbrio hídrico e a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (ASHRAF et al., 2011; MARIJUAN; BOSCH, 2013).

A regulação e manutenção do balanço hídrico celular também é um mecanismo de tolerância à seca e têm sido estudadas através das proteínas aquaporinas (AQPs), que têm como função facilitar a passagem de água passivamente entre as membranas (LIAN et al., 2004). Estudos moleculares envolvendo análise de expressão de AQPs e relações hídricas na planta vêm melhorando a compreensão dos mecanismos envolvidos no transporte de água e solutos (MAUREL et al., 2008). As aquaporinas são proteínas integrais de membrana que formam canais de transporte de solutos e água, facilitando os potenciais das relações hídricas das células vegetais, que refletem seus principais papéis na osmorregulação das células em



plantas (WALLACE; CHOI; ROBERTS, 2006), na condutividade hidráulica foliar (SIEFRITZ et al., 2002), na transpiração (SADE et al., 2010) e no alongamento celular (HUKIN et al., 2002). As aquaporinas estão potencialmente envolvidas nos processos de crescimento e divisão celular sendo expressas nas células do primórdio foliar e nas células meristemáticas em divisão (CHAUMONT et al., 1998; HACHEZ et al., 2008; JONES; MULLET, 1995; YAMADA et al., 1997).

## **2.5 Modificações anatômicas foliares causadas pela seca**

As modificações anatômicas podem ocorrer em plantas frente ao déficit hídrico como forma de adaptação às condições de seca. Tais adaptações são resultados das relações dos organismos com o seu ambiente e das características do genótipo do indivíduo (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

A adaptação a ambientes áridos dotou as plantas de mecanismos específicos que lhes permitem enfrentar com sucesso a reduzida transpiração e a fotossíntese. Tais mecanismos incluem o acúmulo de substâncias osmoticamente ativas presentes nos vacúolos (manutenção do turgor celular), aumento do número de estômatos (melhor controle da perda de água), redução do volume dos espaços intercelulares no mesofilo (diminuição da quantidade de vapores de água difundidos para os estômatos) e aumento do número de células do mesofilo (mais numerosos cloroplastos e maior superfície celular para a captação de CO<sub>2</sub>) (CHARTZOULAKIS; PATAKAS; BOSABALIDIS, 1999; PATAKAS; NOITSAKIS, 1999).

O aumento na densidade estomática pode ser relacionado com uma maior capacidade das plantas em captar o CO<sub>2</sub> da atmosfera e, dessa forma, aumentar a eficiência fotossintética por permitir que maior quantidade desse gás seja fixada (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009). Sendo assim, o maior número de estômatos por área, pode estar correlacionado com maior eficiência na abertura e o fechamento dos estômatos, retardando a perda de água pela transpiração, que frequentemente é observada em condições de menor disponibilidade de água (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009; SOUZA et al., 2007).

O estresse hídrico pode modificar as estruturas do mesofilo, ocorrendo o aumento na densidade de células, redução dos espaços intercelulares e no tamanho das células (BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002; CHARTZOULAKIS et al., 2002). Os estômatos possuem considerável importância nessas alterações, pois o movimento de água contida nos espaços intercelulares para a atmosfera ocorre quase que completamente por difusão do vapor de água através deles, cujo principal mecanismo de controle é o fechamento estomático (TAIZ;

ZEIGER, 2009), e com esta redução dos espaços intercelulares ocorre maior eficiência no uso da água. Ainda é possível afirmar que a redução no tamanho dos estômatos é um evento reconhecidamente importante na regulação das trocas gasosas, uma vez que folhas com estômatos menores apresentam maior eficiência no uso da água por apresentarem um menor tamanho dos poros estomáticos, condicionando assim uma menor perda de água por transpiração (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003). A maior espessura do mesofilo, sendo o parênquima clorofiliano, pode estar relacionada com maior eficiência do ponto de vista fotossintético (BACELAR et al., 2004; GUERFEL et al., 2009).

Fang e Xiong (2015) também citam algumas modificações anatômicas em plantas sob estresse hídrico, como a redução dos tecidos condutores xilema/floema, folhas menores e mais espessas, maior quantidade de tricomas epidérmicos, estômatos menores e em maior densidade, epiderme com cutícula mais espessa.

A redução na área do tecido vascular sugere maior capacidade das plantas em manter o transporte de água e redução da possibilidade de cavitação sob deficiência hídrica, uma vez que a embolia é uma das principais causas de morte das plantas durante a seca (CHOA et al., 2016).

Os tricomas são estruturas importantes na adaptação em ambientes xéricos, pois mantêm uma atmosfera saturada em vapor de água em torno da folha (FAHN, 1986; LARCHER, 2004). Além desse efeito direto reduzindo a transpiração, estas estruturas podem também influenciar indiretamente a economia de água das plantas através da regulação da temperatura pela reflexão da radiação solar que chega até as folhas (FAHN, 1986; LARCHER, 2004; SALATINO; MONTENEGRO; SALATINO, 1986).

A presença de cerosidade, na superfície das folhas, também possui papel regulatório sobre a elevada transpiração foliar das plantas, reduzindo a perda de água pela transpiração excessiva (LAMHAMEDI et al., 2003).

## **2.6 Estudos de tolerância e sensibilidade à seca dos genótipos selecionados**

Alguns estudos foram realizados com os genótipos (DKB 390) e (BRS 1010) em relação a sua produtividade e morfofisiologia na deficiência hídrica, a respeito da interação das plantas com o ambiente e suas respostas aos diferentes estímulos de tolerância ou sensibilidade à seca.

O genótipo DKB 390 está relacionado a um maior rendimento de grãos em relação ao genótipo BRS 1010 sob deficiência hídrica, sendo considerado tolerante à seca, como o

estudo feito por Cardoso et al. (2012), selecionando 72 cultivares de milho submetidas à deficiência hídrica que apresentavam tolerância à seca e ao calor, em seus resultados observou-se que o genótipo DKB 390 produziu acima da média geral, apresentando grande tolerância à seca relacionado a um aumento no rendimento de grãos comparado ao genótipo BRS 1010 na seca, que apresentou sensibilidade à seca e redução de grãos. Martins (2012), também observou que o genótipo DKB 390 apresentou maior desempenho agrônômico sob déficit hídrico, com valor médio de rendimento de grãos de 6.806,3 kg ha<sup>-1</sup>, em relação aos outros genótipos.

Outros estudos foram feitos em relação a características morfofisiológicas, como o de Souza et al. (2013b) estudando a morfofisiologia e rendimento de grãos em campo para dois híbridos de milho com resposta contrastante ao estresse hídrico, concluiu-se que mudanças morfofisiológicas e morfoanatômicas significativas, relacionadas à tolerância à seca, ocorreram em DKB 390, levando a um maior rendimento de grãos em campo. Outro estudo realizado por Souza et al. (2013a), investigando o papel da aplicação do ácido abscísico (ABA) e alguns parâmetros fisiológicos no estágio reprodutivo, em dois híbridos (DKB 390 e BRS 1030), concluiu que o DBK 390 foi mais responsivo à aplicação do ABA do que o BRS 1030, apresentando maior conteúdo endógeno de ABA no primeiro dia de estresse. O DBK 390 com aplicação ABA reduziu o efeito do estresse hídrico através da manutenção do estado da água, um aumento dos parâmetros fotossintéticos e uma diminuição do declínio nas funções do fotossistema II durante o estresse.

Estudo realizado por Díaz et al. (2018), avaliando os efeitos da seca e do fósforo no desenvolvimento do aerênquima cortical da raiz ao longo do eixo radicular e elucidar seu papel na tolerância ao estresse hídrico de dois genótipos DKB 390 (tolerante) e BRS 1010 (sensível), observou-se que a limitação de fósforo aumentou o desenvolvimento do aerênquima cortical da raiz apenas no DKB 390. Sob estresse hídrico, o genótipo DKB 390 mostrou crescimento resiliente, enquanto o crescimento foi inibido no genótipo BRS 1010.

Magalhães et al. (2015), avaliando a relação entre óxido nítrico e aumento na atividade de enzimas do sistema antioxidante induzido por ácido abscísico (ABA) em milho sob déficit hídrico severo, observaram no pré-florescimento, o genótipo BRS 1010 sob deficiência hídrica teve a atividade da enzima catalase e os níveis de óxido nítrico diminuídos, enquanto os níveis de ABA e de malonaldeído foram aumentados em relação às suas respectivas plantas irrigadas. Por sua vez, plantas do genótipo DKB 390 sob deficiência hídrica não apresentaram variações na atividade de enzimas do sistema antioxidante, tampouco nos níveis de ABA em relação às suas respectivas plantas irrigadas, e ainda assim os níveis de malonaldeído não

foram alterados; fato acoplado a aumentos nos níveis de óxido nítrico. Consequentemente, sob deficiência hídrica, o genótipo DKB 390 apresentou valores 50% maiores de índice de colheita em relação ao genótipo BRS 1010.

Lavinsky et al. (2015), determinando como a seca altera a partição de carbono alocada ao crescimento e metabolismo secundário em raízes de milho e como isso afeta a fotossíntese e a produtividade em milho, avaliaram as trocas gasosas foliares, componentes de rendimento, morfologia das raízes, metabólitos primários e secundários, açúcares solúveis, amido, fenólicos e lignina, observaram que nas folhas do genótipo DKB 390 sob deficiência hídrica, tanto o amido e açúcares solúveis foram reduzidos, quanto os compostos fenólicos foram aumentados para evitar perda excessiva de água e cavitação do xilema. Na seca, o genótipo BRS 1010 apresentou alocação reduzida de biomassa na parte aérea e raízes e no conteúdo de lignina nas folhas, bem como valores mais baixos de fotossíntese e biomassa de grãos em relação ao genótipo DKB 390.

### **3 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

As condições climáticas podem ser consideradas o principal fator limitante da produtividade agrícola no Brasil. Sendo o período de estiagem aquele que mais afeta as oscilações e frustrações nas safras, obtendo menor produtividade na cultura do milho, principalmente em áreas com baixos índices de precipitação e altas temperaturas.

Genótipos com alguma tolerância ao déficit hídrico podem ser uma alternativa para adaptação a ambientes em que as condições meteorológicas não são ideais à cultura do milho. Devido à grande complexidade das plantas em relação às modificações fisiológicas, morfológicas e anatômicas, é necessário que tenham mais pesquisas para um melhor entendimento dos mecanismos de tolerância e sensibilidade (evitação) à seca, principalmente em espécies cultivadas, para trazer melhorias no crescimento e no rendimento da cultura em regiões que possuem limitação hídrica. Dessa forma identificando quais os mecanismos de tolerância à seca para seleção ou criação de genótipos tolerantes a estresses abióticos, que promovem maior potencial produtivo.

## REFERÊNCIAS

- ASHRAF, M. et al. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 111, p. 249-296, 2011.
- BACELAR, E. A. et al. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, n. 2, p. 233-239, 2004.
- BASTOS, E. A. et al. Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 100-107, jan./mar. 2011.
- BERGAMASCHI, H. et al. Maize yield and rainfall on different spatial and temporal scales in Southern Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF. v. 42, n. 5, p. 603-613, maio 2007.
- BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. Porto Alegre: EMATER/RS; Ascar, 2014. 11 p.
- BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential-are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural and Research**, Melbourne, v. 56, p. 1159-1168, 2005.
- BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 112, n. 2/3, p. 119-123, 2009.
- BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, p. 61-72, 2003.
- BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**, Shannon, v. 163, n. 2, p. 375-379, 2002.
- CARDOSO, M. et al. Rendimento de grãos, componentes de rendimento e eficiência de uso da água de híbridos de milho em condições climáticas contrastantes. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa**, v. 1, set. 2012.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: Ed. UFLA, 2009. 234 p.
- CHARTZOULAKIS, K. et al. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, p. 39-50, 2002.
- CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; BOSABALIDIS, A. M. Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 42, p. 113-120, 1999.

CHAUMONT, F. et al. Characterization of a maize tonoplast aquaporin expressed in zones of cell division and elongation. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 117, p. 1143-1152, 1998.

CHOA, B. et al. Noninvasive measurement of vulnerability to drought-induced embolism by X-ray microtomography. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 170, p. 273-282, 2016.

CLAASSEN, M. M.; SHAW, R. H. Water deficit effects on corn: II grain components. **Agronomy Journal**, Madison, n. 62, p. 652-655, 1970.

CLEMENTE, D. I. **Estresse hídrico sobre caracteres morfofisiológicos e agronômicos em populações de milho**. 2017. 114 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, safra 2018/19**. Brasília, DF, 2018. 178 p.

DANIELSON, J. A. H.; JOHANSON, U. Unexpected complexity of the Aquaporin gene family in the moss *Physcomitrella patens*. **BMC Plant Biology**, London, v. 8, p. 45, 2008.

DÍAZ, A. S. et al. Aerenchyma development in different root zones of maize genotypes under water limitation and different phosphorus nutrition. **Biologia Plantarum**, v. 62, n. 3, p.561-568, 29 jun. 2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Sistemas de produção**. Brasília, DF, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/cultivos>>. Acesso em: 17 out. 2017.

FAHN, A. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. **Annals of Botany**, London, v. 57, p. 631-637, 1986.

FANCELLI, A. L. **Ecofisiologia e fenologia**. Piracicaba: Aldeia Norte, 2002. 51 p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Produção de milho**. 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360 p.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 72, p. 673-689, 2015.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 185-212, Mar. 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **OCDE-FAO Perspectivas agrícolas 2015 - 2024**. Rome, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>>. Acesso em: 5 jan. 2019.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 576 p.

- GUERFEL, M. et al. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 257-263, 2009.
- HACHEZ, C. et al. The expression pattern of plasma membrane aquaporins in maize leaf highlights their role in hydraulic regulation. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 68, p. 337-353, 2008.
- HUKIN, D. et al. Sensitivity of cell hydraulic conductivity to mercury is coincident with symplasmic isolation and expression of plasmalemma aquaporin genes in growing maize roots. **Planta**, Berlin, v. 215, p. 1047-1056, 2002.
- HUSSAIN, M. et al. Improving Drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 194, p. 193-199, 2008.
- JONES, J. T.; MULLET, J. E. Developmental expression of a turgor responsive gene that encodes an intrinsic membrane-protein. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 28, p. 983-996, 1995.
- KAYA, M. D. et al. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal of Agronomy**, London, v. 24, p. 291-295, 2006.
- KNEEBONE, W.; MANCINO, C.; KOPEC, D. **Water requirements and irrigation**. Madison: American Society of Agronomy, 1992. (Turfgrass, Agronomy Monograph, 32).
- LAMHAMEDI, M. et al. Epidermal transpiration, ultrastructural characteristics and net photosynthesis of white spruce somatic seedlings in response to in vitro acclimatization. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 118, p. 554-561, 2003.
- LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A.; SANTANA, D. P. Clima e solo. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho: sistema de produção**. 5. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2009. p. 1-3.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.
- LAVINSKY, A. O. et al. Partitioning between primary and secondary metabolism of carbon allocated to roots in four maize genotypes under water deficit and its effects on productivity. **The Crop Journal**, Oxford, v. 3, n. 5, p.379-386, out. 2015.
- LAWLOR D, W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal Experimental Botany**, v. 64, p. 83–108, November 2012.
- LI, Y.; SPERRY, J. S.; SHAO, M. Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 341-346, May 2009.



LIAN, H. L. et al. The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 45, n. 4, p. 481-489, 2004.

LUO, L. J. Breeding for water-saving and drought-resistance in rice (WDR) in China. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 3509-3517, 2010.

MAGALHÃES, P. C. et al. Relationship Between Nitric Oxide, Enzymatic Antioxidant System And ABA In Maize Under Long-Term Drought. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 2, p.155-166, 30 ago. 2015.

MAGALHÃES, P.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de; VIANA, J. **Resposta fisiológica do sorgo ao estresse hídrico em casa de vegetação**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2012.

MAGALHÃES, P. C.; DUARTE, A. P.; GUIMARÃES, O. E. de O. Tecnologias para desenvolvimento de milho em condições de safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA: RUMO À ESTABILIDADE, 9., 2007, Dourados. **Anais...** Dourados: EMBRAPA Agropecuária Oeste, 2007. p. 108-120.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2006. 10 p.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 27 p. (Circular Técnica, 20).

MARIJUAN, M. P.; BOSCH, S. M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 18, p. 660-666, 2013.

MARTINS, A. O. Inferências genético-fisiológicas da tolerância à seca em milho. 2012. 122 p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes RJ, 2012.

MATTOSO, M. J. et al. Aspectos de produção e mercado do milho. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 233, p. 95-104, jul./ago. 2006.

MAUREL, C. et al. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 595-624, 2008.

MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. **Current Science**, Bangalore, v. 80, n. 6, p. 758-763, Mar. 2001.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, p. 405-410, 2002.

NONAMI, H. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 111, p. 373-382, 1998.

OGBURN, R. M.; EDWARDS, E. J. The ecological water-use strategies of succulent plants. **Advances in Botanical Research**, v. 55, p. 179-225, 2010.

PASSIOURA, J. B. Water transport in and to roots. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 39, p. 245-256, 1988.

PATAKAS, A.; NOITSAKIS, B. Mechanisms involved in diurnal changes of osmotic potential in grapevines under drought conditions. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 154, p. 767-774, 1999.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops**. Iowa: Iowa State University Press, 1993. (Special Bulletin, 48).

SADE, N. et al. The role of tobacco aquaporin1 in improving water use efficiency, hydraulic conductivity, and yield production under salt stress. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 152, p. 245-254, 2010.

SALATINO, A.; MONTENEGRO, G.; SALATINO, M. L. F. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 9, p. 117-124, 1986.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 101, p. 7-12, 1993.

SHAO, H. et al. Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n. 3, p. 215-225, Mar. 2008.

SHARP, R. E.; DAVIES, W. J. Regulation of growth and development of plants growing with a restricted supply of water. In: JONES, H. G.; FLOWERS, T. L.; JONES, M. B. (Ed.). **Plants under stress**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 71-94.

SIEFRITZ, F. et al. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco from cellular effects to function in plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 14, p. 869-876, 2002.

SILVA, M. de A. et al. Melhoramento para eficiência no uso da água. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Org.). **Melhoramento de plantas para condições de estresses bióticos**. Viçosa, MG: Suprema, 2011. p. 127-149.

SILVA, M. N. P. et al. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 1, p. 67-74, jan./fev. 2006.

SOUZA, G. S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos em *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 78-80, 2007. Suplemento.

SOUZA, T. C. et al. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 2, p. 515-527, 2013a.

SOUZA, T. C. et al. Morphophysiology, morphoanatomy, and grain yield under field conditions for two maize hybrids with contrasting response to drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 11, p. 3201-3211, 2013b.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 722 p.

TARDIEU, F.; GRANIER, C.; MULLER, B. Water deficit and growth: co-ordinating processes without an orchestrator? **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 14, p. 283-288, 2011.

TARDIEU, F. Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. **Front. Physiol**, v. 4, p. 17, 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **USDA agricultural projections**. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/oce081>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

VAMERALI, T. et al. A comparison of root characteristics in relation to nutrient and water stress in two maize hybrids. **Plant and Soil**, The Hague, v. 255, p. 157-167, 2003.

VARSHNEY, R. K. et al. Genomics and physiological approaches for root trait breeding to improve drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Root Genomics**, Berlin, v. 10, p. 213-222, 2011.

WALLACE, I. S.; CHOI, W. G.; ROBERTS, D. M. The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. **Biochimica et Biophysica Acta: Biomembranes**, Alberta, v. 1758, p. 1165-1175, 2006.

XOCONOSTLE-CAZARES, B. et al. Drought tolerance in crop plants. **American Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 5, n. 5, p. 241-246, 2010.

YAMADA, S. et al. The expression of an aquaporin promoter from *Mesembryanthemum crystallinum* in tobacco. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 38, p. 1326-1332, 1997.

YASSEEN, B. T.; AL-OMARY, S. S. An analysis of the effects of water-stress on leaf growth and yield of 3 barley cultivars. **Irrigation Science**, New York, v. 14, n. 3, p. 157-162, 1994.

YUE, B. et al. Genetic basis of drought resistance at reproductive stage in rice: separation of drought tolerance from drought avoidance. **Genetics**, v. 172, p. 1213-1228, 2006.

ZHANG, J. Y. et al. Overexpression of WXP1, a putative *Medicago truncatula* AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). **The Plant Journal**, Oxford, v. 42, p. 689-707, 2005.

ZHAO, J. et al. Shoot and root traits in drought tolerant maize (*Zea mays* L.) hybrids. **Journal of Integrative Agriculture**, Shanghai, v. 17, p. 1093-1105, 2018.

**SEGUNDA PARTE**

**ARTIGO 1 - AS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DAS FOLHAS DO  
MILHO MELHORAM A RESISTÊNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO**

**Artigo redigido conforme a NBR 6022 (ABNT, 2003) e formatado de acordo com o  
Manual da UFLA.**

## RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é o principal cereal cultivado no mundo, e sua produção está enfrentando grande desafio como resultado da crescente frequência e intensidade da seca. Dessa forma, são necessários mais estudos visando à identificação de genótipos mais resistentes à deficiência hídrica decorrentes das mudanças climáticas visando à descoberta de modificações morfofisiológicas mediando respostas de tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca. Objetivou-se neste trabalho avaliar quais as modificações morfofisiológicas das folhas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) no estágio vegetativo sob deficiência hídrica, que contribuem na identificação da tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca. O experimento foi realizado com a utilização de dois genótipos de milho contrastantes em relação à resistência seca, montado em esquema fatorial 2x2, sendo composto por dois genótipos de milho (DKB 390 tolerante e BRS 1010 sensível) e dois regimes de irrigação: plantas irrigadas (PI) e plantas sob deficiência hídrica (PDH). As plantas sob deficiência hídrica foram mantidas com 30% da capacidade de campo, e os tratamentos irrigados foram mantidos a 100%, no período experimental de 30 dias. Após os períodos experimentais foram realizadas análises de crescimento, trocas gasosas e análise quantitativa anatômica. O déficit hídrico provocou redução no crescimento, diminuição do potencial hídrico foliar e reduziu os tecidos vasculares em ambos os genótipos. O genótipo BRS 1010, considerado sensível, investe em mecanismo de evitação à seca devido a sua sensibilidade, por meio de modificações morfofisiológicas, ou seja, melhoram a habilidade na eficiência no uso da água, através da redução na transpiração, condutância estomática, aumento na densidade estomática (resistência estomática) e maior razão raiz parte/aérea. O genótipo DKB 390 considerado tolerante à seca, investe principalmente em mecanismos de tolerância, através de suas atividades fisiológicas normais mesmo em condições de déficit hídrico, ocorrendo a manutenção do turgor celular em nível de parte aérea, para manutenção das células. Perante a este estudo, o mecanismo que melhor corresponde à resistência à seca é a capacidade de manutenção do turgor celular e atividades fisiológicas normais frente ao déficit hídrico, não levando à fotoinibição nem a danos às folhas, sendo observado nas células do mesófilo e nas trocas gasosas do genótipo DKB 390 tolerante à seca.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. Anatomia foliar. Turgor celular. Déficit hídrico.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é o principal cereal cultivado no mundo e é uma das principais culturas do Brasil, sendo cultivada em todas as regiões do país. Os Estados Unidos, China e Brasil são os países com maior produção, representando 70% da produção mundial (USDA, 2017). A produção de milho está enfrentando grandes desafios como resultados da crescente frequência e intensidade de seca (TUBEROSA; SALVI, 2006), que deverá piorar nas próximas décadas como resultado das mudanças climáticas (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC, 2014). O déficit hídrico afeta o crescimento, desenvolvimento e a produtividade das culturas em diversas zonas climáticas, principalmente nas de clima árido e semiárido (FISCHLIN et al., 2007), e com o aumento da incidência e severidade dos períodos de estiagem em muitas regiões o que reduz a produção de alimentos (LOBELL; GOURDJI, 2012).

O estresse hídrico afeta, praticamente, todos os aspectos de crescimento da parte aérea, causando redução na expansão celular, condutância estomática, fotossíntese e, conseqüentemente, na acumulação da massa seca (HSIAO, 1990). A seca quando ocorre durante o estágio vegetativo pode reduzir significativamente o tamanho das folhas, o comprimento dos entrenós, o crescimento geral e a produção de biomassa (HEINIGER, 2001). Longos períodos de estiagem afetam o desenvolvimento dos tecidos reprodutivos, reduz o tamanho da espiga e o número de grãos, e diminui significativamente o rendimento (NIELSEN, 2007). Segundo Chen et al. (2012), os genótipos de plantas que podem suportar melhor o estresse hídrico durante o estágio vegetativo, tendem a ter uma maior capacidade de reduzir a perda de rendimento de grãos.

A identificação e o uso de genótipos com características superiores de tolerância à seca é a chave para o sucesso da reprodução de híbridos de milho tolerantes à seca (CHEN et al., 2012). Esta capacidade de tolerância à seca está relacionada às adaptações em diferentes níveis, desde a morfologia da planta e estruturas anatômicas até alterações fisiológicas e bioquímicas (BLUM, 2002). Dessa forma, o desenvolvimento de cultivares com maior capacidade de tolerância/adaptação à seca, com características morfofisiológicas melhoradas para aquisição de água e maior rendimento, tem sido o foco de muitos programas de melhoramento genético de culturas, portanto, sendo um objetivo importante para a agricultura global (LYNCH; CHIMUNGU; BROWN, 2014).

As plantas apresentam diversas modificações como forma de adaptação ao estresse hídrico. As principais modificações incluem a regulação e ou manutenção do balanço hídrico

celular, através da expressão de genes, enzimas, hormônios, metabólitos, folhas menores e redução na densidade estomática, assim, reduzindo a perda de água por transpiração (TARDIEU; GRANIER; MULLER, 2011). As alterações anatômicas e fisiológicas foliares específicas são cruciais para reduzir a perda de água e promover a eficiência no uso da água. Essas alterações incluem na relação dos tecidos condutores xilema/floema, redução da área foliar, maior quantidade de tricomas epidérmicos, estômatos menores e em maior densidade, epiderme com cutícula mais espessa, e tecidos do mesófilo mais espessos (ESAU, 1960; FANG; XIONG, 2015).

A escassez de água tem causado grande preocupação e atraído cada vez mais a atenção de pesquisadores, as modificações de resistência à seca de plantas cultivadas e de características específicas através da avaliação fenotípica direta na aplicação dos conhecimentos adquiridos, têm sido feitas para o desenvolvimento de culturas resistentes à seca (FANG; XIONG, 2015). Trabalhos têm evoluído rapidamente em todo o mundo, desenvolvendo linhagens com maior produtividade, resistência a pragas e tolerância à seca (MARTINS, 2016). Dessa forma, investigar a presença e ausência destas modificações morfofisiológicas é de alto interesse para a exploração dos conhecimentos em estresse em plantas, mesmo que as respostas ao estresse hídrico sejam complexas. Estas modificações funcionais poderão funcionar como um marcador fenotípico em trabalhos de melhoramentos genéticos, melhorando o desenvolvimento de culturas e elucidando como os genótipos selecionados com suas modificações adaptadas ao estresse hídrico relacionam-se com o ambiente para aumentar a produtividade em culturas, também sendo capazes de reduzir o custo de produção.

Diante ao exposto, no presente trabalho, o objetivo foi avaliar quais as modificações morfofisiológicas das folhas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (sensível) no estágio vegetativo sob deficiência hídrica, que contribuem na identificação da tolerância ou sensibilidade (evitação) à seca.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de execução**

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, localizada no Departamento de Ciências do Solo e nos Laboratórios de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia, situados na Universidade Federal de Lavras.

### **2.2 Material vegetal**

Os materiais vegetais constituíram de dois genótipos de milho contrastantes em relação à tolerância à seca. Os genótipos utilizados foram o DKB 390, considerado tolerante à seca, e o BRS 1010 que é sensível ao déficit hídrico. As sementes foram disponibilizadas pela Embrapa Milho e Sorgo de Sete Lagoas MG, Brasil.

A escolha dos genótipos baseou-se em resultados de experimentos de campo anteriores que mostraram a tolerância e a sensibilidade à seca (CARDOSO et al., 2012; MARTINS, 2012; SOUZA et al., 2013a; SOUZA et al., 2013b; MAGALHÃES et al., 2015; LAVINSKY et al., 2015; DÍAZ et al., 2018).

### **2.3 Delineamento experimental**

O experimento foi montado em esquema fatorial 2x2 sendo composto por dois genótipos de milho (DKB 390 e BRS 1010) e dois regimes de irrigação: plantas irrigadas (PI) e plantas sob deficiência hídrica (PDH). Dessa forma, o experimento foi composto de quatro tratamentos com oito repetições, sendo a parcela experimental composta por uma planta.

### **2.4 Condições de cultivo**

As plantas de milho foram obtidas a partir da germinação das sementes (denominados, neste trabalho como semente, mas são frutos do tipo cariopse). Dessa forma as cariopses foram colocadas em placas de Petri, forradas com papel de filtro e umedecidas com água destilada. Em seguida, as placas foram mantidas em germinador com fotoperíodo de 12h e temperatura de 25 °C±2. Em seguida, as sementes que apresentaram germinação foram transferidas para vasos tipo rhizotron preenchidos com areia lavada e terra vegetal na proporção 1:1 e dispostos em bancadas com ângulo de inclinação de 43°. Cada vaso recebeu uma semente de milho germinada no estágio de emergência. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura controlada 25±2 °C, por um período 30 dias. As plantas



sob deficiência hídrica foram mantidas com 30% da capacidade de retenção do substrato utilizado e os tratamentos irrigados foram mantidos a 100%. A umidade do solo foi monitorada utilizando sensores de umidade resistivos com módulo comparador de voltagem LM393 e um microcontrolador Arduino Mega 2560, que tinha como função acionar automaticamente as bombas de irrigação assim que a umidade do solo atingisse o valor pré estabelecido para cada tratamento. Durante todo o período experimental as plantas foram irrigadas com a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a 40 % de força Iônica.

## **2.5 Análise de crescimento**

As análises de crescimento foram realizadas aos 30 dias após a aplicação dos tratamentos. Foram avaliadas a altura das plantas com a utilização de um fita métrica. A massa seca de cada órgão (raízes, caule e folhas) foi determinada em balança analítica (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brazil) após serem secas em estufa a 60 °C até atingir peso constante. A área foliar foi determinada por análise de imagem utilizando o software ImageJ, após o escaneamento das folhas em Scanner (1200S, Mustek, China). Foram calculados a razão raiz/parte aérea ( $\text{g g}^{-1}$ ), a razão de massa foliar ( $\text{g g}^{-1}$ ) e a razão de área foliar ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ).

## **2.6 Análise das trocas gasosas**

As avaliações das trocas gasosas foliares foram realizadas com o auxílio de um analisador portátil de trocas gasosas por infravermelho-IRGA (Li 6400XT, Li-cor, Biosciences, Lincoln, Nebraska, USA), equipado com câmara foliar de 6  $\text{cm}^2$  com fonte de luz LED vermelho/azul (LI-6400-02B, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) foi ajustada para 1.000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Além disso, foi utilizada a função mixer no equipamento utilizando cápsulas de gás carbônico para fornecer 380 ppm de  $\text{CO}_2$  durante as análises. Todas as medidas foram realizadas no período da manhã entre 8 e 11 horas em uma folha totalmente expandida (4° folha a partir do ápice da planta que apresentava lígula) aos 30 dias de cultivo. Foram avaliadas a fotossíntese líquida (A), a condutância estomática (gs), transpiração foliar (E) e a eficiência no uso da água (EUA, A/T).

## **2.7 Análise do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ )**

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi determinado entre às 9 e 11h com a utilização de uma bomba de pressão do tipo Scholander modelo 1.000 (PSM Instrument Company). Dessa

forma, foi utilizada uma folha (5° folha a partir do ápice da planta que apresentava lígula) completamente expandida de cada planta para a inserção na câmara da bomba de pressão, e em seguida foi aplicada pressão até ocorrer à exsudação pelo corte feito na nervura mediana.

## **2.8 Análise quantitativa anatômica**

Para a análise anatômica, as folhas (4° folha a partir do ápice da planta) foram coletadas após 30 dias de experimento e fixadas em formaldeído, ácido acético glacial e etanol 70% (F.A.A.70%) por um período de 72 horas e, posteriormente, conservadas em etanol 70%. Para as secções transversais, o material foi submetido a uma série etanólica crescente para a desidratação (70, 80, 90 e 100%), à temperatura ambiente de acordo com Johansen (1940), com modificações. Em seguida, o material foi imerso em solução de pré-infiltração, composta por etanol 100% e resina base (1:1), segundo as instruções do fabricante (Kit Historesina Leica) por 24 horas. Após esse período, prosseguiu-se à infiltração em resina base, por mais 24 horas a 4 °C. A polimerização foi realizada em estufa a 50 °C por 12h seguindo a instruções do fabricante (Hidroxietilmetacrilato, Leica, Heidelberg, Alemanha). As secções foram realizadas em micrótomo rotativo semiautomático Yidi YD-335 (Jinhua Yidi Medical Appliance CO., LTD, Zhejiang, China), com espessura de 8 µm, sendo, em seguida, corados em solução de Azul de Toluidina 1% pH 6,7 (FEDER; O'BRIEN, 1968).

As secções paradérmicas foram feitas manualmente com auxílio de lâmina de aço, posteriormente foram submetidas ao processo de clarificação com hipoclorito de sódio a 50% e depois lavadas em água destilada. As secções foram coradas com safranina, e posteriormente montadas em lâminas semipermanentes com glicerina a 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997).

As lâminas foram observadas em microscópio trinocular (CX31, Olympus Tokyo, Japan), com sistema de captura acoplado, sendo digitalizados para posterior análise de software de análise de imagem (ImageJ). Foram avaliadas as seguintes características anatômicas: no limbo foliar foi avaliada a espessura do mesofilo; na nervura central das folhas foram avaliadas a área total do feixe vascular, área do floema, área do xilema e diâmetro do metaxilema. E na secção paradérmica abaxial e adaxial foi avaliada a densidade estomática e densidade de células epidérmicas.

## 2.9 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software R version 3. 5. 1. © (R Core Team, 2018). Todas as ANAVAS foram submetidas aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk), homocedasticidade (Breusch-Pagan) e independência (Durbin-Watson). Desta forma, todas as variáveis respostas que não atenderam a um destes pressupostos foram submetidas à transformação (log, raiz quadrada, cubica, tukey ou box cox) para atender a ANAVA. A análise dos dados foi realizada através da análise de variância (ANAVA) das variáveis respostas em função das variáveis explanatórias: Genótipo/condição hídrica (água) e a interação genótipo/condição hídrica. Através do teste F com grau de significância  $p < 0,05$ , as variáveis respostas com variação significativa foram submetidas ao teste Tukey comparando as médias dos genótipos e condições hídricas entre si.

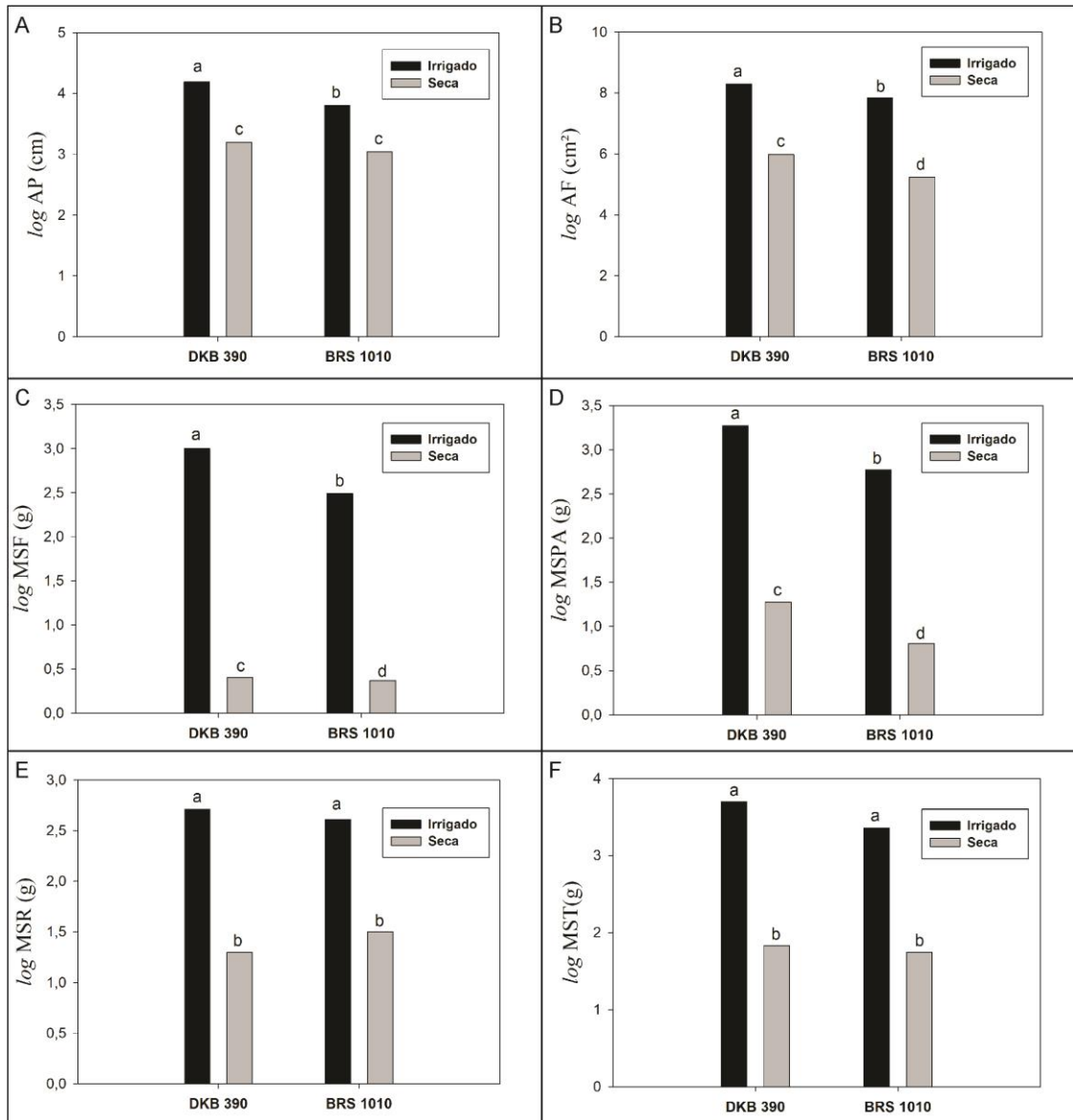
### **3 RESULTADOS**

#### **3.1 Características do crescimento**

Os resultados indicaram uma influência significativa do déficit hídrico nas características de crescimento, sendo que durante todo o período experimental as plantas nos tratamentos irrigados atingiram o estágio vegetativo (V10), e sob deficiência hídrica atingiram o estágio vegetativo (V7). Com relação à altura das plantas, não houve diferenças significativas entre os genótipos na condição de déficit hídrico, contudo o genótipo DKB 390 obteve maiores médias para as plantas irrigadas em relação ao genótipo BRS 1010 (FIGURA 1A). No entanto, para a área foliar, o genótipo (BRS 1010) submetido ao déficit hídrico apresentou menores médias em relação ao genótipo (DKB 390) na mesma condição hídrica (FIGURA 1B).

A massa seca das folhas e da parte aérea apresentaram diferenças significativas tanto para os tratamentos irrigados como para os de déficit hídrico, sendo que o genótipo (BRS 1010) apresentou maior decréscimo de massa seca em relação ao genótipo (DKB 390) sob condições normais de irrigação e déficit hídrico para ambas variáveis (FIGURAS 1C, D). A massa seca da raiz e massa seca total apresentaram as menores médias para os tratamentos sob déficit hídrico. Contudo não houve diferenças significativas entre os genótipos nas mesmas condições de irrigação (FIGURAS 1E, F).

Figura 1 - Características do crescimento de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.

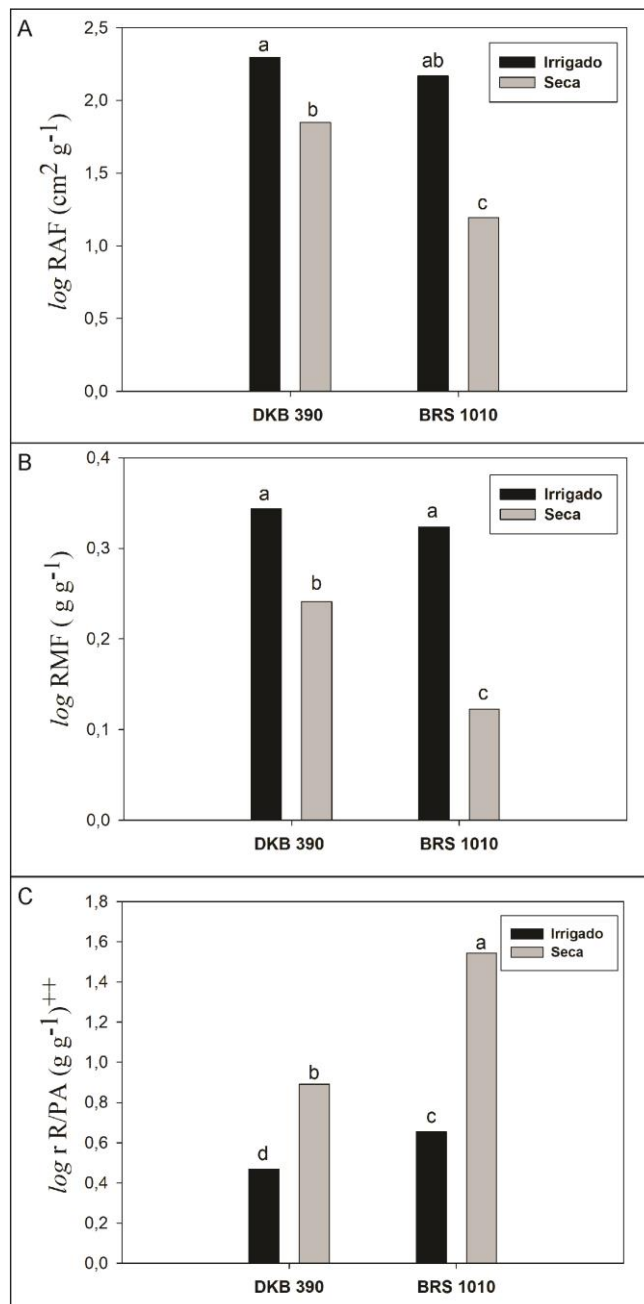


As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). AP= Altura das plantas; AF= Área foliar; MSF= Massa seca foliar; MSPA= Massa seca da parte aérea; MSR= Massa seca da raiz; MST= Massa seca total.

Em relação à razão de área foliar e massa foliar, o genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico apresentou uma redução significativa em relação ao DKB 390 (FIGURA 2A, B). No entanto, o genótipo DKB 390, sob déficit hídrico, a sua razão de área foliar não difere do genótipo BRS1010 sob condições irrigadas (FIGURA 2A). Ao analisar a razão raiz/parte

aérea, é possível observar que o genótipo BRS 1010 apresentou maiores médias em condições de déficit hídrico e sob condições normais de irrigação em relação ao genótipo DKB 390 (FIGURA 2C).

Figura 2 - Características do crescimento de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.

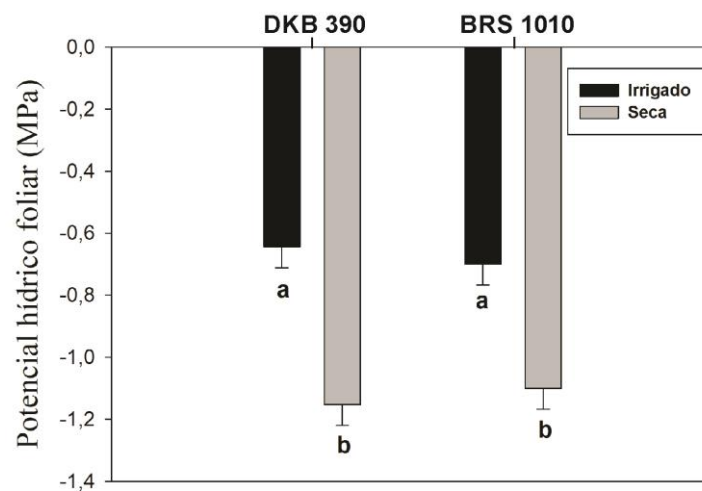


As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). RAF= Razão área foliar; RMF= Razão massa foliar e rR/PA= Razão raiz/parte aérea.

### 3.2 Características fisiológicas

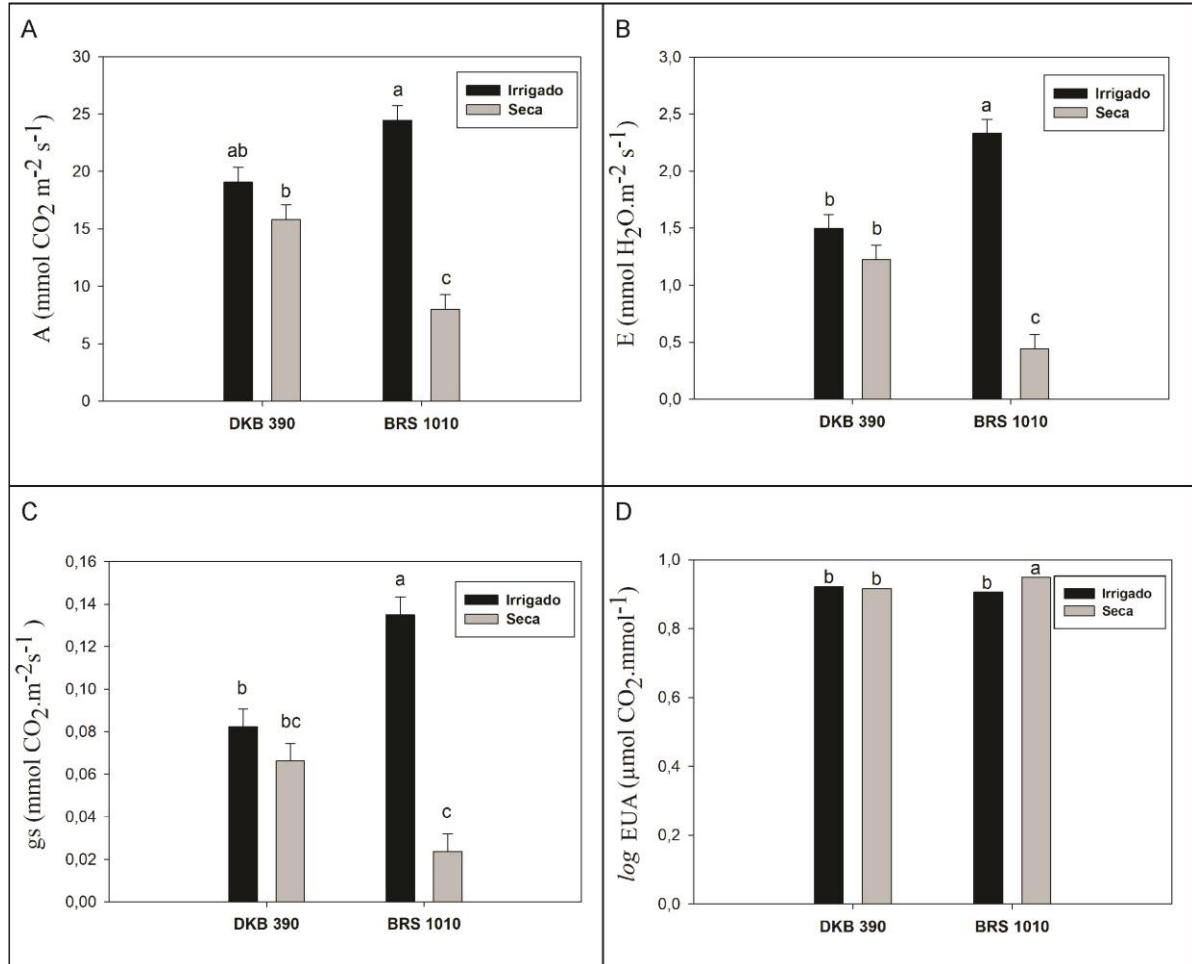
Em relação ao potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) houve uma redução em todos os tratamentos sob déficit hídrico em relação aos tratamentos irrigados. No entanto não ocorreu diferença no potencial hídrico foliar entre os genótipos (FIGURA 3). As características das trocas gasosas do milho foram modificadas pelos tratamentos com déficit hídrico. Uma acentuada redução da fotossíntese líquida (A) e transpiração foliar (E) foi observada no genótipo (BRS 1010) sob déficit hídrico em relação ao genótipo DKB 390. A relação entre a (A) e (E) indica que o DKB 390 mantém maiores valores sob déficit hídrico em relação ao genótipo (BRS 1010) (FIGURAS 4A, B). Em contraste, o DKB 390 manteve a (A), (E), condutância estomática (gs) e eficiência no uso da água (EUA) nas mesmas proporções entre as condições irrigadas e de déficit hídrico (FIGURAS 4A, B, C, D). Por outro lado, nas análises das trocas gasosas nos tratamentos sob irrigação, observou-se que o genótipo (BRS 1010) apresentou maiores médias para a E e gs em comparação com o genótipo DKB 390 (Figs. 4B, C). O genótipo (BRS 1010) sob déficit hídrico obteve maiores médias para a EUA. No entanto o genótipo DKB 390 não apresentou modificação para a EUA em função da condição hídrica (FIGURA 4D).

Figura 3 - Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante 30 dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Figura 4 - Características de trocas gasosas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A= Fotossíntese; E= Taxa de transpiração; gs= Condutância estomática; EUA= Eficiência no uso da água.

### 3.3 Características anatômicas foliares

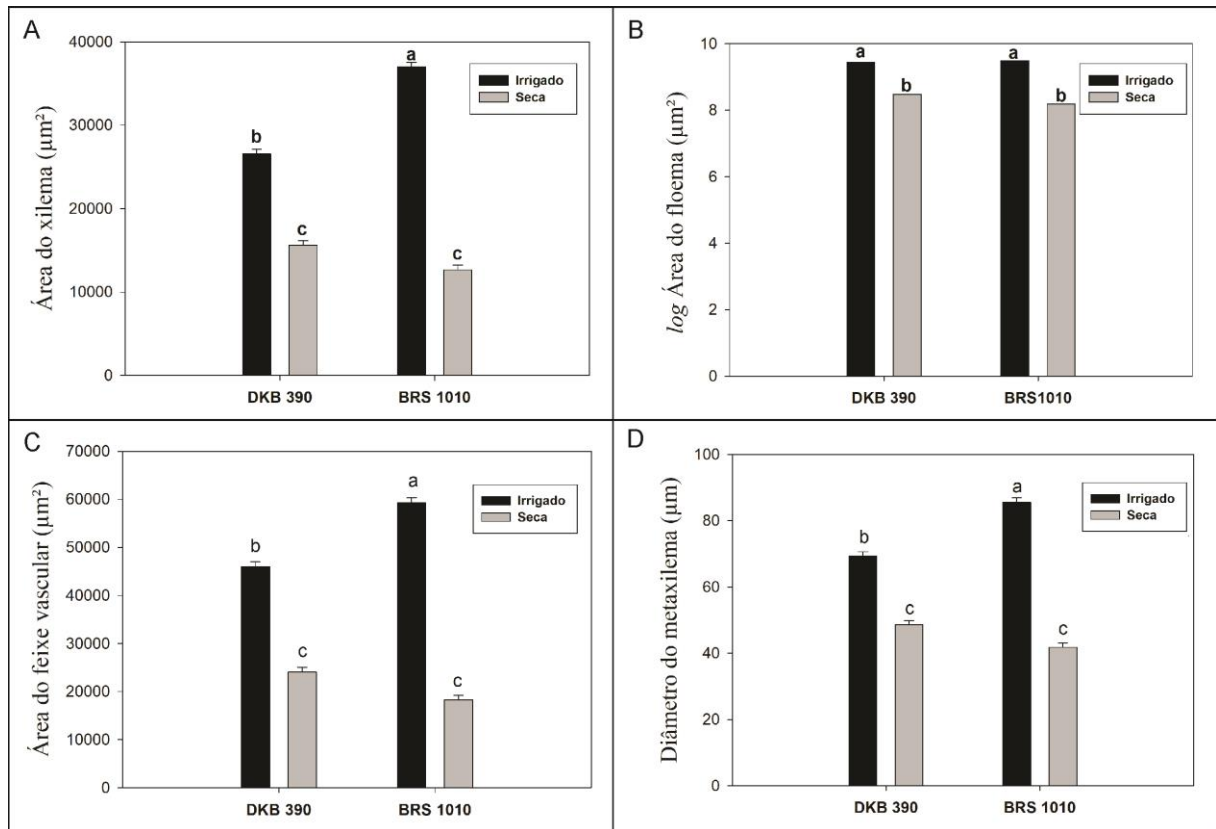
Os resultados mostram uma influência significativa do déficit hídrico nas características anatômicas foliares entre os dois genótipos estudados.

Para a área do xilema e do floema, assim como a área do feixe vascular e o diâmetro do metaxilema, o déficit hídrico promoveu uma redução significativa nessas características para ambos os genótipos testados. Sendo que o genótipo BRS 1010 submetido a condições normais de irrigação, apresentou as maiores médias para área do xilema, área do feixe vascular e diâmetro do metaxilema em relação ao genótipo DKB 390. Sob déficit hídrico não houve diferenças significativas entre os genótipos para essas variáveis anatômicas analisadas



(Figs. 5A, C e D). Para a área do floema os genótipos submetidos em condições de déficit hídrico apresentaram as menores médias para ambos os genótipos (FIGURA 5B).

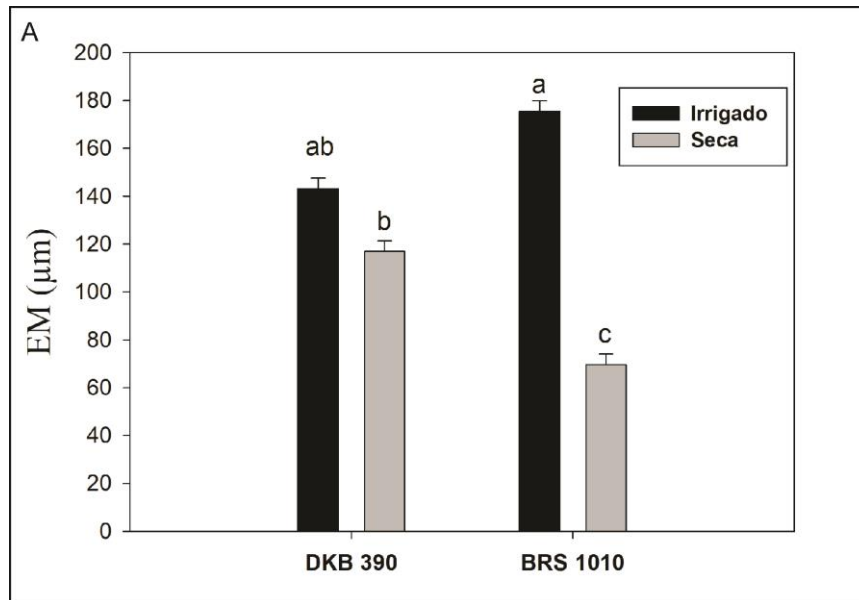
Figura 5 - Características anatômicas foliares de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante 30 dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Quanto à espessura do mesofilo, o genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico, apresentou uma redução drástica de 85% em relação ao tratamento sob condições normais de irrigação, além de apresentar uma redução de 39% na espessura, em relação ao DKB 390 sob déficit hídrico (Figs 6 e 7). No entanto, o genótipo DKB 390 não apresentou redução na espessura do mesofilo em função do déficit hídrico, mantendo as mesmas proporções entre plantas irrigadas e sob deficiência hídrica (Figs. 6 e 7).

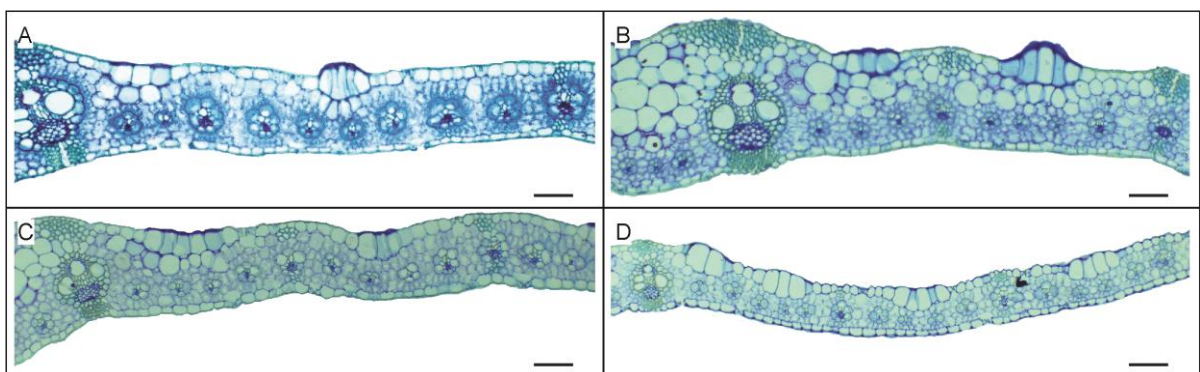
Figura 6 - Características anatômicas da espessura do mesofilo de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

EM= Espessura do mesofilo.

Figura 7 - Secções transversais representando a lâmina foliar de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.

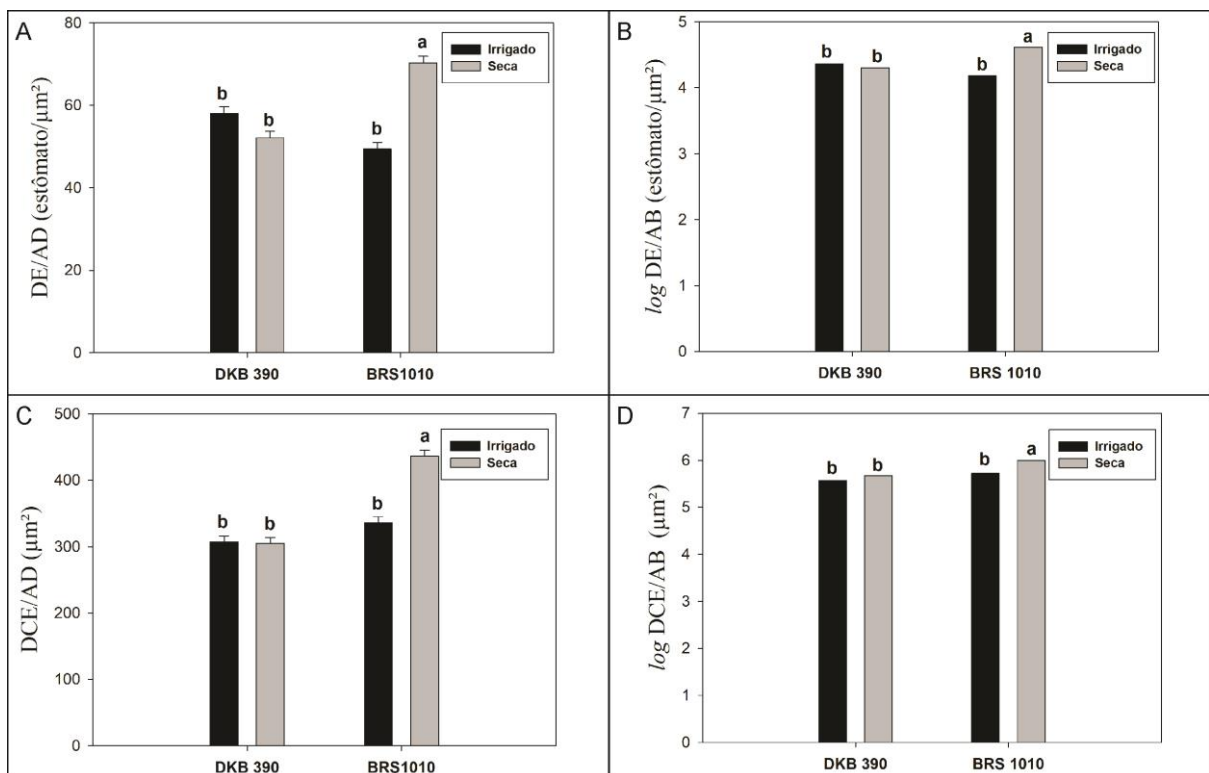


A= (DKB 390) irrigado; B= (BRS 1010) irrigado; C= (DKB 390) déficit hídrico; D= (BRS 1010) déficit hídrico. Barra 100 µm.

Em relação às análises da anatomia foliar em cortes paradérmicos, observa-se uma maior densidade estomática e de células epidérmicas nas duas faces da epiderme no genótipo

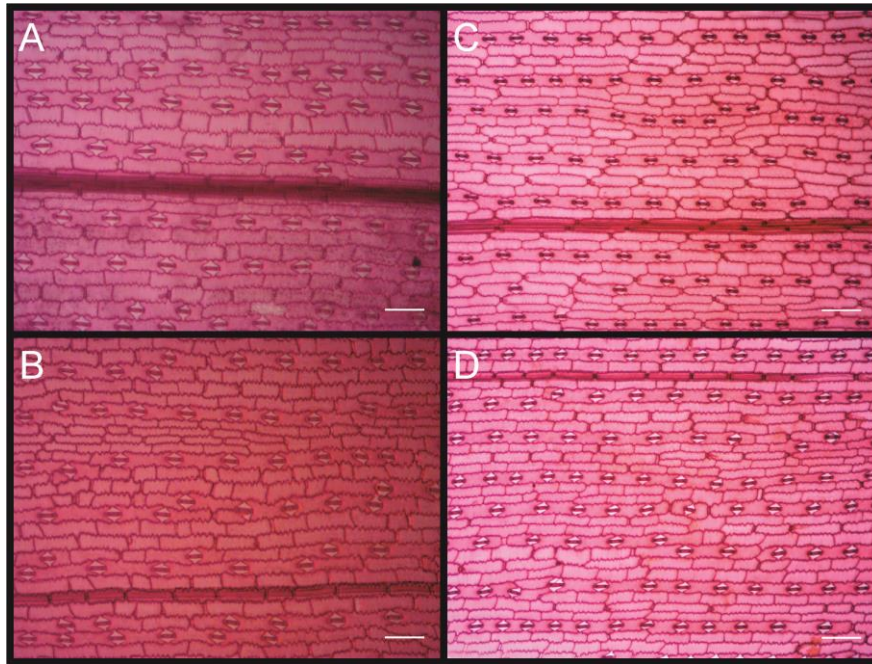
BRS 1010, sob deficiência hídrica, em comparação ao genótipo DKB 390 na mesma condição de irrigação (Figs. 8A, B, C, D e 9). Contudo não houve diferença para essa variável no genótipo DKB 390 entre os dois regimes de irrigação, mantendo as mesmas proporções entre plantas irrigadas e sob deficiência hídrica.

Figura 8 - Características anatômicas foliares de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



As médias que apresentaram letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). DE/AD= Densidade estomática na face adaxial; DE/AB= Densidade estomática na face abaxial; DCE/AD= Densidade de células epidérmicas na face adaxial; DCE/AB= Densidade de células epidérmicas na face abaxial.

Figura 9 - Secções paradérmicas da face adaxial da epiderme da folha representando a densidade de estômatos e células epidérmicas de dois genótipos de milho DKB 390 (Tolerante) e BRS 1010 (Sensível) submetidas a 30% da capacidade de retenção do substrato e a 100% da capacidade de retenção, durante trinta dias sob condições normais de irrigação e déficit hídrico.



A= (DKB 390) irrigado; B= (BRS 1010) irrigado; C= (DKB 390) déficit hídrico e D= (BRS 1010) déficit hídrico. Barra 100  $\mu\text{m}$ .

## 4 DISCUSSÃO

A resposta das culturas ao estresse hídrico pode ser complexa, dependendo não apenas da intensidade e duração do estresse, mas também do estágio de desenvolvimento das plantas (CAKIR, 2004; FAROOQ et al., 2009; LIU et al., 2010; SINGH et al., 2008). Sendo assim, o efeito do déficit hídrico nas características do crescimento no estágio vegetativo foi evidente neste estudo. Os resultados demonstraram que o déficit hídrico reduziu o crescimento vegetativo quando as plantas sob deficiência hídrica atingiram o estágio (V7) em relação às plantas irrigadas que atingiram o estágio (V10), sendo que o déficit hídrico afetou também significativamente o crescimento, resultando em queda acentuada na altura da planta, área foliar e acúmulo de biomassa. No entanto, o déficit hídrico não afetou de maneira igual os genótipos estudados, ressaltando que o genótipo BRS 1010 apresentou menores valores para área foliar, massa seca das folhas e massa seca da parte aérea em relação ao genótipo DKB 390 submetido à seca.

Segundo Hussain et al. (2008), a deficiência hídrica afeta o crescimento das plantas porque reduz a divisão celular e inibe a expansão celular, conseqüentemente reduz a altura das plantas, área foliar e crescimento da cultura sob déficit hídrico. A expansão foliar está entre os mais sensíveis dos processos afetados pelo déficit hídrico (ALVES; SETTER, 2004). Estudos indicaram que essa sensibilidade é expressa em termos de células menores e reduções no número de células produzidas pelos meristemas foliares (TARDIEU et al., 2000). Sendo assim, Guimarães et al. (2011) explicam que a reação das plantas, ao serem submetidas à deficiência hídrica, é reduzir o potencial osmótico e, conseqüentemente, hídrico das raízes, no intuito de gerar um gradiente de potencial capaz de promover a absorção de água, a partir do solo, ou reduzir a transpiração, de tal maneira que a planta mantenha um balanço positivo de água.

Estudos realizados por Cakir (2004) e Zhao et al. (2018), para determinar o efeito do estresse hídrico em diferentes estágios de desenvolvimento em *Zea mays* L., demonstraram que o estresse hídrico ocorrido durante os estágios vegetativos reduziu a altura das plantas, peso seco da parte aérea, bem como o aumento da área foliar em comparação com as plantas bem irrigadas. Esses resultados são coerentes com o presente estudo para o genótipo BRS 1010 frente ao déficit hídrico, as plantas apresentaram uma diminuição progressiva na área foliar e matéria seca da parte aérea. No entanto, com o genótipo DKB 390, observaram-se maiores médias na área foliar e matéria seca da parte aérea em relação ao genótipo BRS 1010 na seca.

A razão de área foliar (RAF) expressa a área foliar útil para a fotossíntese, sendo a relação entre a área foliar responsável pela interceptação da energia luminosa e CO<sub>2</sub> e a massa seca total, resultado da fotossíntese (BENINCASA, 2003) e sendo, inclusive, apropriado para a avaliação dos efeitos genotípicos, climáticos e de manejo de comunidades vegetais (CRUZ et al., 2004). Estes resultados mostram que as menores taxas de matéria seca dos genótipos na seca podem ser devidas a menor área foliar útil para a fotossíntese, que propiciaram uma menor taxa fotossintética, logo uma redução de produção de biomassa. É interessante notar que o genótipo DKB 390 apresentou maiores médias de RAF na seca em relação ao genótipo BRS 1010, em que se propiciou um aumento da fotossíntese e produção de matéria seca da parte aérea.

De acordo com a literatura, existe uma variação na RAF sobre estresse hídrico, como o estudo de Vilela e Büll (1999) que observaram menores valores de RAF em plantas de milho na fase reprodutiva. Nos tratamentos em que a disponibilidade hídrica foi maior, ocorreu a redução de produção de matéria seca total.

Em relação à razão de massa foliar (RMF), que mostra a relação do aparelho fotossintetizante (folhas) em relação à biomassa vegetal total, observa-se que está variável foi influenciada pelo déficit hídrico, ocorrendo sua diminuição. Este índice mostra a capacidade de translocação de fotoassimilados da parte aérea para o restante da planta (SCALON et al., 2006). Para Falqueto et al. (2009), os aumentos na razão de massa foliar refletem maior alocação de assimilados para as folhas em desenvolvimento, tidas como drenos metabólicos, e o decréscimo desta razão ao longo do desenvolvimento da planta reflete a mobilização de compostos fotoassimilados para outros órgãos da planta. Dessa forma, o genótipo DKB 390 apresentou maiores valores de RMF sob déficit hídrico em relação ao genótipo BRS 1010.

Em relação à razão entre a raiz e a parte aérea (R/PA), a das plantas do genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico foi maior, demonstrando maior investimento de fotoassimilados para o desenvolvimento radicular em detrimento da parte aérea sob condições de déficit hídrico. O genótipo DKB 390 apresentou valores menores para a R/PA, devido ao maior desenvolvimento da parte aérea.

Com o aumento da massa seca das raízes, a relação raiz e parte aérea é elevada, e juntamente com o efeito do fechamento estomático, auxilia a planta a enfrentar o estresse hídrico (SHARP, 2002). Essa maior alocação de fotoassimilados para as raízes em condição de déficit hídrico sugere uma priorização do crescimento radicular, o que favorece a absorção de água e menor perda de água por transpiração (FIGUEIRÔA; BARBOSA; SIMABUKURO, 2004). Em contraste, nas folhas ocorre o crescimento mais lentamente,

levando à diminuição ou à parada da extensão das paredes celulares e ao menor crescimento da parte aérea (HSIAO; XU, 2000).

Na avaliação do potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ), observou-se que o déficit hídrico causou a diminuição do  $\Psi_f$  em ambos os híbridos (FIGURA 3). Lavinsky et al. (2015), ao estudarem genótipos de milho em relação à partição de carbono alocada para o crescimento e o metabolismo secundário em milho sob estresse hídrico, observaram que o potencial hídrico foliar dos genótipos DKB 390 e BRS 1010 apresentou valores mais baixos sob déficit hídrico, portanto os genótipos não apresentaram diferenças entre potencial hídrico foliar, validando com o presente estudo.

Souza et al. (2013a), ao estudarem a morfofisiologia de dois genótipos de milho contrastantes para a tolerância à seca, observaram que o estresse levou os valores mais baixos de potencial hídrico foliar em ambos os híbridos, sendo que o DKB 390 (tolerante) apresentou maior potencial hídrico foliar em relação ao BRS 1030 (sensível). Esses valores menores do potencial hídrico foliar nos genótipos sob estresse hídrico estudados podem ser devidos à baixa disponibilidade do conteúdo de água no solo, como consequência, o déficit hídrico pode afetar o potencial hídrico das folhas perdendo o turgor das células, como consequência afetando seu crescimento celular.

Os efeitos do déficit hídrico modificaram significativamente os parâmetros de trocas gasosas e a anatomia foliar nos dois genótipos, sendo que o genótipo BRS 1010 obteve resultados significativos para sua densidade estomática e células epidérmicas, e uma redução das taxas de trocas gasosas em relação ao genótipo DKB 390. Segundo McAdam et al. (2016), quando a água se torna limitada, surgem sinais como a redução da condutividade hidráulica e um aumento do ácido abscísico (ABA), causando a diminuição da pressão de turgor das células guarda o que resulta na redução da abertura estomática, limitando a difusão de CO<sub>2</sub> através da condutância estomática, podendo afetar o acúmulo de fotoassimilados, o que poderá acarretar na redução do crescimento da planta. No milho, o fechamento estomático é um dos primeiros eventos que ocorre com o declínio do potencial hídrico foliar e, invariavelmente, coincide com a redução da fotossíntese líquida e da transpiração (SOUZA et al., 2013a). Essas mudanças de resistência estomática levam a uma melhor conservação da água (FLEXAS; MEDRANO, 2002).

A densidade estomática e a transpiração (E) estão intimamente ligadas, pois um maior número de estômatos pode favorecer a entrada de gases, diminuindo a resistência estomática, e com isso, pode ocorrer com maior eficiência a abertura e o fechamento dos estômatos,

retardando a perda de água pela transpiração, que frequentemente é observada em condições de menor disponibilidade de água (SOUZA et al., 2007). Essa inter-relação pode ser exemplificada neste trabalho, pela maior densidade de estômatos e menor taxa de transpiração do genótipo BRS 1010 em relação ao genótipo DKB 390 sob déficit hídrico, exibindo um mecanismo de evitação à seca através da resistência estomática.

A menor área foliar encontrada no genótipo BRS 1010 também pode ser explicada como outro mecanismo de evitação à seca, com a diminuição da transpiração foliar, ajudando na sobrevivência das plantas, pela manutenção e controle do uso da água frente ao déficit hídrico (SHAO et al., 2008).

A condutância estomática ( $g_s$ ) é um processo fundamental e necessário para a aquisição de  $CO_2$  e é regulada pela abertura e fechamento dos estômatos (MEDICI et al., 2007). A  $g_s$  foi menor para o genótipo BRS 1010 em relação ao genótipo DKB 390 nas condições de déficit hídrico. Machado et al. (2009) demonstram em trabalho com cana-de-açúcar, que em dois tipos de variedades (suscetível e resistente), quando a planta foi submetida a um período de déficit hídrico em três fases de sua fenologia, houve decréscimo da condutância estomática e assimilação de  $CO_2$  da transpiração. Magalhães, Albuquerque e Viana (2012), relatam que plantas com menor condutância estomática, possuem melhor eficiência no uso da água, como observado no genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico.

No genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico, observou-se uma diminuição na taxa fotossintética ( $A$ ) em relação ao genótipo DKB 390, isso devido ao fato de que o déficit hídrico pode afetar a fotossíntese foliar e a condutância estomática. Segundo Cornic et al. (1992), a redução da fotossíntese líquida em plantas que estão sob déficit hídrico, pode ser explicada pela baixa concentração interna de  $CO_2$ , prejudicando o funcionamento da Rubisco, ou por inibição direta das enzimas fotossintéticas, como a Rubisco (HAUPT-HERTING; FOCK, 2000) ou ATP sintase (NOGUÉS; BAKER, 2000). Segundo Anjum et al. (2011b), o estresse hídrico reduz as taxas de assimilação de  $CO_2$  devido à redução da condutância estomática, como observado em nosso estudo para o genótipo sensível BRS 1010 em relação ao genótipo DKB 390 na seca.

Souza et al. (2013b) estudando o papel da aplicação do ácido abscísico (ABA) em alguns parâmetros fisiológicos, em dois híbridos com contraste a resistência à seca (DKB 390 e BRS 1030, resistente e sensível, respectivamente) observou-se que o déficit hídrico causou uma diminuição na eficiência do uso da água (EUA), sem diferenças entre os híbridos (com ou sem aplicação de ABA).



No entanto neste trabalho, observou-se o contrário. O genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico apresentou maior uso eficiente da água em relação ao genótipo DKB 390. Provavelmente em função do acionamento do mecanismo de defesa e sensibilidade estomática (maior controle estomático) sob o déficit hídrico, o que resulta em maior EUA, que é uma importante estratégia para se evitar a seca em plantas C4 (ARAUS; SANCHEZ; CABRERA-BOSQUET, 2010; LOPES et al., 2011). Segundo Caine et al. (2018), a redução da disponibilidade de água e o elevado CO<sub>2</sub> frequentemente resultam em fechamento estomático, levando a redução de *g<sub>s</sub>* e *E*, porém com o aumento da temperatura, pode ter o efeito oposto, forçando estômatos a se abrirem para mitigar os efeitos do superaquecimento. Isso significa essencialmente que, em climas futuros, se as plantas economizarem água, elas podem ser menos capazes de evitar o superaquecimento, possivelmente levando a fotoinibição, danos às folhas e redução nos rendimentos (BERTOLINO et al., 2019).

A redução da transpiração no arroz (KOBATA; OKUNO; YAMAMOTO, 1996) e a redução da evapotranspiração no sorgo (TOLK; HOWELL, 2003) também foram associadas a um aumento da eficiência do uso da água. As menores taxas fotossintéticas e a menor transpiração encontrada neste genótipo sensível BRS 1010, contribuíram para a EUA e evitar a seca, de modo que a EUA é produto da razão fotossíntese pela transpiração.

A espessura do mesofilo no genótipo BRS 1010 apresentou valores menores em relação ao genótipo DKB 390 em condições de déficit hídrico. A redução do tamanho das células do mesofilo sob déficit hídrico é um mecanismo de adaptação à seca (CUTLER; RAINS; LOOMIS, 1977; STEUDLE; ZIMMERMANN; LUTTGE, 1977). Segundo Chartzoulakis et al. (2002), estudando o efeito do estresse hídrico na anatomia da folha em dois cultivares de abacate, observaram que ocorreram modificações no mesofilo e no parênquima clorofiliano sob estresse hídrico, com o aumento na densidade, redução no tamanho das células e nos espaços intercelulares do mesofilo. Estes resultados coincidem com o genótipo BRS 1010, no qual ocorreu a redução dos espaços intercelulares e diminuição do tamanho das células do mesofilo, sendo estes exibindo outro mecanismo de evitar a perda de água.

Outra característica anatômica foliar observada foi uma redução significativa do tamanho das células epidérmicas do genótipo BRS 1010 sob déficit hídrico. A densidade de células epidérmicas, por milímetro quadrado, em ambas as faces, aumentou no genótipo BRS 1010, como resposta ao déficit hídrico. Sendo que estas modificações demonstram um mecanismo de evitar a seca por meio de redução de turgor celular.

O crescimento celular é considerado o processo mais sensível à baixa disponibilidade de água no solo, com a divisão e a expansão celular sendo diretamente inibidas pelo estresse hídrico (SAUSEN, 2007). Esta sensibilidade deve-se ao impacto do déficit hídrico sobre a taxa de expansão das células, devido à perda de turgescência das folhas. As plantas podem manter a turgidez por meio do ajuste osmótico e, possivelmente, pelo controle da elasticidade das suas paredes celulares (CRUSCIOL et al., 2010). Deste modo, a redução da expansão das células epidérmicas no genótipo BRS 1010 contribuiu para a redução da área foliar e, conseqüentemente, houve redução da área fotossintetizante, contribuindo para uma diminuição da fotossíntese e do crescimento das plantas sob deficiência hídrica. A redução da capacidade fotossintética pode afetar a produção de grãos, devido a menor massa vegetativa no estágio vegetativo (CRUZ et al., 2006).

O genótipo DKB 390 sob déficit hídrico apresentou mudanças nas características fisiológicas e anatômicas que permitiram a tolerância à seca. Como as trocas gasosas que manteve nas mesmas proporções entre as condições irrigadas e de déficit hídrico. A tolerância à seca também pode ser observada através da espessura do mesofilo, sendo os resultados congruentes com relação à fotossíntese, em que as maiores espessuras do mesofilo resultaram em maiores taxas fotossintéticas. O genótipo DKB 390 sob déficit hídrico obteve as mesmas taxas fotossintéticas em relação às plantas irrigadas, devido a maior espessura do tecido clorofiliano, que apresentou células maiores.

A maior proporção deste tecido pode estar relacionada à maior formação de clorênquima nas folhas, com o aumento de células fotossintéticas, aumentando a eficiência fotossintética (BACELAR et al., 2004; GUERFEL et al., 2009). Souza et al. (2013a), em seu trabalho, observaram que o genótipo DKB 390 (tolerante) superou o híbrido BRS 1030 (sensível) no rendimento de grãos sob déficit hídrico. Além disso, apresentou maior condutância estomática e maior relação da eficiência quântica do FSII. Sendo assim, as altas taxas fotossintéticas do genótipo DKB 390 sob déficit hídrico têm um papel fundamental no seu crescimento e para a produção de biomassa, como mostrado anteriormente, pelo maior desenvolvimento da parte aérea.

O genótipo DKB 390 aumentou o tamanho das células epidérmicas e do mesofilo sob déficit hídrico. Isso pode ser notado através da densidade de células epidérmicas, por milímetro quadrado, em ambas as faces, e a espessura do mesofilo manteve nas mesmas proporções, não diferindo entre irrigado e seca, ou seja, manteve seu turgor celular mesmo em condições de déficit hídrico, exibindo um mecanismo de tolerância à seca.

Segundo Mediavilla, Escudeiro e Heilmeyer (2001), os genótipos que ocorrem em ambientes secos e ensolarados geralmente possuem folhas mais espessas, maiores massas específicas e densidade estomática, menores dimensões das células do mesofilo e com poucos espaços intercelulares, cutícula espessa, dentre outros, quando comparados com os desenvolvidos em ambientes úmidos e sombreados. No entanto, neste trabalho observou-se ao contrário, o genótipo DKB 390 sob deficiência hídrica apresentou uma expansão das células epidérmicas, maiores dimensões das células do mesofilo e com muitos espaços intercelulares, o que contribuiu para o aumento da área foliar e, conseqüentemente, para o aumento da área fotossintetizante e um aumento da fotossíntese, mostrando sua capacidade de manter suas atividades fisiológicas normais mesmo sob deficiência hídrica.

Os genótipos estudados sob déficit hídrico, apresentaram uma diminuição da área do xilema e floema. Estas características de redução dos tecidos vasculares podem indicar uma maior condutividade hidráulica, o que aumenta a capacidade de transporte de água e sais minerais nos vasos condutores (LI; SPERRY; SHAO, 2009).

Outra modificação anatômica de resistência das plantas sob déficit hídrico muito encontrado na literatura é a diminuição do diâmetro do vaso. Esta redução observada entre os genótipos é uma característica que evita a cavitação, por proporcionar um aumento da resistência do fluxo de água ao longo dos elementos de vaso do xilema (PEREIRA, 2008), pois a presença de vasos estreitos contribui efetivamente para aumentar a condutividade hidráulica, e quanto maior os elementos de vaso, maior eficiência na condução da seiva, bem como a suscetibilidade de cavitação. Sendo assim, os genótipos apresentaram estas modificações anatômicas frente ao déficit hídrico, favorecendo a resistência a esse fenômeno, como mostrado em trabalhos anteriores.

## 5 CONCLUSÃO

Os genótipos estudados possuem mecanismos de resistência à seca diferenciais para lidar com o estresse gerado pela deficiência hídrica. O genótipo DKB 390, considerado tolerante à seca, investe principalmente em mecanismos de tolerância, mantendo suas atividades fisiológicas normais mesmo em condições de déficit hídrico, ocorrendo a manutenção do turgor celular em nível de parte aérea para manutenção das células, o que diminui a dependência de investimentos em nível de raiz para aumentar a captura de água e obtendo possivelmente a manutenção de seus componentes para a produtividade. Por sua vez, o genótipo BRS 1010, considerado sensível, possui mecanismo de resistência em que a planta evita a seca devido a sua sensibilidade, por meio de suas modificações morfofisiológicas, ou seja, melhoram a habilidade na eficiência no uso da água, através da redução na transpiração, condutância estomática, aumento na densidade estomática (resistência estomática) e maior razão raiz parte/aérea.

Essas modificações anatômicas/estruturais para evitar a seca do genótipo BRS 1010 são importantes para os mecanismos de evitação à seca, como o aumento na eficiência no uso da água e a resistência estomática, pois permitem a sobrevivência das plantas de milho sob déficit hídrico. No entanto, do ponto de vista do genótipo DKB 390, os mecanismos fisiológicos de tolerância à seca, mostrado neste genótipo, são os que provavelmente possuem o mecanismo que melhor corresponde à resistência à seca, devido à manutenção do turgor celular e de suas trocas gasosas, possivelmente não levando à fotoinibição nem danos às folhas para translocação de fotossintatos para novas áreas de crescimento.

Mesmo com esses resultados, há a necessidade de um estudo em nível molecular e fisiológico mais detalhado para reforçar sobre a importância da manutenção do turgor celular apresentados na folha pelo genótipo DKB 390 na seca.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, A. A. C.; SETTER, T. L. Response of Cassava Leaf Area Expansion to Water Deficit: Cell Proliferation, Cell Expansion and Delayed Development. **Annals Of Botany**, oxford, v. 94, n. 4, p.605-613, 2004.
- ANJUM, S. A. et al. Fulvic acid application improves the maize performance under wellwatered and drought conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Hoboken, v. 197, n. 6, p. 409-417, Dec. 2011b.
- ARAUS, J. L.; SANCHEZ, C.; CABRERA-BOSQUET, L. Is heterosis in maize mediated through better water use? **New Phytologist**, Cambridge, v. 187, p. 392-406, 2010.
- BACELAR, E. A. et al. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, n. 2, p. 233-239, 2004.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42 p.
- BERTOLINO, L. T. et al. Impact of Stomatal Density and Morphology on Water-Use Efficiency in a Changing World. **Frontiers In Plant Science**, v. 10, p.88-96, 2019.
- BIANCHI, A. et al. Delivery of yeast telomerase to a DNA break depends on the recruitment functions of Cdc13 and Est1. **Molecular Cell**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 139-146, 2004.
- BLUM, A. **Drought stress and its impact**. 2002. Disponível em: <[http://www.plantstress.com/Articles/drought\\_i/drought\\_i.htm](http://www.plantstress.com/Articles/drought_i/drought_i.htm)>. Acesso em: 12 out. 2014.
- CAINE, R. S. et al. Rice with reduced stomatal density conserves water and has improved drought tolerance under future climate conditions. **New Phytologist**, v. 221, n. 1, p.371-384, 2018.
- CAKIR, R. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 1-16, 2004.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: Ed. UFLA, 2009. 234 p.
- CARDOSO, M. et al. Rendimento de grãos, componentes de rendimento e eficiência de uso da água de híbridos de milho em condições climáticas contrastantes. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa**, v. 1, set. 2012.
- CHARTZOULAKIS, K. et al. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, p. 39-50, 2002.
- CHEN, J. et al. Characterization of maize inbred lines for drought and heat tolerance. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v. 67, n. 5, p. 354-364, 2012.

CORNIC, G. et al. Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. **Photosynthetica**, Praha, v. 27, p. 295-309, 1992.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. **Tópicos em ecofisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: FEPAF, 2010. 111 p.

CRUZ, J. L. et al. Crescimento e partição de matéria seca e de carbono no mamoeiro em resposta à nutrição nitrogenada. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 351-361, 2004.

CRUZ, J. C. et al. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2006. (Circular Técnica).

CUTLER, J. M.; RAINS, D. W.; LOOMIS, R. S. The importance of cell size in the water relations of plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 40, p. 255-260, 1977.

DÍAZ, A. S. et al. Aerenchyma development in different root zones of maize genotypes under water limitation and different phosphorus nutrition. **Biologia Plantarum**, v. 62, n. 3, p.561-568, 29 jun. 2018.

ESAU, K. Anatomy of seed plants. **Soil Science**, Madison, v. 90, p. 149, 1960.

FALQUETO, A. R. et al. Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. **Bragantia**, v. 68, p. 563-571. 2009.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 72, p. 673-689, 2015.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 185-212, Mar. 2009.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 55, n. 1, p. 123-142, Jan. 1968.

FEDERAÇÃO DE INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. Safra mundial de milho 2018/19: 8º levantamento do USDA. **Informativo Deagro**, São Paulo, set. 2018. Disponível em: <<https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>>. Acesso em: 25 set. 2018.

FERREIRA, V. M. et al. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Miracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasilica**, Porto Alegre, v. 18, p. 573-580, 2004.

FISCHLIN, A. et al. Ecosystems, their properties, goods and services. In: PARRY, M. L. et al. (Ed.). **Contribution of working group II to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. chap. 4, p. 211-272.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of Photosynthesis in C3 Plants: Stomatal and Non-stomatal Limitations Revisited. **Annals Of Botany**, v. 89, n. 2, p.183-189, 2002.

GUERFEL, M. et al. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 257-263, 2009.

GUIMARÃES, C. M. et al. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, p. 126-134, 2011.

HAUPT-HERTING, S.; FOCK, H. P. Exchange of oxygen and its role in energy dissipation during drought stress in tomato plants. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 110, p. 489-495, 2000.

HEINIGER, R. W. **The impact of early drought on corn yield**. Raleigh: North Carolina State University, 2001. Disponível em: <[http://www.ces.ncsu.edu/plymouth/cropsci/docs/early\\_drought\\_impact\\_on\\_corn.html](http://www.ces.ncsu.edu/plymouth/cropsci/docs/early_drought_impact_on_corn.html)>. Acesso em: 10 mar. 2018.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32 p.

HSIAO, T. C. Measurements of plant water status. In: STEWART, B. A.; NIELSEN, D. R. (Ed.). **Irrigation of agricultural crops**. New York: American Society of Agronomy, 1990. chap. 9, p. 244-280.

HSIAO, T. C.; XU, L. K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1595-1616, Sept. 2000.

HUSSAIN, M. et al. Improving Drought Tolerance by Exogenous Application of Glycinebetaine and Salicylic Acid in Sunflower. **Journal Of Agronomy And Crop Science**, v. 194, n. 3, p.193-199, 2008.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability**. Cartagena, 2014. 44 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KOBATA, T.; OKUNO, T.; YAMAMOTO, T. Contributions of capacity for soil water extraction and water use efficiency to maintenance of dry matter production in rice subjected to drought. **Japanese Journal of Crop Science**, Tokyo, v. 65, p. 652-662, 1996.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 221 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.

- LAVINSKY, A. O. et al. Partitioning between primary and secondary metabolism of carbon allocated to roots in four maize genotypes under water deficit and its effects on productivity. **The Crop Journal**, Oxford, v. 3, n. 5, p. 379-386, 2015.
- LI, Y.; SPERRY, J. S.; SHAO, M. Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 341-346, May 2009.
- LIAN, H. L. et al. Upland rice and lowland rice exhibited different pip expression under water deficit and aba treatment. **Cell Research**, Shanghai, v. 16, p. 651-660, 2006.
- LISAR, S. Y. et al. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: RAHMAN, I. M. M. (Ed.). **Water stress**. Rikeka: InTech, 2012. p. 1-14.
- LIU, Y. et al. Soil water dynamics and water use efficiency in spring maize (*Zea mays* L.) fields subjected to different water management practices on the Loess Plateau, China. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 97, p. 769-775, 2010.
- LOBELL, D. B.; GOURDJI, S. M. The influence of climate change on global crop productivity. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 160, n. 4, p. 1686-1697, Dec. 2012.
- LOPES, M. S. et al. Enhancing drought tolerance in C4 crops. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 3135-3153, 2011.
- LUDLOW, M. M.; MUCHOW, R. C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. **Advances in Agronomy**, São Diego, v. 43, p. 107-153, 1990.
- LYNCH, J. P.; CHIMUNGU, J. G.; BROWN, K. M. Root anatomical phenes associated with water acquisition from drying soil: targets for crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 21, p. 6155-6166, Nov. 2014.
- MACHADO, R. S. et al. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 12, p. 1575-1582, dez. 2009.
- MAGALHÃES, P.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de; VIANA, J. **Resposta fisiológica do sorgo ao estresse hídrico em casa de vegetação**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2012.
- MAGALHÃES, P. C. et al. Relationship Between Nitric Oxide, Enzymatic Antioxidant System And Aba In Maize Under Long-Term Drought. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 2, p.155-166, 30 ago. 2015.
- MARTINS, A. O. Inferências genético-fisiológicas da tolerância à seca em milho. 2012. 122 p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes RJ, 2012.
- MARTINS, M. **Aplicação da quitosana em milho transgênico e não transgênico**. 2016. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais)-Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.



MAUREL, C. Aquaporins and water permeability of plant membranes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 399-429, 1997.

MCADAM, S. A. M. et al. Stomatal responses to vapour pressure deficit are regulated by high speed gene expression in angiosperms. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 3, p.485-491, 2016.

MEDIAVILLA, S.; ESCUDEIRO, A.; HEILMEIER, H. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. **Tree Physiology**, Oxford, v. 21, p. 251-259, 2001.

MEDICI, L. O. et al. Stomatal conductance of maize under water and nitrogen deficits. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, p. 599-601, 2007.

MORGAN, J. M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 35, p. 299-319, 1984.

NIELSEN, R. L. **Assessing effects of drought on corn grain yield**. West Lafayette: Purdue University, 2007. Disponível em: <<http://www.kingcorn.org/news/articles.07/Drought-0705.html>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. (Ed.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: Ed. UFPE, 2005. p. 22-31.

NOGUÉS, S.; BAKER, N. R. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 348, p. 1309-1317, 2000.

PEREIRA, F. J. **Caracterização das modificações morfo-anatômicas e bioquímicas em ciclos de seleção do milho Saracura, para tolerância ao encharcamento do solo**. 2008. 78 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SADE, N. et al. Improving plant stress tolerance and yield production: is the tonoplast aquaporin SITIP2;2 a key to isohydric to anisohydric conversion. **New Phytologist**, Cambridge, v. 181, p. 651-661, 2009.

SAUSEN, T. L. **Respostas fisiológicas de *Ricinus communis* à redução na disponibilidade de água no solo**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SCALON, S. D. P. Q. et al. Desenvolvimento de mudas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) sob condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, p. 166-169, 2006.

SHAO, H. et al. Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n. 3, p. 215-225, Mar. 2008.

- SHARP, R. E. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 211-222, 2002.
- SIEFRITZ, F. et al. The plasma membrane aquaporin NtAQP1 is a key component of the leaf unfolding mechanism in tobacco. **The Plant Journal**, Oxford, v. 37, p. 147-155, 2004.
- SINGH, S. et al. Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties. **Food Chemistry**, London, v. 108, p. 130-139, 2008.
- SOUZA, G. S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos em *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 78-80, 2007. Suplemento.
- SOUZA, T. C. et al. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 2, p. 515-527, 2013a.
- SOUZA, T. C. et al. Morphophysiology, morphoanatomy, and grain yield under field conditions for two maize hybrids with contrasting response to drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, Copenhagen, v. 35, n. 11, p. 3201-3211, 2013b.
- STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U.; LUTTGE, U. Effect of turgor pressure and cell size on the wall elasticity of plant cells. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, p. 285-289, 1977.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 722 p.
- TARDIEU, F. et al. Spatial distributions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves: a synthesis of the effects of soil water status, evaporative demand and temperature. **Journal Of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p.1505-1514, 2000.
- TARDIEU, F.; GRANIER, C.; MULLER, B. Water deficit and growth: co-ordinating processes without an orchestrator? **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 14, p. 283-288, 2011.
- TEMMEI, Y. et al. Water channel activities of *Mimosa pudica* plasma membrane intrinsic proteins are regulated by direct interaction and phosphorylation. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 579, p. 4417-4422, 2005.
- TOLK, J. A.; HOWELL, T. A. Water use efficiencies of grain sorghum grown in three USA southern Great Plains soils. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 59, p. 97-111, 2003.
- TUBEROSA, R.; SALVI, S. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 11, n. 8, p. 405-412, Aug. 2006.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **USDA agricultural projections**. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/oce081>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

VILELA, E. F.; BÜLL, L. T. Avaliação do crescimento de plantas de milho em função de doses de potássio e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, MG, v. 23, p. 281-289, 1999.

ZHAO, J. et al. Shoot and root traits in drought tolerant maize (*Zea mays* L.) hybrids. **Journal of Integrative Agriculture**, Shanghai, v. 17, p. 1093-1105, 2018.