

## Artigo original

# CONTEÚDO DE CARBOIDRATO FOLIAR EM HÍBRIDOS DE MILHO SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA

**Guimarães PS\***

Instituto Agrônômico (IAC)

<https://orcid.org/0000-0003-1698-4860>

**Rocha DS†**

BASF Trindade Research Station

<https://orcid.org/0000-0002-0305-857X>

**Paterniani MEAGZ‡**

Instituto Agrônômico (IAC)

<https://orcid.org/0000-0002-1310-8761>

**Resumo:** O déficit hídrico é um dos principais problemas da agricultura e a habilidade das plantas superarem esse estresse é de grande importância para o desenvolvimento de cultivares em programas de melhoramento genético, principalmente em culturas como a do milho. O objetivo do trabalho foi estudar a resposta do teor de carboidrato nas folhas e verificar o desempenho dos caracteres biométricos em híbridos de milho contrastantes quanto à tolerância à seca, durante o déficit hídrico, em dois estádios fenológicos da cultura. Para isso, foram utilizados os híbridos DAS2B707 e DAS2B710, considerados tolerantes segundo informações da empresa e resultados de experimentos de avaliação de cultivares, e os híbridos FT510 e AS1522, considerados sensíveis pelas observações em experimentos de Safrinha no Estado de São Paulo. O delineamento empregado foi o de blocos casualizados, com parcelas subdivididas e três repetições. As parcelas constituíram-se nos tratamentos hídricos impostos: (a) controle – plantas irrigadas durante todo o ciclo; (b) déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5); e (c) déficit hídrico a partir do estágio

\* Doutora em Agricultura Tropical e Subtropical pelo Instituto Agrônômico de Campinas; Pós-graduada em Agricultura Tropical e Subtropical pelo Instituto Agrônômico de Campinas; [psguim@yahoo.com.br](mailto:psguim@yahoo.com.br)

† Doutor em Agricultura Tropical e Subtropical pelo Instituto Agrônômico de Campinas; Pós-graduado em Agricultura Tropical e Subtropical pelo Instituto Agrônômico de Campinas; Técnico da Empresa BASF Trindade Research Station; Rodovia GO-060, s/n, Km 25, Galpão A, 75393-899, Trindade, Goiás, Brasil; [sarto.rocha@gmail.com](mailto:sarto.rocha@gmail.com)

‡ Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; Pesquisadora Científica no Centro de Grãos e Fibras do Instituto Agrônômico de Campinas; [elisa@iac.sp.gov.br](mailto:elisa@iac.sp.gov.br)

de florescimento (R1). De maneira geral, o déficit hídrico nos dois estádios fenológicos da cultura reduziu o conteúdo de carboidrato foliar, a altura da planta, o diâmetro do colmo, a massa de grãos e a massa seca total de praticamente todos os híbridos avaliados. O DAS2B707 se destacou por apresentar maior produtividade de grãos quando houve déficit hídrico a partir do estágio vegetativo, indicando um maior potencial produtivo em condições de seca nesse período. O AS1522 foi considerado tolerante à seca a partir do estágio de florescimento em razão do elevado teor de sacarose obtido em condições de déficit hídrico, caracterizando um ajustamento osmótico.

**Palavras-chave:** Tolerância à seca. Ajustamento osmótico. Produtividade.

### **Foliar carbohydrate content in maize hybrids submitted to water restriction**

**Abstract:** *Water deficit is one of the main problems of agriculture and the ability of plants to overcome this stress is of great importance for the development of cultivars in breeding programs, especially in crops such as maize. The objectives of this work was to study the response of the carbohydrate content in the leaves and to verify the performance of the biometric characters in contrasting maize hybrids as to the drought tolerance during the water deficit in two phenological stages of the crop. The hybrids used in the study were DAS2B707 and DAS2B710 considered drought tolerant, due to high performance and yield when submitted to water shortage conditions and FT510 and AS1522, considered sensitive according to results in the regional maize trials in second season at São Paulo state. A split plots design was used with three replications. The plots consisted of the three water regimens: (a) control – plants irrigated throughout the cycle; (b) water deficit from the vegetative stage (V5); and (c) water deficit from the flowering stage (R1), while the subplots consisted of the four hybrids. In general, the water deficit in the two phenological stages of the crop reduced leaf carbohydrate content, plant height, stem diameter, grain mass and total dry mass of practically all evaluated hybrids. The DAS2B707 showed a higher grain yield when there was a water deficit from the vegetative stage, indicating a higher potential under drought conditions. AS1522 was considered drought tolerant from the flowering stage due to the high content of sucrose obtained under water deficit conditions, characterizing an osmotic adjustment.*

**Keywords:** *Drought tolerance. Osmotic adjustment. Grain yield.*

Recebido em 14 de fevereiro de 2019

Aceito em 21 de maio de 2019

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura enfrenta grandes desafios para a produção de alimentos a uma população mundial em constante crescimento, previsões de eventos de aquecimento global, alterações nos padrões de precipitação e aumento de períodos de déficit hídrico.<sup>1</sup>

Essa crescente demanda, somada às mudanças climáticas, indica a necessidade de um aumento da oferta de produtos agrícolas com maior eficiência do uso de recursos, principalmente em ambientes onde a água será limitante. Estudos das modificações morfofisiológicas das plantas associadas ao estresse causado pelo déficit hídrico tornam-se de extrema importância nesse cenário. Para obter genótipos mais tolerantes à seca, o melhorista usa a prospecção de potenciais fontes de genes relacionados à tolerância ao déficit hídrico, visando introduzi-los em populações em estágios iniciais de melhoramento.

A eficiência de seleção de genótipos pela produtividade de grãos sob déficit hídrico é baixa em razão da relação inversa da herdabilidade dessa característica com o grau de intensidade do estresse. Adicionalmente, há redução no ganho genético quando a seleção é imposta continuamente na mesma característica. Portanto, é importante o uso de estratégias como ensaios em ambientes controlados e estudos de características secundárias e fisiológicas em que a seleção aplicada será mais eficiente e conferirá maior tolerância *per se* das plantas ao estresse hídrico.<sup>2-4</sup>

O estresse hídrico causa muitos danos na cultura do milho, como a redução da massa seca e fresca, altura das plantas e diâmetro dos colmos, além da redução na fotossíntese causada pelo decréscimo na expansão celular e pelos danos causados no aparato fotossintético.<sup>5-7</sup>

Mecanismos fisiológicos como o ajustamento osmótico, que levam a planta a explorar mais água de um solo seco, devem estabilizar e aumentar o fluxo de assimilados para o desenvolvimento dos grãos,<sup>8</sup> o que pode aumentar a tolerância das plantas sob estresse. O ajustamento osmótico é o mecanismo de acúmulo de solutos osmoticamente ativos na célula<sup>9</sup> que permite a manutenção da turgescência, da abertura estomática, do crescimento e da fotossíntese sob condições de baixo potencial de água na folha<sup>10</sup> e sob baixo potencial de água no solo.<sup>11,12</sup>

A manutenção da integridade do aparelho fotossintético durante o estresse é de extrema importância como característica de resistência, uma vez que permite a recuperação da fotossíntese após o estresse.<sup>13</sup> Durante o período de seca, algumas plantas conseguem acumular açúcares, ácidos orgânicos e íons no citosol para diminuir o potencial osmótico e o potencial hídrico da planta mais rapidamente que o do solo, e, conseqüentemente, mantêm o potencial hídrico e o turgor de suas células próximo do nível ótimo.<sup>14</sup>

Autores relatam variabilidade genética limitada para a característica ajustamento osmótico e nenhuma relação com a produtividade sob estresse hídrico, em genótipos tropicais.<sup>15</sup> No entanto, outros concluíram que há variância genética para o ajustamento osmótico em milho de clima temperado.<sup>16</sup> Estudos relatam resultados da contribuição do ajustamento osmótico para a produtividade de grãos de milho sob déficit hídrico entre duas populações  $S_4$  de linhagens temperadas.<sup>17</sup>

O objetivo deste trabalho foi estudar a resposta do teor de carboidratos nas folhas e verificar o desempenho dos caracteres biométricos em híbridos contrastantes de milho quanto à tolerância à seca, durante déficit hídrico, em dois estádios fenológicos da cultura.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no Centro Experimental Central do Instituto Agrônomo (IAC), localizado na Fazenda Santa Elisa (22° 53'S, 47° 04'W e altitude de 600 m), situada em Campinas, SP. Foram semeados diretamente no solo quatro híbridos de milho contrastantes quanto à tolerância à seca: DAS2B707 e DAS2B710, considerados tolerantes segundo informações da empresa e resultados de experimentos de avaliação de cultivares, e FT510 e AS1522, considerados sensíveis pelas observações em experimentos de Safrinha no Estado de São Paulo (Tabela 1).

Tabela 1 – Híbridos de milho utilizados em experimento de casa de vegetação para fins de avaliação de parâmetros fisiológicos e biométricos sob déficit hídrico imposto a partir do estágio vegetativo (V5) e do estágio de florescimento (R1), Campinas, 2011

Híbridos	Tipo	Ciclo	Porte	Aparência/cor dos grãos	Finalidade	Empresa
DAS2B707	simples	precoce	médio/ alto	semiduro/ alaranjado	grão	Dow AgroSciences
DAS2B710	simples	precoce	baixo	semidentado/alaranjado	grão	Dow AgroSciences
FT510	simples	superprecoce	alto	duro/alaranjado	grão	FT Sementes
AS1522	simples	precoce	alto	semiduro/amarelado	grão	Agroeste Sementes

O delineamento empregado foi o de blocos casualizados, com parcelas subdivididas e três repetições. As parcelas constituíram-se nos tratamentos hídricos impostos: (a) controle – plantas irrigadas durante todo o ciclo; (b) déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5) – quando as plantas apresentavam cinco folhas totalmente expandidas; e (c) déficit hídrico a partir do estágio de florescimento (R1) – quando 50% das plantas na parcela apresentavam estilo-estigma (Tabela 2). As subparcelas foram constituídas pelos quatro híbridos. A parcela foi constituída de uma linha de 3,5 m espaçada por 1,2 m entrelinha, 0,5 m entre covas e duas plantas por cova, totalizando 14 plantas na parcela. O encerramento do déficit hídrico de cada estágio avaliado foi determinado pelo aspecto visual das plantas, ou seja, quando as plantas apresentavam sintomas de murcha acentuada no início do dia.

Tabela 2 – Período de déficit hídrico, temperatura média dentro da casa de vegetação e a média do potencial matricial do solo do tratamento submetido ao déficit hídrico imposto em dois estádios fenológicos da cultura.

<b>Estádio fenológico</b>	<b>Período de déficit hídrico</b>	<b>Temperatura média</b>	<b>Potencial matricial do solo (<math>\Psi_s</math>)*</b>
Vegetativo	40 dias (8/5 a 17/6/2011)	22,4 °C	-0,69 Mpa
Florescimento	75 dias (2/6 a 16/8/2011)	23,4 °C	-0,75 Mpa

Nota: (\*) Média de três leituras dos tensiômetros de coluna de mercúrio instalados a 45 cm de profundidade no solo em cada parcela durante o déficit hídrico.

Os tratos culturais foram realizados de acordo com as necessidades da cultura e a água foi fornecida por um sistema de irrigação por gotejamento até o momento de imposição do déficit hídrico, bem como no período posterior ao estresse. O potencial matricial da água no solo foi medido por tensiômetros de coluna de mercúrio, instalados a 45 cm de profundidade em cada parcela. As frequências de irrigação foram de duas a três por semana, com duração de 10 minutos quando as plantas se encontravam no estágio vegetativo e de 20 minutos no estágio de florescimento com vazão de 3,75 L.h<sup>-1</sup>. O fornecimento de água no tratamento irrigado foi realizado no momento em que os tensiômetros indicavam potencial matricial do solo ao redor de -0,10 MPa.

Os períodos de déficit hídrico, a temperatura média dentro da casa de vegetação e a média dos potenciais matriciais do solo em cada estágio fenológico estão apresentados na Tabela 2. No momento da avaliação dos caracteres fisiológicos a temperatura da casa de vegetação e do potencial matricial do solo indicava valores de 28 °C e -0,80 MPa no estágio vegetativo e de 32 °C e -1,10 MPa no florescimento.

Vale ressaltar que as plantas irrigadas durante todo o ciclo (controle) foram utilizadas para fins de comparação e, dessa forma, avaliadas concomitantemente com os tratamentos sob déficit hídrico nos dois estádios fenológicos da cultura. Posteriormente ao déficit hídrico, a irrigação foi restabelecida até o término do ciclo da cultura para avaliações dos parâmetros biométricos.

Para a quantificação do teor de carboidratos nas folhas, nos dias de máximo déficit hídrico nos dois tratamentos de irrigação foram coletadas amostras de folhas às 8h30min. As folhas coletadas em cada parcela foram secas em liofilizador até obtenção de peso constante, sendo posteriormente maceradas e armazenadas até o momento das análises. Os carboidratos mensurados foram: açúcares solúveis (AS), sacarose (SAC), amido (AM) e carboidrato total não estrutural (CTNE: açúcares + amido).

Para a extração dos açúcares solúveis (AS) nas folhas foi utilizada uma solução composta por metanol, clorofórmio e água (MCW) na proporção de 12:5:3 v/v.<sup>18</sup> Foram colocados aproximadamente 75 mg de matéria seca e 3 mL de MCW em tubo falcon. Realizou-se agitação da solução por aproximadamente 30 segundos em vórtex e, posteriormente, as amostras foram armazenadas por três dias sob refrigeração. Depois, adicionou-se 1,2 mL de água e 1,8 mL de clorofórmio e, então, essa solução foi novamente armazenada sob refrigeração por mais dois dias. Após essa etapa, o sobrenadante foi coletado e concentrado em banho-maria (MA184, Marconi, Brasil) a 50 °C por cerca de 3 horas e 30 minutos. O volume obtido foi mensurado e o extrato utilizado na determinação de AS e SAC.

A fração AS foi determinada pelo método fenol-sulfúrico.<sup>19</sup> Em 10 µL de amostra foram adicionados 490 µL de água destilada, 500 µL de fenol 5% e 2 mL de ácido sulfúrico p.a., agitando-se a solução em vórtex. Após o resfriamento da solução, realizou-se a leitura da absorbância a 490 nm em espectrofotômetro modelo B342II (Micronal, Brasil), em duplicata. Os valores foram transformados em teor de AS com o auxílio de uma reta-padrão obtida com concentrações variadas de glicose (0, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 µg).

A fração SAC foi determinada pelo método proposto por Van Handel.<sup>20</sup> Em tubos de ensaio, foram adicionados 15 µL de amostra, 485 µL de água e 500 µL de solução de hidróxido de potássio 30%. Os tubos foram vedados e incubados a 95 °C por 10 minutos em banho-maria. Posteriormente, foram adicionados 500 µL de fenol 5% e 2 mL de ácido sulfúrico p.a. A solução foi agitada em vórtex e após o resfriamento procedeu-se à leitura da absorbância

a 490 nm em espectrofotômetro, em duplicata. Os valores foram transformados em teor de SAC com o auxílio de uma reta-padrão obtida com concentrações variadas de sacarose (0, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 µg).

Para a determinação de amido (AM), utilizou-se o método enzimático proposto por Amaral, Gaspar, Costa, Aidar e Buckeridge (2007).<sup>21</sup> Amostras de 12 mg de matéria seca foram depositadas em microtubos de 2 mL. Para obtenção do precipitado foram feitas quatro extrações com 500 µL de etanol 80% com incubação em banho-maria por 20 minutos a 80 °C. O precipitado foi seco durante cinco dias à temperatura ambiente. Adicionaram-se ao precipitado 500 µL (110 U.mL<sup>-1</sup>) de  $\alpha$ -amilase (EC 2.3.1.1) termoestável de *Bacillus licheniformis* (cód. E-ANAAM, Megazyme, Irlanda), diluída em tampão MOPS 10 mM e pH 6,5. As amostras foram incubadas a 75 °C em banho-maria por 30 minutos. Esse passo foi repetido mais uma vez, totalizando 120 unidades da enzima. Em seguida, adicionaram-se 500 µL (30 U.mL<sup>-1</sup>) de amiloglicosidase (EC 3.2.1.3) de *Aspergillus niger* (cód. E-AMGPU, Megazyme, Irlanda) em tampão acetato de sódio 100 mM e pH 4,5. As amostras foram incubadas a 50 °C por 30 minutos. Esse passo foi repetido mais uma vez, totalizando 30 unidades da enzima, sendo em seguida acrescentados 100 µL de ácido perclórico 0,8 M.

A quantificação de amido foi realizada em 50 µL da amostra adicionados a 750 µL de glicose PAP Liquiform (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), com posterior incubação a 30 °C por 15 minutos. A absorbância foi avaliada com um leitor de microplacas modelo EL307C (Bio-Tek Instruments, EUA) a 490 nm, em triplicata. Os valores foram transformados em teor de amido a partir da reta-padrão obtida com as leituras de soluções contendo 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µg de glicose.

O conteúdo de contraestruturas (CTNE) e carboidrato total não estrutural (CTNE) foi determinado indiretamente pela soma do teor de açúcares solúveis totais com o amido (CTNE=AS+AM).

Após 160 dias da semeadura, avaliaram-se os seguintes caracteres nas plantas de todas as parcelas em todos tratamentos hídricos: altura de planta (AP, em cm); diâmetro do caule (DIAM, em mm); massa de grãos (MG, em g por planta, corrigidos para 14% de umidade); e massa seca total, após secagem em estufa de circulação forçada a 60 °C até a obtenção da massa seca constante (MST, em g por planta). Os dados foram submetidos

à análise de variância e os valores médios foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, usando o programa estatístico SISVAR.<sup>22</sup>

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5) não foi possível identificar diferença significativa entre híbridos e entre tratamentos hídricos quando considerado o teor de açúcar solúvel nas folhas (dados não apresentados no gráfico). Com relação aos teores de sacarose (SAC), pode-se observar que os híbridos 2B707 e o FT510 apresentaram maiores valores em condições de irrigação plena, porém, quando houve período de seca, esses mesmos híbridos tiveram reduções de 33 e 55% em relação ao tratamento irrigado, respectivamente (Figura 1a).

O déficit hídrico também reduziu o conteúdo de AM (Figura 1b) em todos os tratamentos; 2B707 apresentou o menor conteúdo sob irrigação. O AS1522 apresentou o maior conteúdo, tanto sob irrigação quanto sob déficit, e ainda apresentou a menor redução (38%). Quanto ao carboidrato total não estrutural (CTNE), somente o híbrido FT510 apresentou redução significativa em razão da seca (Figura 1c).

Sabe-se que o metabolismo de carboidratos na planta é outro fator diretamente relacionado ao crescimento, e sua dinâmica é influenciada sob condições estressantes.<sup>23</sup> O presente estudo mostrou decréscimo no conteúdo de solutos em decorrência do déficit hídrico. Em contrapartida, estudos que avaliaram três híbridos de milho com níveis de tolerância à seca diferentes relataram resultados de acúmulo de carboidratos não estruturais, sacarose e amido em resposta ao estresse hídrico.<sup>24</sup> Outros autores também avaliando híbridos de milho em estádios precoces (oito dias após a emergência), com cinco dias de estresse, mostraram resultados de aumento do conteúdo de açúcares.<sup>25</sup> Porém, o híbrido AS1522 reteve maior quantidade de amido nas suas folhas que faz parte de osmólitos que protegem as células contra danos causados por espécies reativas de oxigênio e da desidratação.<sup>26</sup>

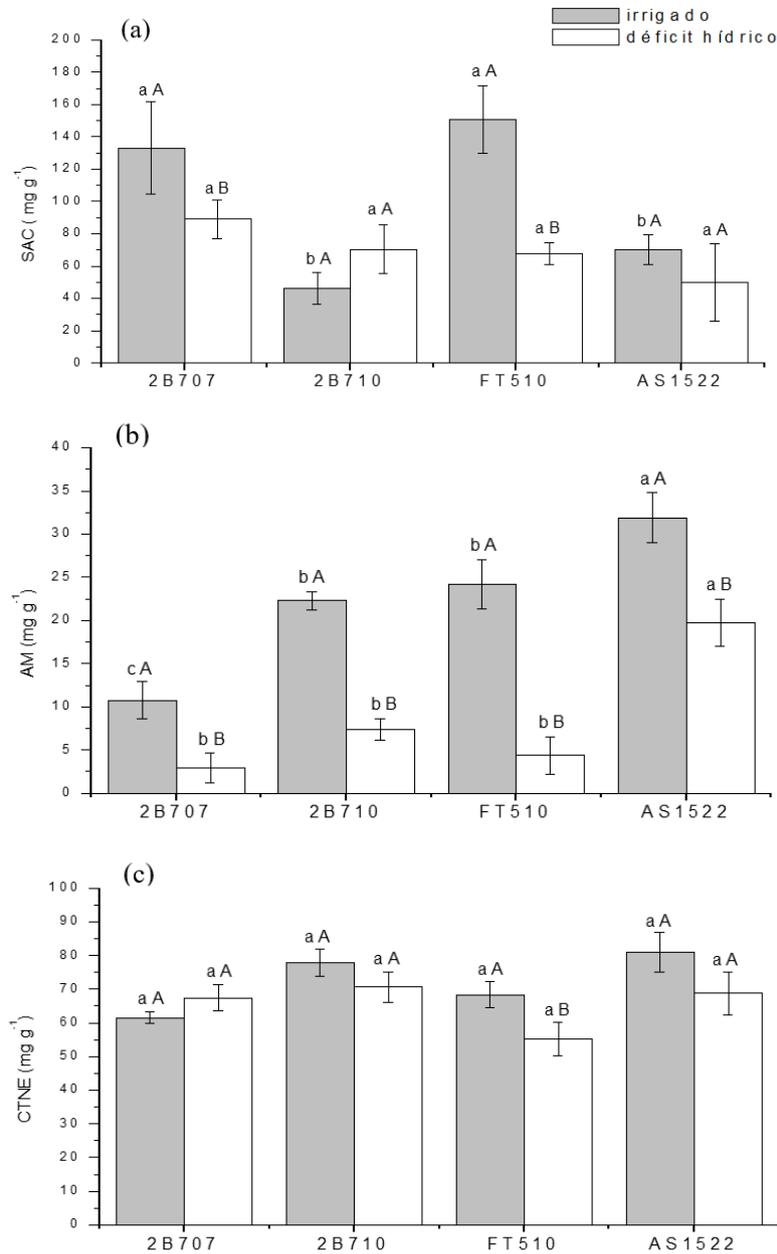


Figura 1 – Teores de sacarose (SAC, em a), amido (AM, em b) e carboidrato total não estrutural (CTNE, em c) de quatro híbridos de milho avaliados sob condição irrigada e sob déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5). Folhas coletadas às 8h30min após 40 dias sob déficit hídrico. Cada histograma representa o valor médio (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas (P<0,05) pelo teste de Scott-Knott entre os híbridos na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos.

Na Tabela 3 observa-se que os valores de altura (AP) e diâmetro (DIAM), sob estresse, apresentaram reduções significativas em todos os híbridos, com exceção do FT510, que não sofreu redução em AP, além de apresentar o maior diâmetro em ambos os tratamentos hídricos. Alguns estudos relatam também redução na altura de híbridos de até 25%, submetidos ao déficit hídrico.<sup>27</sup> Isso pode ocorrer em razão do aumento que ocorre no crescimento e do acúmulo de biomassa das raízes em detrimento do desenvolvimento da parte aérea, por meio da maior expressão de xyloglucano endotransglicosidase/hidrolases que aumentam a expansão da parede celular das raízes.<sup>2</sup>

Tabela 3 – Altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DIAM), massa de grãos (MG) e massa seca total (MST) de quatro híbridos de milho avaliados sob condição irrigada e déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5), Campinas, 2011.

Híbridos	Variáveis/Tratamento hídrico	
	AP (cm)	
	Irrigado	Déficit hídrico
DAS2B707	223,10 ± 67,76 aA	118,30 ± 77,76 aB
DAS2B710	207,20 ± 63,42 aA	122,10 ± 39,78 aB
FT510	230,20 ± 70,14 aA	170,60 ± 54,98 aA
AS1522	222,00 ± 73,08 aA	162,10 ± 55,51 aB
Híbridos	DIAM (mm)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	18,47 ± 1,80 bA
DAS2B710	18,41 ± 2,57 bA	16,47 ± 1,27 bB
FT510	21,90 ± 2,12 aA	19,90 ± 1,84 aB
AS1522	20,02 ± 3,28 bA	17,29 ± 1,87 bB
Híbridos	MG (g por planta)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	162,86 ± 11,43 bA
DAS2B710	174,29 ± 8,16 bA	101,43 ± 20,00 bB
FT510	192,86 ± 6,34 aA	94,19 ± 18,57 bB
AS1522	175,71 ± 17,14 bA	105,71 ± 11,43 bB
Híbridos	MST (g por planta)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	432,86 ± 25,71 bA
DAS2B710	421,43 ± 27,14 bA	217,14 ± 23,10 bB
FT510	482,86 ± 11,43 aA	240,00 ± 32,86 bB
AS1522	447,14 ± 15,71 bA	265,71 ± 18,57 bB

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Scott-Knott entre os híbridos na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas nas linhas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. Média ( $n=3$ ) ± desvio padrão. Medidas avaliadas após 40 dias sob déficit hídrico.

A seca reduziu significativamente a massa de grãos (MG) e permitiu diferenciar o híbrido 2B707 dos demais, com uma redução de 18%; já o híbrido FT510, com maior produção sob irrigação plena, sofreu redução de 51% na MG, revelando sensibilidade à seca. O acúmulo de biomassa (MST) foi afetado drasticamente pela seca em comparação com o tratamento irrigado, apresentando reduções de 33, 48, 50 e 41% para os híbridos DAS2B707, DAS2B710, FT510 e AS1522, respectivamente (Tabela 3). Na condição irrigada o híbrido FT510 teve maior MST, e quando houve suspensão da irrigação, o 2B707 se destacou dos demais híbridos, apresentando maior biomassa.

Barnaby, Kim, Bauchan, Bunce, Reddy e Sicher<sup>24</sup> relataram redução de 43 e 63% na biomassa seca da parte aérea de híbridos tolerantes e sensíveis, respectivamente, sob estresse hídrico, corroborando os resultados encontrados no presente estudo. As plantas mais tolerantes retêm mais água, mantêm alta fotossíntese e acumulam mais biomassa que as plantas mais sensíveis.

Quando houve déficit hídrico a partir do estágio de florescimento (R1), os quatro híbridos não apresentaram alteração no teor de AS em comparação com o tratamento irrigado. Houve diferença significativa entre híbridos tanto nas plantas mantidas sob irrigação quanto nas plantas sob estresse. O híbrido AS1522 destacou-se nos dois tratamentos hídricos, uma vez que apresentou valores elevados de AS (Figura 2a).

Quanto à sacarose, houve acúmulo nas folhas dos híbridos 2B707 e AS1522, com incremento de 67 e 86%, em relação ao tratamento irrigado para os dois híbridos, respectivamente (Figura 2b). Pôde-se verificar que a quantidade de AM foi reduzida em até 88%, pelo período de déficit hídrico. Os híbridos somente mostraram diferenças na condição irrigada, sendo os maiores teores referentes a FT510 e a AS1522 (Figura 2c).

Quanto ao teor de carboidrato total não estrutural (CTNE), observou-se redução causada pelo estresse em todos os cultivares. Na condição irrigada o 2B707 apresentou menor valor de CTNE, e, quando houve déficit hídrico, o AS1522 apresentou maior conteúdo de CTNE (Figura 2d).

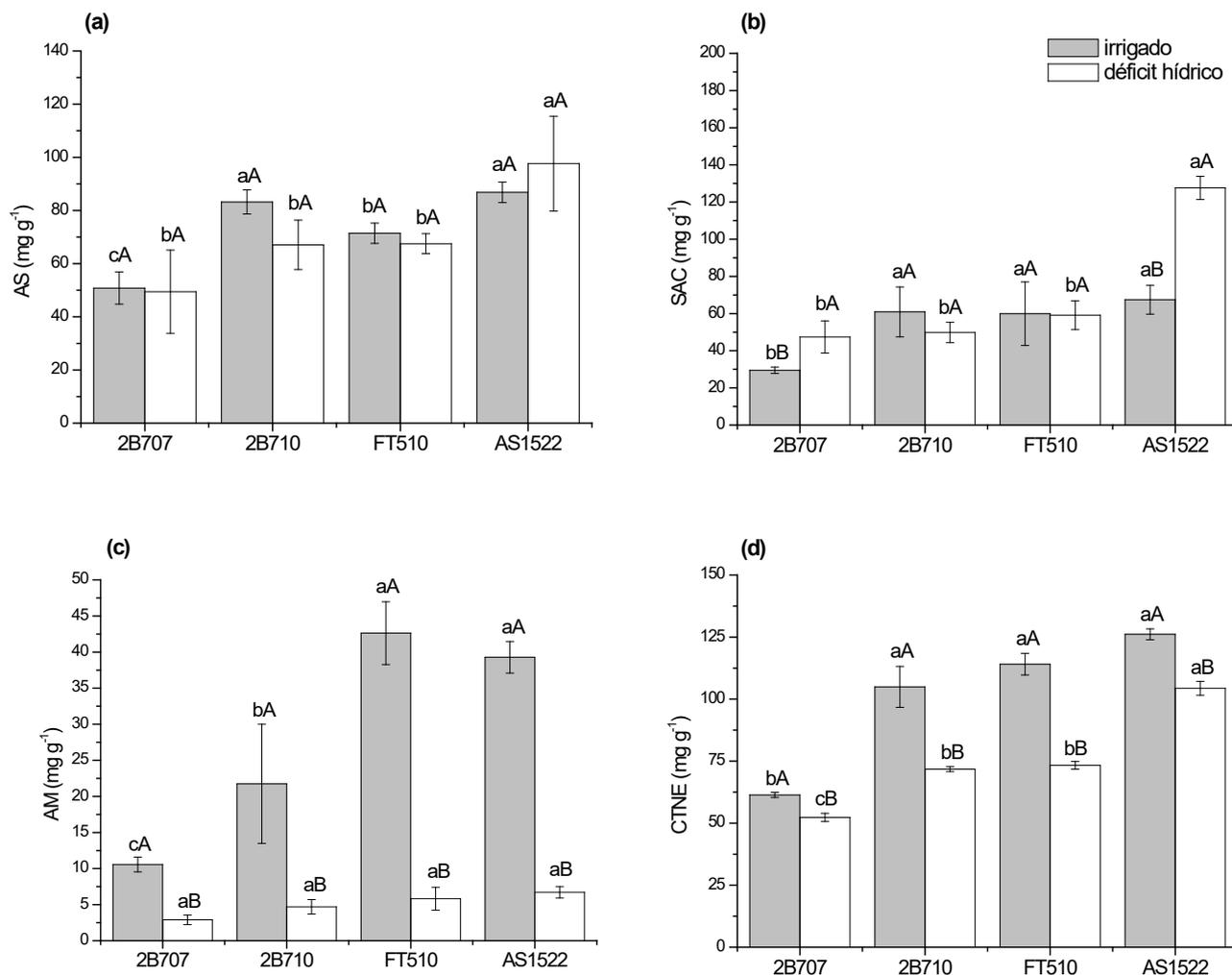


Figura 2 – Teores de açúcares solúveis (AS, em a), sacarose (SAC, em b), amido (AM, em c) e carboidrato total não estrutural (CTNE, em d) de quatro híbridos de milho avaliados sob condição irrigada e sob déficit hídrico a partir do estágio de florescimento (R1). Folhas coletadas às 8 h e 30 min após 75 dias sob déficit hídrico. Cada histograma representa o valor médio ( $n=3$ )  $\pm$  desvio padrão. Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Scott-Knott entre os híbridos na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos.

A suspensão da irrigação no período do florescimento provocou redução da AP nos híbridos com exceção do AS1522. Observou-se diferença significativa entre híbridos apenas quando as plantas se encontravam submetidas ao déficit hídrico, sendo o híbrido DAS2B710 o que apresentou menor altura da planta (Tabela 4). O DIAM não foi influenciado pelo déficit hídrico. Entretanto, pôde-se verificar diferenças entre os híbridos nos dois

tratamentos de irrigação, com FT510 e AS1522, apresentando maiores diâmetros do colmo nos dois tratamentos hídricos.

Tabela 4 – Altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DIAM), massa de grãos (MG) e massa seca total (MST) de quatro híbridos avaliados de milho sob condição irrigada e sob déficit hídrico a partir do estágio de florescimento (R1), Campinas, 2011.

Híbridos	Variáveis/Tratamento hídrico	
	AP (cm)	
	Irrigado	Déficit hídrico
DAS2B707	223,10 ± 67,76 aA	189,30 ± 55,20 aB
DAS2B710	207,20 ± 63,42 aA	143,10 ± 45,51 bB
FT510	230,20 ± 70,14 aA	203,30 ± 66,65 aB
AS1522	222,00 ± 73,08 aA	214,10 ± 66,36 aA
Híbridos	DIAM (mm)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	18,47 ± 1,80 bA
DAS2B710	18,41 ± 2,57 bA	17,20 ± 1,74 bA
FT510	21,90 ± 2,12 aA	20,10 ± 1,36 aA
AS1522	20,02 ± 3,28 aA	18,60 ± 0,52 aA
Híbridos	MG (g por planta)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	162,86 ± 11,43 bA
DAS2B710	174,29 ± 1,43 bA	91,43 ± 18,57 bB
FT510	192,86 ± 4,29 aA	82,86 ± 17,14 bB
AS1522	175,71 ± 17,14 bA	120,00 ± 2,86 aB
Híbridos	MST (g por planta)	
	Irrigado	Déficit hídrico
	DAS2B707	432,86 ± 25,71 aA
DAS2B710	421,43 ± 27,14 aA	292,86 ± 35,71 bB
FT510	482,86 ± 11,43 aA	271,43 ± 51,43 bB
AS1522	447,14 ± 58,57 aA	414,29 ± 70,00 aA

Nota: Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças estatísticas (P<0,05) pelo teste de Scott-Knott entre os híbridos na mesma condição hídrica e letras maiúsculas distintas nas linhas representam diferenças estatísticas entre os tratamentos hídricos. Média (n=3) ± desvio padrão. Medidas avaliadas após 75 dias sob déficit hídrico.

Houve redução da MG após 75 dias sob déficit hídrico. Reduções de rendimento na ordem de 25, 48, 57 e 32% foram observadas para os híbridos DAS2B707, DAS2B710, FT510 e AS1522, respectivamente. Os híbridos DAS2B707 e AS1522 se destacaram com maiores desempenhos de MG, após o período de deficiência hídrica.

Os valores de MST também foram reduzidos em razão da seca, nos híbridos DAS2B707 (32%), DAS2B710 (31%) e FT510 (44%). Porém, para AS1522 o valor de MST se manteve constante nos dois tratamentos de irrigação. Foi possível verificar diferença significativa entre híbridos somente nas plantas sob déficit hídrico, sendo AS1522 o que apresentou maior MST em relação aos demais híbridos avaliados (Tabela 4).

Condições de água limitada causam decréscimo no potencial hídrico do solo, comumente inibindo a fotossíntese. Se essas condições ocorrem por causa da polinização, elas especificamente causam grandes perdas na reprodução.<sup>28</sup> No milho, podem ocorrer alterações dos estádios reprodutivos e aborto dos ovários, reduzindo o número de grãos.<sup>29</sup> Quando a condição hídrica do solo é restaurada, as plantas se recuperam, mas o desenvolvimento dos ovários não, em decorrência da associação do abortamento dos ovários com a disponibilidade de açúcar no ovário. A distribuição de glicose nos ovários em baixo potencial hídrico é consistente com a falta de suprimento de sacarose.<sup>30</sup> Adicionalmente, estudos mostram que a sacarose é o principal açúcar translocado em milho e a glicose é o produto direto da sua inversão; ela é hidrolisada no apoplasto do pedicelo durante o desenvolvimento do grão.<sup>31</sup>

No presente trabalho, o híbrido AS1522 apresentou o maior teor de açúcar solúvel após o período de estresse, possivelmente em razão da redução drástica na concentração de amido em suas folhas. O amido é quebrado pelas invertases, resultando em glicose e suprimindo a necessidade dos ovários. Uma maior concentração de sacarose também pode estar relacionada com o ajustamento osmótico e com uma maior manutenção da hidratação foliar. À medida que a umidade do solo diminui, o ajustamento osmótico favorece a manutenção do turgor, e, assim, a integridade das funções metabólicas.<sup>32</sup> Portanto, nessas condições, esse híbrido tolerou mais o estresse, considerando que não sofreu redução da altura nem da massa seca, e apresentou um dos maiores diâmetros e massa de grãos (Tabela 4).

No caso do híbrido 2B707, sob estresse as concentrações de carboidratos não foram expressivas; apresentou um dos menores valores de diâmetro do colmo e de acúmulo de biomassa, mas o maior valor de massa de grãos. Esse redirecionamento de assimilados é comumente relatado na literatura como um dos principais mecanismos para tolerar a falta de água no solo e manter a produção de grãos estável. Esse tipo de mecanismo que mantém a produção estável em detrimento do crescimento de outros órgãos da planta foi

relatado em estudos prévios, avaliando o índice de colheita (IC), que é a relação da massa seca dos grãos e a massa seca total acima do solo, em híbridos de milho transgênicos tolerantes à seca,<sup>33</sup> além de estudos visando ao aumento do IC sob condições limitantes de água.<sup>34,35</sup>

Nos demais híbridos o conteúdo de carboidratos não teve uma mudança tão expressiva por causa da seca, indicando uma possível paralisação na exportação de triose-fosfato do cloroplasto associada à redução da força de dreno e dos teores de SAC no tecido.<sup>36</sup>

## 4 CONCLUSÃO

De maneira geral, o déficit hídrico nos dois estádios fenológicos da cultura reduziu o conteúdo de carboidrato foliar, altura da planta, diâmetro do colmo, massa de grãos e massa seca total de praticamente todos os híbridos avaliados.

O híbrido DAS2B707 se destacou por apresentar maior produtividade de grãos quando houve déficit hídrico a partir do estágio vegetativo (V5), indicando ser mais tolerante à seca, talvez por mobilizar os carboidratos para o crescimento das raízes, explorando mais água do solo.

O AS1522 foi considerado tolerante à seca a partir do estágio de florescimento (R1), em decorrência do elevado conteúdo de sacarose foliar obtido em condições de déficit hídrico, caracterizando um ajustamento osmótico nesse híbrido.

O FT510 foi considerado sensível à seca, sob estresse a partir do estágio vegetativo (V5), pois não é eficiente em redirecionar fotoassimilados para a produção de grãos.

### Agradecimentos

Ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Ecologia e Biofísica do Instituto Agrônomo (IAC), ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, ao Professor Rafael Vasconcelos Ribeiro pelas sugestões e esclarecimentos, e à FAPESP, que financiou o estudo.

## REFERÊNCIAS

1. Araus JL, Serret MD, Edmeades GO. Phenotyping maize for adaptation to drought. *Front Physiol.* 2012 Aug;3:1-21.
2. Bennetzen JL, Hake SC. Handbook of Maize: Its Biology. In: Bennetzen JL, Hake SC, editors. New York: Springer; 2009. 583 p.
3. Bernini CS, Guimarães PDS, Carlini-Garcia LA, Paterniani MEAGZ. Caracteres fisiológicos e agronômicos em progênies interpopulacionais de milho selecionadas sob condições de déficit hídrico. *Rev Bras Milho e Sorgo.* 2016;15(1):39-52.
4. Paterniani MEGAZ, Guimarães PS, Santos C, Paulo BE, Gallo B. Evaluation of secondary traits related to drought tolerance in full sib progenies of maize. *Rev Bras Milho e Sorgo.* 2015;14(1):130-44.
5. Zhao T, Sun S, Liu Y, Liu J, Liu Q, Yan Y, *et al.* Regulating the Drought-responsive Element ( DRE ) – mediated Signaling Pathway by Synergic Functions of Trans-active and Trans-inactive DRE Binding Factors in Brassica napus. *J Biol Chem.* 2006;281(16):10752-59.
6. Demirevska K, Zasheva D, Dimitrov R, Simova-Stoilova L, Stamenova M, Feller U. Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. *Acta Physiol Plant.* 2009;31:1129-38.
7. Yan W, Zhong Y, Shangguan Z. Evaluation of physiological traits of summer maize under drought stress. *Acta Agric Scand Sect B – Soil Plant Sci.* 2016;66(2):133-40. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09064710.2015.1083610>
8. Bruce WB, Edmeades GO, Barker TC. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. 2002;53(366):13-25.
9. Blum A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell and Environment.* 2016 July;8.

10. Chaves MM. Effects of Water Deficits on Carbon Assimilation. *J Exp Bot.* 2017;42(234):1-16.
11. Patakas A, Nikolaou N, Zioziou E, Radoglou K, Noitsakis B. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grape vines. 2002;163:361-67.
12. Vieira PA Jr, Dourado Neto D, Oliveira RF, Peres LEP, Martin TN, Manfron PA, *et al.* Relações entre o potencial e a temperatura da folha de plantas de milho e sorgo submetidas a estresse hídrico. *Acta Sci Agron.* 2007;29(4):555-61.
13. Liu Z, Dickmann DI. Responses of two hybrid *Populus* clones to flooding, drought, and nitrogen availability. II. Gas exchange and water relations. *Can J Bot.* 1993;71:927-38.
14. Turner NC, Jones MM. Turgor maintenance by osmotic adjustment: A Review and evaluation. In: Turner NC, Kramer JP, editors. *Adaptation on plants to water and high temperature stress.* 1st ed. New Jersey, United States: Wiley; 1980. p. 482.
15. Bolaños J, Edmeades GO. Value of selection for osmotic potential in tropical maize. *Agron J.* 1991;83:948-56.
16. Lemcoff JH, Chimenti CA, Davezac TAE. Osmotic adjustment in maize (*Zea mays* L.): changes with ontogeny and its relationship with phenotypic stability. *J Agron Crop Sci.* 1998;180:241-47.
17. Chimenti CA, Marcantonio M, Hall AJ. Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases. *F Crop Res.* 2006;95:305-15.
18. Bielecki RL, Turner A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *Anal Biochemical.* 1966;17:278-93.
19. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Biochemical.* 1956;28:350-56.

20. Van Handel E. Direct microdetermination of sucrose. *Anal Biochemical*. 1968;22:280-83.
21. Amaral LIV, Gaspar M, Costa PMF, Aidar MPM, Buckeridge MS. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea*. 2007;34:425-31.
22. Ferreira DF. Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas. Lavras: UFLA; 2000. 66 p.
23. Chaves MM, Oliveira MM. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. 2004;55(407):2365-2384.
24. Barnaby JY, Kim M, Bauchan G, Bunce J, Reddy V, Sicher RC. Drought Responses of Foliar Metabolites in Three Maize Hybrids Differing in Water Stress Tolerance. *PLoS One*. 2013;8(10):1-8.
25. Nikolaeva MK, Maevskaya SN, Voronin PY. Activities of Antioxidant and Osmoprotective Systems and Photosynthetic Gas Exchange in Maize Seedlings under Drought Conditions. *Russ J Plant Physl*. 2015;62(3):314-21.
26. Sicher RC, Barnaby JY. Impact of carbon dioxide enrichment on the responses of maize leaf transcripts and metabolites to water stress. *Physiol Plant*. 2012;144(3):238-53.
27. Dao A, Sanou J, Gracen V, Danquah EY. Heterotic relationship between INERA, CIMMYT and IITA maize inbred lines under drought and well-watered conditions. *Maydica*. 2014;59:201-10.
28. Salter PJ, Goode JE. Crop responses to water at different stages of growth. *J Ecol*. 1968;56(2):626.
29. Westgate ME, Boyer JS. Carbohydrate reserves and reproductive development at low leaf water potentials in maize. *Crop Science*. 1985;25:762-69.

30. McLaughlin JE, Boyer JS. Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. *Ann Bot.* 2004;94(1):75-86.
31. Cheng W, Taliencio EW, Chourey PS. The Miniature Seed Locus of Maize Encodes a Cell Wall Invertase Required for Normal Development of Endosperm and Maternal Cells in the Pedicel. *The Plant Cell.* 1996 June;8:971-83.
32. Tuberosa R. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Front Physiol.* 2012;3:1-26.
33. Hao B, Xue Q, Marek TH, Jessup KE, Hou X, Xu W, *et al.* Radiation-Use Efficiency, Biomass Production, and Grain Yield in Two Maize Hybrids Differing in Drought Tolerance. *J Agron Crop Sci.* 2016;202(4):269-80.
34. Edmeades GO, Bolaños J, Chapman SC, Lafitte HR, Bänziger M. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield, harvest index. *Crop Sci.* 1999;39(5):1306-15.
35. Bänziger M, Edmeades GO, Beck D, Bellon M. Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize. Mexico: From Theory to Practice, D.F.; 2000.
36. Ainsworth EA, Bush DR. Carbohydrate Export from the Leaf : A Highly Regulated Process and Target to Enhance Photosynthesis and Productivity. 2011 Jan;155:64-9.

