



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
CAMPUS BOTUCATU
BOTUCATU



MARA LÚCIA CRUZ DE SOUZA

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DO CULTIVO DE MILHO DOCE SOB
INFLUÊNCIA DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Botucatu

2018

MARA LÚCIA CRUZ DE SOUZA

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DO CULTIVO DE MILHO DOCE SOB
INFLUÊNCIA DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Dissertação apresentado à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de mestre Agronomia – Irrigação e Drenagem

Orientador: Fernando Broetto

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S729p Souza, Mara Lúcia Cruz de, 1993-
Parâmetros fisiológicos do cultivo de milho doce sob influência da deficiência hídrica / Mara Lúcia Cruz de Souza. - Botucatu: [s.n.], 2018
82 p.: fots. color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2018
Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia

1. Milho doce. 2. Produtividade agrícola. 3. Estresse vegetal. 4. Metabolismo. 5. Fotossíntese. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

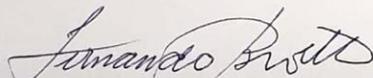
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DO CULTIVO DE MILHO DOCE SOB INFLUÊNCIA DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA”

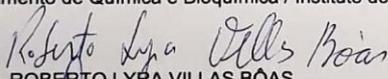
AUTORA: MARA LÚCIA CRUZ DE SOUZA

ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO

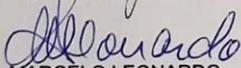
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu



Prof. Dr. MARCELO LEONARDO
Depto de Agronomia / Faculdade Sudoeste Paulista - Avaré

Botucatu, 30 de julho de 2018.

AGRADECIMENTOS

Cada conquista em minha vida dedico à Deus. Porque Dele, por meio Dele, e para Ele são todas minhas conquistas. Agradeço-Te por nunca me deixar esquecer que mesmo em meio aos desertos, é meu maior escudo. A conclusão do Mestrado é a realização de um sonho, que não foi sonhado somente por mim, mas também por toda minha família e amigos.

Desde a inscrição da seleção do mestrado até o final dessa etapa sempre senti que tinha duas pessoas, as quais se alegravam quando eu me alegrava e choravam quando eu chorava. Mesmo a quase 800 km de distância elas me mostraram que eu nunca estaria sozinha, mesmo passando três meses sem vê-los me mostraram que sempre estariam ao meu lado. Meus pais Vanderlan e Suvanê, pessoas que devo tudo na minha vida, pessoas que sempre me apoiaram e conseguiram com “jeitinho” de pai e mãe estar presentes em cada dia que fiquei longe de casa.

Cada “vídeo chamada” me faziam sentir mais perto deles, cada benção me fazia sentir abençoada para seguir os dias longe do bem mais precioso, minha família. Pai e mãe, nesse momento me faltam palavras para agradecer tudo que têm feito por mim para que eu consiga realizar todos meus sonhos. Vocês conseguiram me preencher com amor de vocês dia após dia. Meu eterno agradecimento é a vocês por serem a maior fonte de segurança e amor.

Agradeço infinitamente às minhas irmãs Suênia e Maiara, que sempre me incentivaram, me mostrando que eu tenho força e fé para vencer todas minhas batalhas. Ser irmã mais nova das duas é viver a vida toda em um conto de fadas, elas me fazem sentir a pessoa mais protegida e “mimada” da face da Terra. Cada cuidado comigo me mostra que eu posso sempre contar com alguém e que eu nunca estarei sozinha. “Manas” vocês são os melhores presentes que nossos pais poderiam me dar. Amo vocês!

Ao meu noivo João de Jesus, por estar sempre ao meu lado. Nesse um ano que passamos longe um do outro, você se mostrou a pessoa mais compreensiva e companheira, me ajudando e sempre dando um jeitinho para eu não me sentir sozinha. Obrigada por tudo que faz por mim e por nós. Te amo!

Agradeço à toda minha família que sempre me apoiaram, em especial aos meus avós Aparecida e Pedro. Obrigada por todo amor e carinho. Bom, não posso deixar de agradecer aos meus presentinhos de Deus Gabriella, Guilherme e Davi, meus sobrinhos e Luana e Isabeli. Meus olhos se enchem de água ao falar de vocês. O amor mais puro do mundo, o sorriso mais verdadeiro vem de vocês. Sempre que eu preciso de uma recarga de amor é no abraço de vocês que eu me sentia energizada. Obrigada por serem essas pessoinhas que mudaram completamente minha vida. Amo vocês do tamanho do universo!

Agradeço aos amigos e companheiros de análises Dariane, Tamiris, Cíntia Osvaldir, Ícaro, Enrique e Luz Maria. Juntos aprendemos muito e demos muitas risadas. Vocês ficarão para sempre em minhas lembranças.

Às minhas amigas Amanda Rithieli e Amanda Maria, com certeza passar esse tempo longe da minha família seria mais difícil sem vocês. Com o jeitinho de cada uma vocês me preenchiam de alguma forma. Obrigada por tudo.

Aos docentes da FCA, por todo conhecimento repassado. Agradeço por toda atenção, dedicação. Vocês fazem parte dessa vitória. Agradeço em especial meu orientador Fernando Broetto pelo apoio e dedicação.

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

Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para que esse objetivo fosse alcançado.

RESUMO

A deficiência hídrica é uma modalidade de estresse físico que afeta o desenvolvimento de diversas culturas agrícolas, causando impactos sociais e econômicos em regiões com baixa disponibilidade hídrica. Diversas pesquisas vêm trazendo como principal foco o estudo da deficiência hídrica na cultura do milho em épocas consideradas críticas a escassez hídrica. O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento fisiológico e bioquímico de plantas de milho doce sob deficiência durante o estágio vegetativo. A hipótese principal é que as plantas de milho produzirão respostas fisiológicas interativas, no sentido de minorar o impacto dos tratamentos aplicados. O experimento foi conduzido em ambiente protegido em vasos 30L, irrigados via gotejamento, sob delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial (3x3) sendo três lâminas de irrigação e três épocas de avaliação em parcelas subdivididas. Os tratamentos foram delimitados com objetivo de simular três níveis de deficiência hídrica (DH): T1 (Tratamento controle) – conduzidos dentro da faixa de umidade ótima para a cultura do milho até o final do ensaio (Tensão de 10 KPa); T2 (Deficiência hídrica moderada-DHM) – Plantas mantidas em tensão mínima de 50 KPa – e T3 (Deficiência hídrica severa-DHS) – Plantas mantidas sob tensão mínima de 70 KPa. As avaliações foram divididas em três épocas durante a imposição do estresse, visando monitorar alterações fisiológicas e bioquímicas das plantas, aos 45, 52 e 59 DAE. Cada tratamento foi composto por 4 repetições e a umidade do solo foi monitorada por tensiômetros, mantendo-se os vasos em capacidade de campo até o início dos tratamentos. Quando as plantas entraram majoritariamente em estágio V7, iniciou-se os tratamentos propostos com deficiência hídrica. Neste estágio, realizou-se a primeira coleta (E1) para análise de diferentes parâmetros, as quais consistiram no ponto inicial de avaliações. Sob DH moderada e severa houve alterações dos principais parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Os parâmetros de crescimento e biomassa de folhas, caule e raízes foram influenciados pela interação dos fatores lâmina de irrigação e época de avaliação, exceto altura das plantas. O diâmetro colmo não foi influenciado pelos fatores de estudo. As plantas apresentaram decréscimo do CRA nas três épocas avaliadas de acordo com a severidade do estresse. O teor de pigmentos sofreu interferência das épocas e lâminas de irrigação, os quais foram observados decréscimo para clorofila *a* e *b* e carotenoides. As plantas apresentaram aumento gradual de perda de eletrólitos nas épocas de avaliação, demonstrando

efeito negativo da DH nas membranas celulares. Os parâmetros de trocas gasosas foram afetados pelo nível de DH imposto às plantas. Houve decréscimo das taxas fotossintéticas (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e concentração interna de CO_2 (C_i), as quais foram proporcionais entre as variáveis analisadas. As atividades das enzimas antioxidativas (CAT, POD e SOD) aumentaram em resposta à severidade do estresse. Os teores de proteínas reduziram de acordo com as épocas de avaliação e nível de estresse e a atividade da Nitrato Redutase (NR) nas folhas reduziu nas plantas sob DH moderada e severa.

Palavras-chave: Estresse abiótico, produção de culturas, metabolismo, fotossíntese.

ABSTRACT

Water deficiency (WD) is a form of physical stress that affects the development of several agricultural crops, causing social and economic impacts in regions with low water availability. Several researches have been focusing on the study of water deficiency in maize crop in phenological stages critical to water scarcity. The aim of the present study was to evaluate the physiological and biochemical responses of sweet corn plants growing under water deficiency during the vegetative stage. The main hypothesis is that corn plants will produce interactive physiological responses, in order to reduce the impact of applied treatments. The experiment was conducted in protected environment in 30 L pots, irrigated *via* drip irrigation, under a randomized block design in a factorial scheme (3 x 3), three irrigation levels and three evaluation periods in subdivided plots. The treatments were delimited with the objective of simulating three levels of water deficiency: T1- Control (10 KPa) - conducted within the optimum humidity range for the maize crop until the end of the experiment; T2- Moderate water deficiency (50 KPa) and T3- Severe water deficiency (70 KPa). The evaluations were divided in three seasons during the imposition of stress treatments, aiming to monitor the physiological and biochemical changes of the plants at 45, 52 and 59 DAE (days after seed emergence). Each treatment was composed of 4 replicates and the soil moisture was monitored by tensiometry, maintaining the vessels in field capacity until the beginning of the treatments. When the plants entered the V7 stage, the proposed treatments with water deficiency were started. At this stage, the first collection (E1) was performed to analyze different parameters, which consisted of the initial point of evaluations. Under moderate and severe WD there were alterations of the main physiological and biochemical parameters. The growth and biomass parameters of leaves, stem and roots were influenced by the interaction of the factors of irrigation depth and time of evaluation, except for plant height. The stem diameter was not influenced by the studied factors. The plants presented a decrease of relative water content (RWC) in the three evaluated seasons according to the severity of the stress. The pigments content was influenced by irrigation times and water depths, which showed a decrease for chlorophyll *a* and *b* and also carotenoids. The plants presented a gradual increase of electrolyte loss in the evaluation periods, demonstrating the negative effect of WD on the cell membranes structures. The gas exchange parameters were affected by the level of WD imposed on the plants. There

was a decrease in photosynthetic rates (A), stomatal conductance (g_s), transpiration (E) and internal CO_2 concentration (C_i), which were proportional among the variables analyzed. The specific activities of the antioxidative enzymes (catalases, peroxidases and superoxide dismutases) increased in response to the severity of water stress. Protein contents reduced according to the evaluation and stress levels and Nitrate Reductase (NR) activity in leaves reduced in plants under moderate and severe WD.

Keywords: Abiotic stress, crop production, metabolism, photosynthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Datalogger</i> instalado no centro das parcelas experimentais, para registro de parâmetros ambientais.....	29
Figura 2 – Detalhe da incubação do solo com calcário, quando os vasos permaneceram cobertos.....	31
Figura 3 – Tensiômetro instalado próximo a zona radicular das plantas.....	33
Figura 4 - Curva de retenção de água do solo.....	34
Figura 5 – Aspecto das parcelas experimentais com plantas de milho após o processo de desbaste.....	37
Figura 6 – Plantas de milho no estágio V7 (7 folhas desenvolvidas) no início do processo de imposição de deficiência hídrica.....	38
Figura 7 – (A) Temperatura máxima e mínima do ar; (B) Umidade relativa (UR) máxima e mínima; (C) Déficit de pressão de vapor durante o período experimental.....	48
Figura 8 – (A) Altura de plantas (cm) em função tratamentos hídricos C, DHM e DHS; (B) Altura de plantas (cm) em função das épocas de avaliação em plantas de milho doce.....	50
Figura 9 – Número de folhas (unid) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....	51
Figura 10 – Área foliar (cm ²) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....	52
Figura 11 – (A) Massa de matéria fresca; (B) seca das folhas em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....	54
Figura 12 – (A) Massa de matéria fresca; (B) seca do colmo em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....	55
Figura 13 – (A) Massa fresca das raízes (g planta ⁻¹); (B) massa seca das raízes (g planta ⁻¹) e (C) Volume de raízes (cm ³) em função tratamentos hídricos em plantas de milho doce.....	57
Figura 14 - Massa seca total em função tratamentos hídricos em plantas de milho doce.....	59
Figura 15 – Conteúdo relativo de água nas folhas (%) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....	61

- Figura 16 – Perda de eletrólitos (%) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....62
- Figura 17 – (A) Clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha); (B) Clorofila b ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) e Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha); (C) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....64
- Figura 18 – (A) Fotossíntese (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (B) condutância estomática (g_s ; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (C) transpiração (E ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (D) concentração interna de CO_2 (C_i ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$), em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....67
- Figura 19 – (A) Teor de proteína solúvel total (PST); (B) atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD); (C) atividade da peroxidase (POD); (D) catalase (CAT); (E) Nitrato Redutase (NR) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização química do solo para análise de macro e micronutrientes e atributos relacionados às características químicas do solo.....	30
Tabela 2 - Caracterização física dos constituintes do solo, bem como umidade e textura.....	31
Tabela 3 - Parâmetros do modelo de Van Genuchten para o solo analisado.....	34
Tabela 4 - Resumo do delineamento experimental (fatorial 3x3) para estudo de deficiência hídrica em plantas de milho doce.....	36
Tabela 5 – Análise de variância para altura de plantas (ALT), diâmetro do colmo (DIA), número de folhas (NF) e área foliar (AF) em função de diferentes níveis de DH e épocas de avaliação.....	49
Tabela 6 – Análise de variância para massa fresca de folhas (MFF), massa seca de folhas (MSF), massa fresca do colmo (MFC) e massa seca do colmo (MSC) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação em plantas de milho doce.....	53
Tabela 7 – Análise de variância para massa fresca (MFR), massa seca (MSR) e volume das raízes (VR) em função de diferentes níveis de deficiência hídrica em plantas de milho doce.....	56
Tabela 8 - Análise de variância para área foliar específica (SLA), fração de biomassa total (LWR) e razão da área foliar (LAR) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica.....	58
Tabela 9 – Análise de variância para conteúdo relativo de água no tecido foliar (CRA), perda de eletrólitos (PE) e teor de pigmentos: clorofila <i>a</i> (Clo <i>a</i>), clorofila <i>b</i> (Clo <i>b</i>) e carotenoides (Car) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação.....	60
Tabela 10 – Análise de variância para trocas gasosas: fotossíntese (<i>A</i>), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO ₂ (<i>C_i</i>), e transpiração (<i>E</i>) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação.....	65
Tabela 11 – Análise de variância para teor de proteína (PRO), atividade das enzimas Nitrato Redutase (NR), superóxido dismutase (SOD), atividade da peroxidase (POD) e catalase (CAT) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação.....	68

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:	20
2.1	MILHO DOCE (<i>Zea mays</i> L. grupo <i>saccharata</i>).....	20
2.2	DEFICIÊNCIA HÍDRICA	21
2.3	DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA CULTURA DO MILHO	22
2.4	IMPACTOS FISIOLÓGICOS E METABÓLICOS EM PLANTAS SOB A DEFICIÊNCIA HÍDRICA	25
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	Caracterização experimental	28
3.1.1	Localização do experimento	28
3.1.2	Clima	28
3.1.4	Sistema de irrigação	31
3.1.5	Manejo da irrigação.....	32
3.1.6	Cultivar utilizada	35
3.1.7	Delineamento experimental	36
3.2	Condução do experimento e manejo da cultura	36
3.3	Épocas de avaliação	38
3.4	Parâmetros de avaliação do ensaio.....	38
3.4.1	Avaliação biométrica das plantas:	38
3.4.2	Conteúdo relativo de água (CRA).....	41
3.4.3	Perda de eletrólitos	41
3.4.4	Teor de pigmentos.....	42
3.4.5	Alterações fisiológicas.....	43
3.4.6	Análises bioquímicas.....	43
4	Resultados e Discussão	47
4.1	Condições ambientais durante o ensaio	47
4.2	Parâmetros de crescimento	48
4.2.1	Altura de plantas.....	49
4.2.2	Número de folhas.....	50
4.2.3	Área foliar.....	51
4.3	Parâmetros de biomassa	53
4.3.1	Massa fresca e seca das folhas	53
4.3.2	Biomassa fresca e seca do colmo	54
4.4	Massa seca total e Índices de crescimento	58

4.5	Conteúdo relativo de água (CRA), perda de eletrólitos e teor de pigmentos. .	59
4.5.1	Conteúdo relativo de água.....	60
4.5.2	Perda de eletrólitos.....	61
4.5.3	Teor de pigmentos.....	62
4.6	Trocas gasosas.....	64
4.7	Análises bioquímicas.....	67
5	CONCLUSÕES.....	73
	REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho se destaca entre as principais culturas produzidas no Brasil, com grande importância socioeconômica, ofertando produtos para diversos setores, como consumo humano, animal e matéria prima para as indústrias.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho comum, sendo superado por Estados Unidos e China (FAO, 2015). Segundo estimativa da Conab (2018), a produção pode chegar a 87.2 milhões de toneladas para a safra 2017/2018 apresentando um decréscimo de produção de 10,8% quando comparada com a safra 2016/2017.

O milho (*Zea mays* L.) pertence à ordem Gramineae e família Poaceae. É uma planta herbácea, monoica, pertencente ao grupo C₄, altamente eficiente na conversão de CO₂, utilização da luz e armazenamento de energia, possui ciclo bastante variado como superprecoce, precoce e normal (MAGALHÃES et al., 2002).

O setor de produção de milho doce vem crescendo nos últimos anos, porém ainda é escasso o nível de pesquisas sobre a cultura, especialmente em relação ao manejo (BORIN et al., 2010).

A maior concentração de produção da cultura em nível mundial está nos Estados Unidos, apresentando uma área plantada de 225 mil ha (USDA, 2016). O Brasil apresenta uma área de cultivo de 36 mil ha de milho doce, sendo a maior concentração da área cultivada no estado de Goiás, apresentando 90% de toda área plantada no país (LUZ et al., 2015). Segundo Cruz (2014), de toda a produção de milho doce, grande parte é destinada às indústrias de conservas.

Independente do destino final da produção de milho doce, o cultivo pode ser uma alternativa econômica para produtores e principalmente para os agricultores familiares, pois suas cotações são na maioria das vezes mais lucrativas que a produção de milho convencional (ZÁRATE et al., 2009).

Diante da grande importância econômica e social que a cultura do milho representa para o país, se torna de suma importância estudos que evidenciem as principais causas de perdas de produtividade, como pragas, doenças e perdas potenciais por DH (DH). Um dos principais fatores que altera a produção agrícola é o estresse causado pela DH. Assim, este representa aspecto que interfere no incremento do agronegócio do país, com relação direta entre manejo adequado e aptidão das culturas em tolerar o efeito desses estresses (SHAO et al., 2008).

A adaptação das plantas a estresses abióticos, como a DH, têm sido motivo de diversas pesquisas visando obtenção de novos materiais, sendo que esta tarefa nem sempre é fácil, face ao controle poligênico dessas características (LOPES et al., 2011). Os autores consideram ainda que plantas C₄, como o milho, apresentam bom controle dos efeitos da DH, considerando-se que através dessa modalidade de fixação de carbono, a cultura pode manter a fotossíntese mesmo quando os estômatos estão fechados. Entretanto, há perdas consideráveis de produtividade devido ao impacto da DH.

Por outro lado, Bergamaschi et al., (2004) afirmam que a cultura do milho apresenta grande sensibilidade à falta de água, podendo haver perdas de produção e baixa qualidade do produto, principalmente se essa DH for imposta em períodos que demandem maior quantidade de água. Durante o evento estressante, poderá haver perdas nos principais componentes de produção como, diâmetro de espiga, comprimento de espiga, número de grãos por espiga, número de grãos por fileira e índice de espiga (NASCIMENTO et al., 2017).

Sob condições de baixa disponibilidade de água no solo ou de alta demanda evaporativa, plantas de milho apresentam redução no acúmulo de matéria seca e transpiração (WU et al. 2011). Ressaltando-se ainda que, os índices de condutância estomática e concentração interna de CO₂ podem ser afetados por fatores abióticos, como DH (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Inúmeras alterações ocorrem no metabolismo de plantas mantidas sob estresses abióticos. Um ambiente estressante para as culturas, como DH, induz a diferentes eventos metabólicos que resultam na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Estes componentes celulares, caso não sejam neutralizados por vias enzimáticas podem produzir diversos impactos às estruturas celulares, incluindo a morte celular.

Segundo Kim & Kwak, (2010), danos oxidativos ocorrem nas estruturas celulares quando as plantas estão sob DH causando desequilíbrio entre a atividade antioxidante e a produção de ERO. As plantas são capazes de acionar mecanismos enzimáticos e não enzimáticos, os quais podem dismutar espécies ERO (MITTLER, 2002; KIM & KWAK, 2010), em diferentes compartimentos celulares, diminuindo o impacto causado por oxidações em nível de membranas e outras macromoléculas.

Diversos estudos apontam sensibilidade da cultura do milho mantida sob DH principalmente na fase de florescimento e maturação dos grãos. Entretanto, há poucos

estudos acadêmicos que demonstrem a capacidade de resposta das plantas a partir de alterações metabólicas aumentando sua tolerância a estes estresses.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento fisiológico e bioquímico de plantas de milho doce submetidas a diferentes lâminas de água, simulando DH moderada e severa durante o estágio vegetativo. A hipótese principal é que as plantas de milho produzirão respostas fisiológicas interativas, no sentido de minorar o impacto dos tratamentos aplicados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:

2.1 MILHO DOCE (*Zea mays* L. grupo *saccharata*)

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se destaca por ser um dos grãos mais produzidos no mundo (USDA, 2016). Em relação ao milho doce, também se verifica aumento de sua difusão e importância econômica nos últimos anos.

Os Estados Unidos são o maior produtor de milho doce (USDA, 2016), com área cultivada de 229.5 mil hectares em 2015. No Brasil a área cultivada está em torno de 36 mil hectares, com 90% dessa área situada no Estado de Goiás (LUZ, 2014).

O milho doce pode ser considerado um tipo específico do milho, decorrência de mutação genética do milho comum (BHATT et al., 2012). Segundo (ZUCHARELLI et al., 2012) essa alteração ocorre pela participação de alelos que impedem a conversão de açúcares em amido no endosperma, sendo que sua principal característica é o baixo teor de amido e alta concentração de açúcares redutores.

Silva e Karan (1994), estudando as diversidades entre o milho convencional e o milho doce observaram que o milho comum apresenta cerca de 3% de açúcares e alto teor de amido (60 a 70%). Por outro lado, o milho doce apresenta de 9 a 14% de açúcares e 30 a 35% de amido. A cultivar superdoce pode chegar a 25% de açúcares e 15 a 25% de amido.

Esta olerícola pode ser aproveitada para diversos fins, podendo ser na forma de conserva, *in natura*, desidratado e até como minimilho, quando as espigas são colhidas antes da polinização (REIS et al., 2011). O milho doce possui um alto valor nutricional, com qualidades bastante diversificadas, gosto adoçado, pericarpo fino e endosperma com textura delicada (PEREIRA FILHO et al., 2015). Suas características são indicadores na cotação de valores comerciais do produto (BARBOSA et al., 2012). Além disso, a relação entre o ponto de colheita e a umidade dos grãos, influenciam diretamente na característica e valor do produto final (LUZ et al., 2014).

O cultivo de milho no Brasil oferece aos produtores várias alternativas de renda, sendo que uma de suas maiores vantagens é o cultivo no ano todo. Além disso, os produtores podem auferir renda extra com a venda da palhada após a colheita para uso em silagem para alimentação animal (CARDOSO, 2001).

O manejo do milho doce segue os mesmos critérios do milho convencional. Em relação ao plantio, evita-se a semeadura em regiões com temperatura média diurna abaixo de 19,5°C e noturna abaixo de 13,1°C. Temperaturas acima de 35°C por

longos períodos durante o cultivo, podem causar danos à polinização, provocando o decréscimo de número de grãos por espiga (PARENTONI, 1990). O milho doce apresenta grande exigência nutricional, em função do seu desenvolvimento rápido e metabolismo intenso.

A difusão mais lenta do cultivo de milho doce no Brasil, se deve a utilização de cultivares adaptadas a clima temperado, pois há alguns anos não haviam cultivares adaptadas ao clima tropical do país, o que resultava em perdas de produtividade e baixa qualidade das espigas (FERREIRA, 2011). Para Oliveira (2010), o cultivo do híbrido simples é interessante pois apresenta uniformidade do momento de maturação, comprimento e diâmetro da espiga adequados ao mercado, coloração e tamanho dos grãos.

2.1 DEFICIÊNCIA HÍDRICA

A água é um dos elementos mais importantes na biosfera. Além de ser uma substância fundamental das células, sendo primordial para o metabolismo, exerce papel importante para a manutenção da conservação de moléculas, células, tecidos e organismos. Faz parte da composição do protoplasma e solvente universal, onde gases, minerais e outros solutos entram e se movimentam nas células (MARENCO e LOPES, 2005). Segundo Larcher (2000) a água funciona como um transportador de nutrientes da zona radicular para as plantas, funcionando como controlador térmico da planta e evitando impactos por temperaturas altas. Regula ainda o processo de trocas gasosas com a atmosfera e regula a taxa fotossintética das plantas.

Plantas cultivadas em ambientes naturais estão propensas a diversos fatores abióticos que podem acarretar determinados tipos de estresse. Para Larcher (2000), o estresse pode levar a alterações e respostas no interior dos organismos, podendo ser reversíveis no começo, ou se tornar permanente. A DH é considerada, dentre os fatores abióticos, umas das principais limitações ambientais que interfere o rendimento das produções (CHAVES e OLIVEIRA, 2004).

A DH pode ser conceituada como o teor de água de um tecido ou célula que está com níveis reduzidos da quantidade que pode ser verificado quando as células estão hidratadas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

A falta de água nas plantas é um dos estresses ambientais que mais causam danos às culturas, acarretando em grandes perdas de produtividade (NOGUEIRA et

al., 2001). Estresse por DH causa diversas modificações nas culturas como forma de sobrevivência a este meio. Entretanto a recuperação ou não das plantas é condicionada ao genótipo, duração, severidade e principalmente pela fase fenológica a qual esse estresse foi imposto (KELLING, 1995).

Uma das primeiras alterações que ocorrem nas plantas em resposta à DH é o decréscimo da turgescência, promovendo diversas modificações no processo de crescimento (LARCHER, 2006). De acordo com Taiz e Zeiger (2013), após a diminuição da turgescência celular, atividades condicionadas a ela, como expansão foliar e alongamento das raízes são as mais afetadas.

A seca como estresse abiótico é de natureza multidimensional causa impactos as plantas em diversos órgãos, seja com alterações fisiológicas e bioquímicas. Em condições de estresse hídrico ocorre a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), levando a diversos impactos negativos aos compartimentos celulares e levando a planta a morte. Como resposta as plantas reagem com sistema regulador de alterações fisiológicas, com o desenvolvimento de mecanismo antioxidativos que incluem atividade enzimática e acúmulo de compostos antioxidantes (MITTLER, 2002).

O aumento da concentração de EROs causa oxidação dos elementos celulares essenciais para as plantas. A oxidação das membranas causa alterações das mesmas, mutações prejudiciais e bloqueio de processos metabólicos primordiais à sobrevivência das plantas.

As alternativas das plantas para se desenvolver diante do estresse por DH, incluem ações de alterações fisiológicas e metabólicas, sendo diferentes em cada espécie (CHAVES et al., 2002).

Estudos sobre as alterações que ocorrem nas plantas sob DH são de suma importância para a comunidade científica e cadeias produtivas, tanto quanto os meios de adequação e de aclimatação das culturas submetidas a este estresse.

2.2 DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA CULTURA DO MILHO

A comunidade acadêmica está buscando cada vez mais pesquisas relacionadas a tolerância das plantas diante de estresses ambientais, com foco na deficiência hídrica. Uma das maiores preocupações são as adversidades climáticas que causam grandes perdas em lavouras do mundo todo.

As pesquisas apresentam como foco principal as alterações fisiológicas e metabólicas que as plantas exibem como resposta a DH. Sendo as formas de aclimação e adaptação com materiais geneticamente modificados que aparecem como hipótese de sobrevivência dos cultivos em locais com baixa precipitação.

A cultura do milho apresenta sensibilidade a baixa disponibilidade de água no solo, principalmente no período crítico, que inicia no florescimento até enchimento dos grãos. Assim, as perdas de produtividade nas safras de milho nas maiores áreas produtoras do Brasil, estão relacionadas a disponibilidade de água de cada região (HERNÁNDEZ et al., 2015).

Souza et al., (2015) explicam que, a grande variabilidade na produção de milho tem como causa principal a DH, devido ao regime de chuvas inconstantes nas diversas regiões do país, esse fato demonstra a alta exigência de água demandada pela cultura.

Vários autores estudaram a tolerância de plantas de milho em regiões com baixa disponibilidade hídrica. Lopes (2016) verificou que o cultivo de milho no semiárido brasileiro apresentou variações de produtividade da cultura nas últimas décadas, estando ligada as adversidades climáticas. Murga-Orrillo et al. (2016), analisando a cultura do milho no cerrado do Estado de Roraima afirmam que as culturas são dependentes da precipitação local, porém no período de maior precipitação pode ocorrer veranicos, ocasionando grandes perdas.

Resultados de diversos estudos indicam que a cultura é dependente da pluviosidade local, e que existe grande riscos de prejuízos. As perdas de produtividade estão relacionadas as alterações fisiológicas e metabólicas que ocorrem nas plantas. De modo que as plantas tentam se aclimatar ao ambiente estressante com diversas alterações fisiológicas, no entanto essas alterações causam grandes impactos nas mesmas.

De acordo com Padilha et. al. (2016), os primeiros sintomas em plantas de milho sob DH estão relacionados ao decréscimo de crescimento das mesmas devido a redução da turgescência celular, a qual está diretamente ligada à expansão celular.

Nascimento et al. (2017), analisaram a produtividade de espigas de milho verde sob diferentes regimes hídricos no campo experimental Embrapa Meio Norte em Teresina. Neste estudo eles observaram efeito negativo da DH sobre a altura e desenvolvimento das plantas, devido ao fechamento estomático que causa restrição

na taxa de transpiração, capacidade fotossintética, gerando impacto direto na produtividade das plantas.

Guimarães et al. (2014) analisaram diferentes mecanismos fisiológicos que as plantas apresentam sob DH. Notaram que os decréscimos da condutância estomática (g_s) durante o ensaio foram bastantes acentuadas entre os híbridos estudados. Os autores informam que, sob DH severa uma das primeiras respostas dos híbridos é o fechamento estomático, como estratégia para diminuir perda de água, promovendo decréscimo na taxa de fotossintética.

Quando as plantas são submetidas a condições de estresses, como DH, por um período prolongado, ocorre decréscimo na distribuição de fotoassimilados, promovendo a redução dos caracteres morfológicos e perdas na produtividade das culturas (MALDANER et al., 2014).

A redução no rendimento das culturas ocorre pelo fato de que as plantas não exibem reservas suficientes de fotoassimilados para manter o desenvolvimento das plantas e manter o potencial de produção. Assim as culturas são condicionadas ao suprimento de fotoassimilados advindos da fotossíntese, a qual também é influenciada pelas condições de estresses (CARON et al., 2017).

Atualmente diversas pesquisas tem analisado a identificação e desenvolvimento de híbridos de milho com maior tolerância a DH por meio do melhoramento genético, com intuito de diminuir as perdas de produtividade das culturas sob estresse hídrico (GAFFNEY et al., 2015; COOPER et al., 2014).

Pias et al. (2017) investigaram a possível hipótese que híbridos de milho respondessem de diferentes formas sob DH no Estado do Rio Grande do Sul, porém os autores concluíram que independente do híbrido as plantas não apresentaram tolerância diante do estresse hídrico. No entanto, os autores afirmam que a cultura é mais exigente de água na fase de pendramento do que no período de enchimento de grãos.

Souza et al. (2016) analisaram vários híbridos de milho sob DH no Estado de Minas Gerais, os quais encontraram maior tolerância a deficiência hídrica no híbrido DKB 390 (*Zea mays*). Os autores afirmam que a tolerância está ligada a adaptação dos híbridos quando são expostos a DH em diferentes estágios de desenvolvimento. Os autores informam ainda que genótipos de milho tolerantes apresentam maior sistema radicular, principalmente de raízes finas, e maiores proporções de aerênquima.

Plantas que conseguem se aclimatar em meio a DH possuem uma característica analisada por meio de vários genes, portanto, se torna uma tarefa peculiar para o melhoramento genético (VIÇOSI et al., 2017). Por esse motivo, têm se desenvolvido poucos híbridos com essa característica.

De modo geral, os diversos estudos em plantas de milho sob DH apresentam resultados semelhantes, mesmo utilizando híbridos, os quais resultam em perdas de produtividade. Assim, deve-se ter um controle da época de plantio em cada região do país, visando um melhor controle de zoneamento climático. As pesquisas têm voltado cada vez mais o foco de estudos para híbridos tolerantes a DH.

2.3 IMPACTOS FISIOLÓGICOS E METABÓLICOS EM PLANTAS SOB A DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Taiz e Zeiger (2013), afirmam que a água é um elemento imprescindível na agricultura, como principal agente na transformação de energia em alimento, participando em praticamente todos processos de produção de alimentos.

Qualquer alteração no conteúdo de água do solo pode gerar como consequência modificações nas plantas, causando grande impacto no desenvolvimento e rendimento final das culturas. Para Souza et al. (2015), as adversidades climáticas como a escassez hídrica é considerado o principal agente causador de perdas de produtividades nas lavouras de milho, mostrando que a cultura é bastante sensível.

As plantas podem desenvolver muitos mecanismos para minimizar os impactos causados pela DH. Larcher (2004), descreve que essas estratégias de sobrevivência à escassez hídrica, podem ser de caráter morfológico, fisiológico e anatômico.

Plantas submetidas a DH apresentam como primeira resposta o decréscimo da turgescência, ocorrendo modificações no crescimento das mesmas (LARCHER, 2006), assim a expansão foliar e alongamento das raízes que são processos condicionados a turgescência das plantas, são os processos mais afetados (TAIZ E ZEIGER, 2013).

Kron et al. (2009) ressalta que, devido a redução no turgor celular, ocorre o fechamento dos estômatos, como uma forma de diminuir a transpiração. Essas respostas fisiológicas procedem indiretamente na manutenção de água nas plantas, diminuindo as perdas por evapotranspiração.

Essas alterações que ocorrem nas plantas como resposta à DH causam diversos impactos negativos como a limitação do crescimento das mesmas, que são advindos do decréscimo do balanceamento de carbono nas folhas. Flexas et al., 2006 argumenta que esse equilíbrio de carbono é resultado da influência mútua entre a fotossíntese e a respiração. Warren et al. (2004) afirma que esse desequilíbrio de carbono nas plantas é causado, sobretudo, pelo fechamento estomático.

Diante do exposto, pode-se assumir que a turgescência das células é componente fundamental da manutenção dos principais processos de desenvolvimento das plantas (OTIENO et al., 2006). Portanto, a capacidade de as plantas manter a turgescência celular em meio à DH é através do fenômeno chamado ajustamento osmótico.

A medida que diminui a umidade do solo, o potencial matricial se torna mais negativo que o potencial hídrico das plantas, decorrente disso, as plantas não conseguem absorver água. No entanto, as plantas conseguem diminuir o potencial hídrico de maneira a não interferir diminuição da turgescência das plantas, fenômeno chamado de ajustamento osmótico (TAIZ e ZEIGER, 2013) o qual permite a preservação da abertura estomática e fotossíntese (FUNKHOUSER et al., 1994).

De modo geral, as plantas sofrem diversas modificações morfológicas e bioquímicas quando expostas a uma situação de estresse, como o desequilíbrio oxidativo, advindo da formação de espécies reativas de oxigênio (COELHO, 2013). Essas espécies reativas de oxigênio EROs degradam moléculas, proteínas e lipídeos, essenciais para sobrevivência das plantas. As plantas reagem com sistema antioxidante que incluem compostos não enzimáticos e enzimáticos (KIM & KWAK, 2010).

Serkedjieva (2011) infere que esse sistema antioxidante consegue impedir o desenvolvimento de radicais livres, sequestra-los e degradá-los, diminuindo diversos impactos negativos às células das plantas. Porém, o balanço entre formação e a degradação pode ser modificado, aumentando a concentração de EROs, promovendo o estresse oxidativo (APEL & HIRT, 2004). Cyrene et al. (2003), afirma que o equilíbrio das enzimas antioxidantes, em que suas ações bloqueiam ou diminuem dos impactos potenciais pelas EROs, é uma resposta das plantas frente a esse estresse.

Essas enzimas são essenciais para a conservação apropriada de todos organismos. Sendo elas proteínas que catalisam reações químicas e regulam quase toda a grande diversidade de reações bioquímicas que compõem a vida (KIM &

KWAK, 2010). São encontradas em vários locais das plantas e auxiliam no equilíbrio das EROs. Entre as enzimas antioxidativas, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutathione reductase (GR, EC 1.6.4.2), peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1) (DINAKAR et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização experimental

3.1.1 Localização do experimento

O experimento na fase de cultivo foi conduzido no período de outubro de 2017 a fevereiro de 2018 na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu – SP. O experimento foi organizado em ambiente protegido de 57,6m² localizada no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências-IB/UNESP, em coordenadas de 22°53'33,4" de latitude Sul e 48°29'36,5" de latitude Oeste, a 840m de altitude.

3.1.2 Clima

O clima local é classificado como temperado quente e úmido, com verão chuvoso e inverno seco, segundo classificação de Koppen. A média anual da temperatura do ar é de 20,3 °C, com precipitação pluvial anual de 1.428,4 mm (CUNHA e MARTINS, 2009).

As variáveis climáticas ambientais dentro da estufa (temperatura e umidade relativa do ar) foram registradas ao longo de todo período experimental, com auxílio de *Datalogger* (Instrutherm, HT-500, São Paulo, Brasil). O equipamento foi abrigado no centro do ambiente protegido a 1,5m do solo sendo programado registrar leituras a cada 30 minutos (Figura 1).

Figura 1 – Datalogger instalado no centro das parcelas experimentais, para registro de parâmetros ambientais.



Com os dados de temperatura e umidade relativa do ar foi possível calcular a pressão de saturação de vapor d'água no ar para a temperatura e pressão parcial de vapor de água para umidade relativa do ar (Equações 1 e 2). Posteriormente, determinou-se o déficit de pressão de vapor (DPV) (Equação 3), em que a diferença entre esses parâmetros descreve a capacidade de absorção de água do ar segundo Alvarenga et al. (2014).

$$e_s = 0,6107 * 10^{(7,5*T)/(237,3+T)} \quad (1)$$

Onde:

e_s - Pressão de saturação de vapor de água no ar (kPa);

T = Temperatura do ar (°C).

$$e_a = e_s * UR \quad (2)$$

Onde:

ea - Pressão parcial de vapor de água (kPa);

es - Pressão de saturação do vapor de água no ar (kPa)

UR - Umidade relativa do ar (decimal).

$$DPV = es - ea \quad (3)$$

Onde:

es - Pressão de saturação do vapor de água no ar (kPa)

ea - Pressão parcial de vapor de água (kPa)

DPV - Déficit de pressão de vapor de água no ar (kPa);

3.1.3 Solo

O solo utilizado foi coletado na Fazenda Experimental São Manuel (FCA/UNESP). No local, foram coletadas amostras na profundidade de 0,20m para posterior análise física e química, no Dep. de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP. O resultado da análise está sumarizado nas tabelas 1 e 2.

Com base nos resultados da análise do solo, foi calculado a necessidade de calcário dolomítico para elevar a saturação de bases (V) a 70% bem como a adubação de plantio e de cobertura, de acordo com recomendação de Raij et al. (1996), para a cultura do milho.

Tabela 1 - Caracterização química do solo para análise de macro e micronutrientes e atributos relacionados às características químicas do solo

pH	MO	P	S	Al ⁺³	H+Al ⁺³	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
	<i>g dm⁻³</i>	<i>mg dm⁻³</i>		----- <i>mmolc dm⁻³</i> -----							
4,4	7	3	16	6	23	0,34	6	3	10	33	30
	Fe	Cu	Mn	Zn	B						
	<i>mg dm³</i>										
	6	0,6	1,6	0,2	0,20						

Tabela 2 - Caracterização física dos constituintes do solo, bem como umidade e textura

Areia	Argila	Silte	Textura
-----g kg ⁻¹ -----			
774	177	49	Média

De acordo com os resultados da análise, calculou-se a quantidade de nutrientes necessários para o ciclo da cultura do milho doce. Assim foi aplicado 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio, 110 kg ha⁻¹ de fósforo (P₂O₅), 50 kg ha⁻¹ de potássio (K₂O). Para os micronutrientes, 4 kg ha⁻¹ de zinco e 40 hg ha⁻¹ de enxofre, utilizando as seguintes fontes respectivamente: ureia (45% de N), super fosfato simples (18% de P e 8% de S), cloreto de potássio (60% de K₂O) e sulfato de zinco (20% de Zn e 9% de S). Foi realizada duas adubações de cobertura, as quais foram aplicadas 80 e 70 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente e 30 kg ha⁻¹ de K₂O na primeira adubação de cobertura. Para elevar a saturação de bases (V%) a 70% foi aplicado 1,88 t ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT – 70). A calagem foi realizada 45 dias antes da semeadura, mantendo-se os vasos umedecidos e cobertos com plástico visando favorecer a reação do corretivo (Figura 2).

Figura 2 – Detalhe da incubação do solo com calcário, quando os vasos permaneceram cobertos.



Fonte: Mara Lúcia C. de Souza

3.1.4 Sistema de irrigação

O sistema de irrigação utilizado foi por gotejamento composto por gotejadores autocompensante espaçados a 0,40 m com vazão média de 2,4 L h⁻¹ conectado a distribuidores com 2 saídas para um gotejador tipo flecha de 1,2 L h⁻¹ por vaso com pressão de serviço de 10 mca.

O sistema foi constituído por linha principal de PVC, registros e linhas de derivação com mangueiras de polietileno de 13 mm espaçadas a 0,40 m.

Após a instalação do sistema, realizou-se teste de uniformidade de distribuição de água pelo Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (CUC), conforme Equação 4.

$$CUC = \left[\frac{\sum_{i=1}^N X_i - X_m}{N * X_m} \right] \quad (4)$$

Onde:

CUC - Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (%);

X_i- lâmina de água aplicada no i-ésimo ponto;

X_m- Lâmina média aplicada;

N – Número de coletores.

3.1.5 Manejo da irrigação

A irrigação foi manejada via Tensiometria. Os tensiômetros foram instalados a 10 cm da planta e o centro da cápsula estava a 20 cm de profundidade (Figura 3), com quatro tensiômetros por tratamento, totalizando 12 pontos de monitoramento da tensão de água no solo, considerando-se as três lâminas de água estudadas. As leituras foram realizadas diariamente com auxílio de tensímetro digital.

Figura 3 – Tensiômetro instalado próximo a zona radicular das plantas.



Determinou-se as tensões de água correspondentes às lâminas utilizadas no experimento por meio da curva característica de retenção de água do solo. Esta curva foi determinada no Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Unesp – Botucatu. Assim, foram coletadas amostras indeformadas de solo na profundidade de 0 – 0,20m as quais foram submetidas ao método da câmara de pressão de Richards. Assim, determinou-se o conteúdo de água no solo para os pontos correspondentes a 10, 30, 50, 100, 300, 500 e 1500 kPa. Os pontos foram modelados no software SWRC v. 3.0 conforme Dourado Neto et al. (1995). Nesta modelagem, gerou-se os parâmetros de α , n , m , θ_r e θ_s (Tabela 3). Depois, a curva de retenção (Figura 4) foi ajustada pelo modelo proposto por Van Genuchten (1980), conforme equação (5).

$$\theta = \theta_r + \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (|\psi_m| * \alpha)^n]^m} \quad (5)$$

Onde:

θ - teor de água atual à base de volume ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);

θ_r - teor de água residual ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);

θ_s - teor de água de saturação ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$);

Ψ_m - potencial de água no solo (kPa);

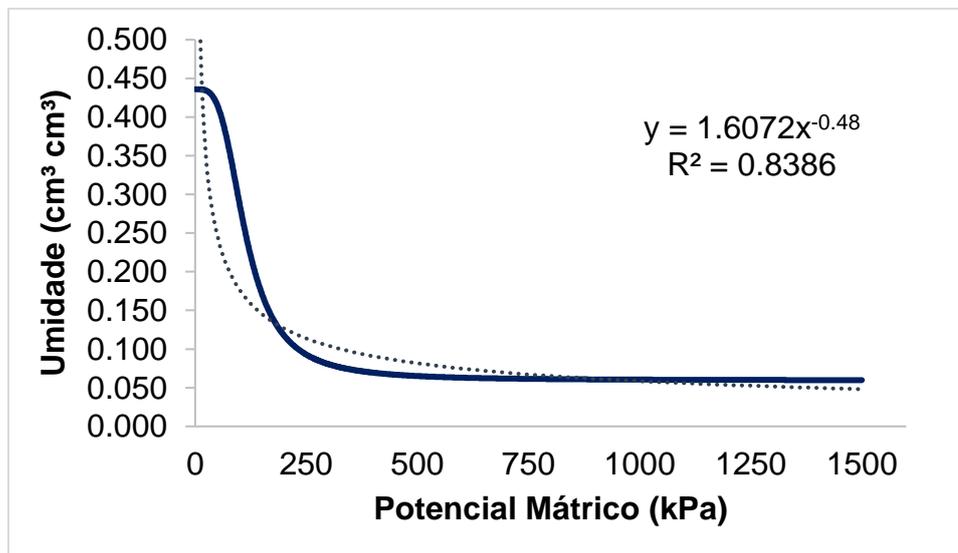
α - parâmetro de ajuste (cm^{-1});

m e n - parâmetros empíricos do modelo matemático.

Tabela 3 - Parâmetros do modelo de Van Genuchten para o solo analisado

Camada (m)	θ_r ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$)	θ_s ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$)	α (cm^{-1})	M	N
0,20	0,059563	0,43599	0,0099992	0,723612	3,6181

Figura 4 - Curva de retenção de água do solo.



A curva de retenção de água no solo representa a relação entre a quantidade de água (massa ou volume) e o potencial matricial da água no solo. Com a leitura do tensímetro foi possível obter indiretamente a umidade atual de água no solo, com objetivo de tomada de decisão em relação ao volume a ser aplicado. As leituras foram realizadas as nove horas da manhã, em seguida as irrigações eram realizadas de acordo com a necessidade.

Para o cálculo da lâmina líquida foi utilizada a equação 6:

$$LL = [(\theta_c - \theta_a)/10] \times Z \quad (6)$$

Onde:

LL – Lâmina líquida de irrigação (mm);

- θ_a - teor de água volumétrico atual ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$);
 θ_c - teor de água volumétrico no ponto crítico ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$);
 Z - profundidade efetiva do sistema radicular (mm).

A lâmina bruta de irrigação (mm) foi determinada com a utilização da Equação 7 e determinou-se o tempo de irrigação (em minutos) para determinado tratamento foi calculado utilizando-se a Equação 8.

$$La = LL/Ef \quad (7)$$

Onde:

- La - lâmina bruta aplicada (mm);
 Ef - eficiência de irrigação.

$$Ti = \left[\frac{La \times A}{n \times q} \right] \times 60 \quad (8)$$

Onde:

- Ti – tempo de irrigação (minuto);
 La – Lâmina bruta aplicada (mm);
 A – Área ocupada por planta (m^2);
 n – Número de emissores;
 q – Vazão do gotejador ($1,2 \text{ L h}^{-1}$);

O ponto de murcha (PMP) foi considerado máximo a uma tensão de 75 kPa mínima capacidade de campo (CC) de 10 kPa para a profundidade (z) de 30cm, para determinar a lâmina de irrigação.

3.1.6 Cultivar utilizada

A cultivar de milho doce utilizada foi Super doce (Isla Sementes), tipo Havaí, ideal para consumo *in natura* e processamento vegetal, com um ciclo de 90 a 110 dias, dependendo principalmente da época de plantio e clima.

3.1.7 Delineamento experimental

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizados em esquema fatorial (3x3) sendo três lâminas de irrigação e três épocas de avaliação. Os vasos foram organizados em parcelas subdivididas, entre lâminas de irrigação e épocas de avaliação. Os tratamentos foram delimitados com objetivo de simular três níveis de deficiência hídrica como T1 – mantidos a uma tensão de 10 KPa) - Tratamento controle; T2 – Mantidos em uma tensão mínima de 50KPa – Deficiência hídrica moderada (DHM) e T3 – Mantidos em uma tensão mínima de 70Kpa - Deficiência hídrica severa (DHS). Os tratamentos propostos tiveram quatro repetições, distribuídos em 8 vasos por cada repetição, totalizando 96 vasos (Tabela 4).

Tabela 4 – Resumo do delineamento experimental (fatorial 3x3) para estudo de deficiência hídrica em plantas de milho doce

Tratamentos	Épocas de avaliação		
	E1 (Coleta1) 45 DAE - IDH	E2 (Coleta2) 52 DAE – 7 DIDH	E3 (Coleta1) 59 DAE – 14 DIDH
T1 Controle	T1xE1	T1xE2	T1xE3
T2 DH Moderada	T2xE1	T2xE2	T2xE3
T3 DH Severa	T3XE1	T3xE2	T3xE3

DAE – Dias após emergência; IDH – início dos tratamentos com DH; DIDH – Dias após início da deficiência hídrica.

3.2 Condução do experimento e manejo da cultura

A semeadura foi realizada em vasos com capacidade para 30 L, no dia 24 de outubro de 2017, com três sementes por vaso. Foi realizado adubação de plantio nas quantidades recomendadas para cultura do milho. Após 5 dias da semeadura, as plantas começaram a emergir e quando estavam com três folhas expandidas, no dia 9 de novembro, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas uma planta por vaso (Figura 5).

Figura 5 – Aspecto das parcelas experimentais com plantas de milho após o processo de desbaste.



As plantas foram mantidas irrigadas em capacidade de campo até o estágio V7 (fase fenológica que indica a presença de sete folhas expandidas), quando se iniciaram os tratamentos propostos.

Quando as plantas entraram no estágio V4 e V6 foi realizada adubação de cobertura com fonte de N (ureia), sendo adubados 80 kg ha^{-1} e 70 Kg ha^{-1} , respectivamente e na primeira adubação de cobertura foram aplicados 30 kg ha^{-1} de K_2O (cloreto de potássio). Também foi realizada adubação corretiva com fósforo (super fosfato simples), pois as plantas apresentaram sintomas típicos de deficiência do elemento, exibindo as margens foliares, as nervuras e os caules com tons roxeados.

No estágio posterior (V6-V7), foi realizada aplicação de inseticida (Tracer – 100 mL ha^{-1}), para controlar infestação de lagarta do cartucho.

Quando as plantas entraram majoritariamente em estágio V7 (Figura 6), iniciou-se os tratamentos propostos com deficiência hídrica. Neste estágio, realizou-se coleta para análise de diferentes parâmetros, as quais consistiram no ponto inicial de avaliações.

Figura 6 – Plantas de milho no estágio V7 (7 folhas desenvolvidas) no início do processo de imposição de deficiência hídrica



3.3 Épocas de avaliação

Quando as plantas entraram no estágio V7, foi realizada a programação das épocas de coletas para análises. A primeira época de coleta foi aos 45 DAE (13/12/2017) quando as plantas estavam no estágio V7, antes do início dos tratamentos. A segunda coleta foi aos 52 DAE (20/12/2017) quando as plantas estavam no estágio V9, após 7 dias do início dos tratamentos. A terceira foi realizada aos 57 DAE (27/12/2017) quando as plantas estavam no estágio V11, após 14 dias do início dos tratamentos. As análises de trocas gasosas programadas para o dia anterior de cada época de coleta.

3.4 Parâmetros de avaliação do ensaio

3.4.1 Avaliação biométrica das plantas:

3.4.1.1 Altura das plantas

As medidas de altura das plantas foram realizadas medindo-se a extensão da superfície do solo até o ápice da planta (cm) com auxílio de uma trena.

3.4.1.2 Diâmetro do colmo

O diâmetro foi medido no primeiro entrenó com um paquímetro digital (mm).

3.4.1.3 Massa de matéria fresca e seca (colmo, folha e raiz)

A matéria fresca e seca do colmo e das folhas (g) foram feitas em todas as épocas de coleta. Para a matéria fresca e seca de raízes (g), as análises foram realizadas apenas ao final do experimento. As folhas e colmos foram pesados assim que as plantas foram coletadas para determinação da matéria fresca. Já a massa de matéria seca foi realizada após a secagem do material em estufa com circulação de ar forçado a $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$ até que atingissem massa constante. A massa seca total foi calculada apenas para última época de avaliação.

3.4.1.4 Volume das raízes

Ao término do ensaio as raízes foram lavadas sobre peneiras para posterior determinação do volume das raízes. Em seguida as raízes foram imersas álcool etílico (70%) em uma proveta de 2 L contendo 1 L de álcool. Sendo o volume das raízes o volume deslocado.

3.4.1.5 Área Foliar

A área foliar ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$) foi determinada com a todas as folhas de cada. A integração da área foi realizada com auxílio do equipamento LiCOR (mod. Li-3000).

3.4.1.6 Número de folhas

Para determinação do número de folhas foram retiradas todas as folhas expandidas funcionais e contadas.

3.4.1.7 Índice de crescimento

A determinação dos índices de crescimento foi baseada nos parâmetros de biomassa vegetal das folhas, colmo e raízes e área foliar. Com estes parâmetros é possível avaliar frações de biomassa investidos em determinadas partes da planta. A

partir da determinação dos parâmetros de crescimento e biomassa vegetal, foram determinados os seguintes índices de crescimento, seguindo metodologia de Hunt (1982). Os índices foram analisados apenas na última época de avaliação, podendo ser influenciados apenas pelo fator lâmina de irrigação.

- SLA – (*Specific Leaf Area*) área foliar específica - que indica a relação entre a área foliar (AF) e a massa seca foliar (MSF), utilizando equação 9:

$$SLA = \frac{AF}{MSF} \quad (9)$$

Onde:

SLA – área foliar específica ($m^2 g^{-1}$);

AF – área foliar (cm^2);

MSF -massa seca das folhas (g).

- LWR (*Leaf Weight Ratio* é a relação inversa de SLA) que informa a fração da biomassa total alocada nas folhas, podendo ser calculada conforme a Equação 10:

$$LWR = \frac{MSF}{MST} \quad (10)$$

Onde:

LWR – fração da biomassa total alocada nas folhas ($g_{MSF} g^{-1}_{MST}$);

MSF -massa seca das folhas (g);

MST -massa seca total da planta (g).

- LAR (*Leaf Area Ratio* é a relação da superfície foliar) que reflete no tamanho da superfície fotossintética em relação a massa respiratória de acordo com a Equação 11:

$$LAR = \frac{AF}{MST} \quad (11)$$

Onde:

LAR - relação da superfície foliar;

AF – área foliar (cm^2);

MST -massa seca total da planta (g).

3.4.2 Conteúdo relativo de água (CRA)

O CRA foi determinado através da relação da massa do tecido vegetal fresco (MF), túrgido (MT) e seco (MS). As folhas foram coletadas as 8 horas das quais retiraram-se três discos foliares (0,69 cm² cada). Os discos foram pesados (MF) e mantidos em água destilada para determinação da massa do tecido túrgido (MT), após seis horas de incubação. Em seguida, os discos foram mantidos em estufa com circulação de ar forçado a 80 ± 5 °C por 24 h com pesagem posterior para determinação da massa seca (MS). O CRA foi determinado pela equação 12, seguindo metodologia de Barr et al. (1962):

$$CRA = [(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100 \quad (12)$$

Onde:

CRA – conteúdo relativo de água (%);

MF – massa fresca dos discos foliares;

MT - massa túrgida dos discos foliares;

MS - massa seca dos discos foliares.

3.4.3 Perda de eletrólitos

Esta análise verifica modificações que podem ocorrer na permeabilidade de membranas celulares, devido aos tratamentos. As folhas foram coletadas as 8 horas e foram retiradas 30 discos foliares de 2 mm de diâmetro. Os discos foram então incubados em solução de manitol (0.3 M). Os frascos foram mantidos sob agitação por 24 h, sendo que ao final dessa incubação, foi feita a primeira medida da condutividade elétrica (L1). Em seguida, os frascos foram pesados e mantidos sob fervura por 10 minutos. Após o resfriamento, os frascos foram novamente pesados, quando se repôs a diferença de volume evaporado, com água destilada. Em seguida os tubos foram mantidos por 30 minutos sob agitação e por fim foi realizada a segunda leitura de condutividade elétrica (L2). A perda de eletrólitos foi determinada por meio da equação 13, utilizando-se metodologia descrita por Lafuente et al. (1991).

$$PE(\%) = (L1/L2) \times 100 \quad (13)$$

Onde:

PE – perda de eletrólitos (%);

L1 – primeira leitura da condutividade elétrica da solução;

L2 – segunda leitura da condutividade elétrica da solução.

3.4.4 Teor de pigmentos

Para a extração do teor de pigmentos, foram utilizados discos foliares frescos com 0,69 cm² de diâmetro. Os discos foram mantidos em tubos de ensaio contendo 1 mL de dimetilformamida (DMF) por 24 h no escuro. Após a incubação, foi determinada a densidade ótica (D.O.) da solução contendo os pigmentos, nos comprimentos de onda 480 (A); 646,8 (B) e 663,8 (C) nm. O teor da clorofila *a* e *b* bem como *de* carotenoides foi determinado a partir das equações 14, 15 e 16, descritas por Lee et al., (1987).

$$CloA = (12 \times C) - (3,11 \times B) \quad (14)$$

Onde:

CloA – Clorofila *a*;

C – Leitura da amostra a 663,8nm;

B - Leitura da amostra a 646,8nm;

$$CloB = (20,78 \times C) - (4,88 \times B) \quad (15)$$

Onde:

CloB - Clorofila *b*;

C – Leitura da amostra a 663,8nm;

B - Leitura da amostra a 646,8nm.

$$CarT = \left(\frac{(1000 \times A) - (1,12 \times cloA) - (34,07 \times CloB)}{245} \right) \quad (16)$$

Onde:

CarT – carotenoides totais;

A - Leitura da amostra a 480nm;

CloA – Clorofila a;

CloB - Clorofila b.

3.4.5 Alterações fisiológicas

Para cada análise de trocas gasosas foram selecionadas 6 plantas por tratamento. Com as leituras foi possível avaliar os seguintes parâmetros: fotossíntese (A); concentração interna de CO₂ (C_i); condutância estomática ao vapor de água (g_s); e taxa transpiratória (E).

As leituras foram realizadas entre as 9 e 11 horas, com auxílio de um sistema fechado, o qual permite registrar as trocas gasosas composto por um analisador infravermelho de gases (IRGA) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA).

As variáveis microclimáticas da câmara foram conservadas constantes durante as medições realizadas em todos os tratamentos, utilizando 2000 μmol de fótons m⁻² s⁻¹ de PAR (*photosynthetic active radiation*-radiação fotosinteticamente ativa) e umidade relativa entre 50 e 60%.

3.4.6 Análises bioquímicas

3.4.6.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

As amostras foliares foram coletadas no período entre 8 e 9 horas da manhã. No momento da coleta as folhas foram imediatamente acondicionadas em envelopes de papel alumínio e imersos em nitrogênio líquido para congelamento rápido. Em seguida, o material foi transferido para *freezer* a – 80 °C, até o momento da realização das análises.

3.4.6.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto

As amostras foram trituradas em nitrogênio líquido até ficarem com uma textura de pó. Após esse procedimento as amostras foram transferidas para tubos *Falcon* e novamente armazenadas em *freezer* -80°C.

O extrato para as análises da concentração de proteínas e atividade enzimáticas (Superóxido dismutases – SOD; Catalases - CAT e Peroxidases- POD) foi obtido pela ressuspensão do material vegetal (300 mg) em 4,0 mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 7,8 suplementado com 300 mg de PVPP (*Polyvinylpolypyrrolidone*). Após centrifugação por 10 minutos a 5.000 x g, o sobrenadante foi coletado, transferidos para *ependorf* e armazenado em *freezer* a - 80° C.

A enzima nitrato redutase foi analisada e folhas coletadas imediatamente anterior à análise, após quatro horas de fotoperíodo.

3.4.6.3 Teor de proteína solúvel total

O teor de proteína solúvel presente nos extratos foi determinado conforme metodologia de Bradford (1976). Utilizou 80µL do extrato bruto + 20µL de água deionizada + 5 mL do reativo de Bradford, solução mantida por 15 minutos para formação do complexo de cor. Em seguida as leituras foram realizadas em espectrofotômetro utilizando o comprimento de onda de 595nm.

3.4.6.4 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD, E.C 1.15.1.1)

A determinação da atividade da SOD foi determinada seguindo metodologia descrita por Del Longo et al. (1993). A reação foi conduzida em placas ELISA contendo 50 µL de extrato bruto + 2.950µL de solução contendo 13 mM de metionina, 75 µM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 µM de riboflavina em 120 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7.8. Deu-se início à reação após as placas serem iluminadas sob suporte contendo tubos fluorescentes (15 W) a uma altura de 30 cm e 25 °C. Após 5 minutos de incubação, a reação foi determinada pela interrupção da luz.

A detecção da enzima é feita em função da prevenção da fotoredução do NBT na presença de SOD. A análise quantitativa foi realizada a partir da leitura da D.O. do complexo azul formado (Formazana) a 560 nm. Os tubos considerados “em branco”, necessário para zerar o espectrofotômetro receberam 3 mL para a análise, sendo compostos pelos mesmos reagentes, no entanto foram mantidos cobertos com papel

alumínio. Uma unidade de SOD é conceituada como a quantidade de enzima suficiente para a inibição de 50 % da fotoredução do NBT. O cálculo da atividade da enzima utiliza a percentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

3.4.6.5 Atividade da enzima Catalase (CAT, E.C 1.11.1.6)

A atividade da enzima catalase foi determinada através da metodologia descrita por Peixoto et al. (1999), pelo monitoramento da absorção de peróxido de Hidrogênio (substrato da enzima), considerando intervalo de absorção de 8 a 40 segundos.

A atividade da CAT foi analisada utilizando-se 100 μL de extrato bruto adicionados a 1900 μL de um tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12.5 mM. A atividade da enzima foi calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da catalase, leva em consideração a concentração de proteína solúvel.

3.4.6.6 Atividade da enzima Peroxidase (POD, EC 1.11.1.7)

A atividade da enzima peroxidase foi determinada utilizando 100 μL de extrato bruto e adicionados a 4,9 mL de solução tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8 contendo 20 mM de Pyrogallol e 20 mM H_2O_2 . Após incubação por 1 minuto, a reação foi paralisada com 0,5 mL de H_2SO_4 e a leitura foi realizada a 420 nm em espectrofotômetro. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da enzima foi calculada usando-se coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (PEIXOTO et al., 1999).

3.4.6.7 Atividade da enzima Nitrato Redutase

Para determinação da enzima nitrato redutase, coletou-se folhas das plantas de milho às 9 horas da manhã, respeitando-se um fotoperíodo mínimo de duas horas. Para a realização da análise enzimática, foram cortadas 150 mg de tecido foliar, as quais foram acondicionadas em tubos juntamente com 5 mL da solução de extração, composta por tampão fosfato (KH_2PO_4 0,1 M; pH 7,5), KNO_3 (0,1M), e n-propanol (3% v/v).

Os tubos foram incubados a vácuo em 3 ciclos de 2 minutos cada, com intervalo de um minuto. Após a incubação a vácuo, os tubos foram mantidos no escuro, sob agitação e em banho-maria a 30°C por 1 hora. Em seguida foram transferidos 1 mL da solução para outro tubo e acrescentou-se 1 mL de sulfanilamida 1% e 1 mL de N-naftil-etilenodiamino 0,02%. Na sequência, os tubos foram incubados novamente sob agitação, no escuro e em banho-maria a 30°C por 15 minutos. No final da incubação a detecção da formação de nitrito foi realizada por leitura em espectrofotômetro, a 540nm. Com resultados e a partir de uma curva padrão de nitrito (0-250 nM), calculou-se a atividade da NR, conforme descrito por JAWORSKI (1971). A atividade da nitrato redutase na MF foliar utiliza a unidade final em $\text{nM NO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

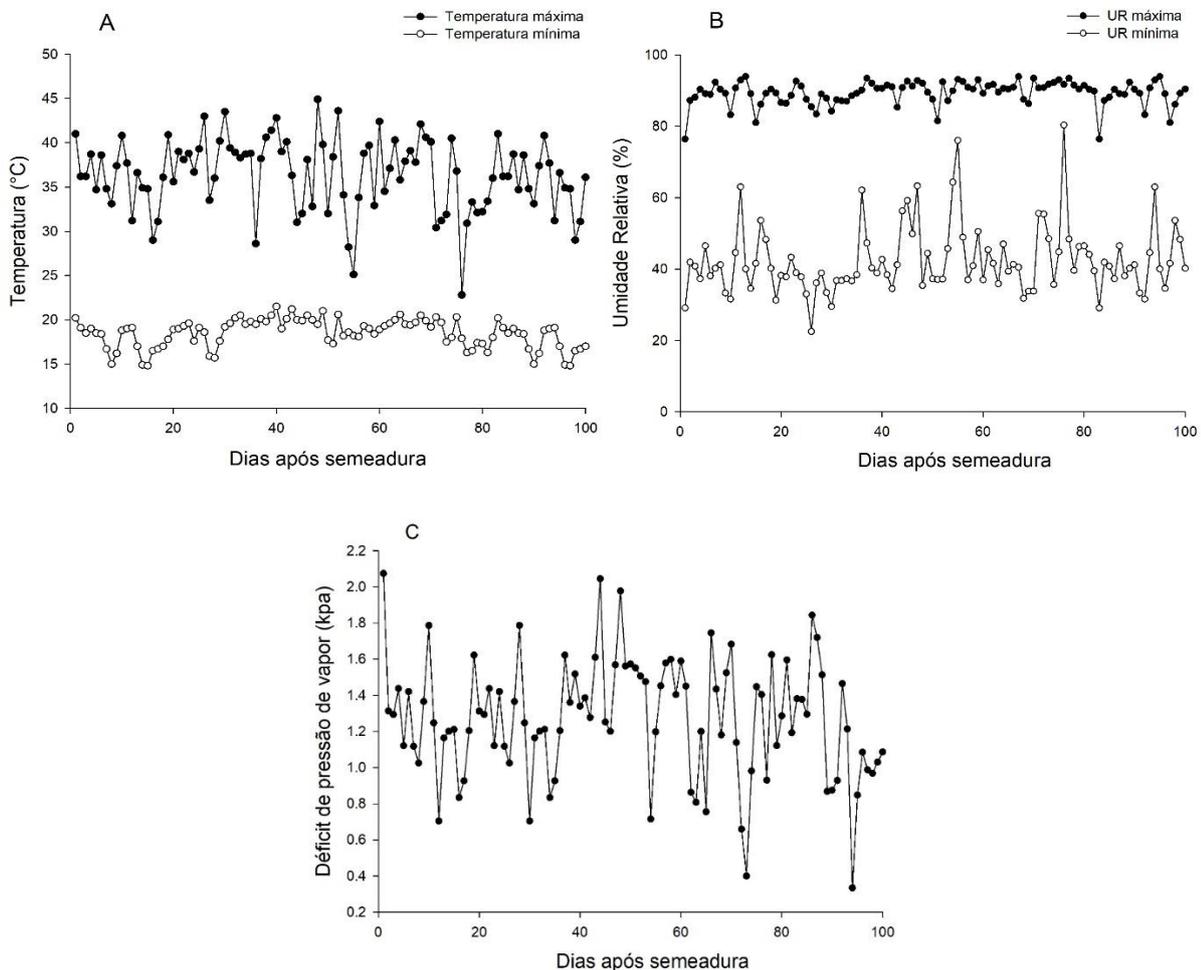
4 Resultados e Discussão

4.1 Condições ambientais durante o ensaio

As condições ambientais registradas durante o experimento variaram de 22,8 a 44,9 °C para temperatura máxima do ar e a temperatura mínima variou de 14,8 a 22,8 °C. A temperatura média do ar dentro do ambiente protegido foi 27,30°C (Figura 8A). A umidade relativa máxima do ar apresentou variação de 76,4 a 93,9%, enquanto a umidade relativa mínima variou de 22,5 a 80,3% (Figura 8B), apresentado média de 66%.

O déficit de pressão de vapor (DPV) variou de 0,33 a 2,07 kPa, apresentando uma média de 1,39 kPa. Os menores valores de DPV ocorreram devido o aumento da umidade relativa do ar e o conseqüente decréscimo de temperatura (Figura 8C). O DPV é uma medida do poder evaporante do ar, tendo relação direta com os processos de evaporação, uma vez que depende do gradiente de pressão de vapor entre a superfície evaporante e o ar (VIEIRA, 2009). O aumento do déficit de pressão de vapor quando a planta se encontra sob estresse hídrico, reduz o fluxo de vapor d'água do interior da câmara subestomática para a atmosfera, causando depressão na transpiração (Thomas et al. 2000).

Figura 7 – (A) Temperatura máxima e mínima do ar; (B) Umidade relativa (UR) máxima e mínima; (C) Déficit de pressão de vapor durante o período experimental.



4.2 Parâmetros de crescimento

Plantas de milho doce foram submetidas a diferentes lâminas de irrigação para avaliar os impactos da deficiência hídrica (DH) sobre parâmetros fisiológicos. Conforme conhecimento corrente descrito na Revisão de Literatura, a água ou a falta desse recurso exercem efeito preponderante sobre os parâmetros de crescimento. No presente ensaio, e conforme resumido na análise de variância (Tabela 5), as lâminas de irrigação e épocas de avaliação afetaram parâmetros de crescimento tais como altura de plantas, número de folhas e área foliar os quais serão discutidos a partir do item 1.1.1. Houve interação entre os fatores apenas para número de folhas e área

foliar. Para o diâmetro do colmo (DIA) observou-se que os fatores exerceram influência e não houve interação entre eles.

Tabela 5 – Análise de variância para altura de plantas (ALT), diâmetro do colmo (DIA), número de folhas (NF) e área foliar (AF) em função de diferentes níveis de DH e épocas de avaliação em plantas de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado			
		ALT	DIA	NF	AF
Blocos	3	0.0623	0.2697	0.1231	0.5581
LAM	2	0.0051**	0.3404 ^{ns}	0.0034**	0.0006**
RES (A)	6	-	-	-	-
EPO	2	0.0000**	0.5978 ^{ns}	0.0010**	0.0000**
LAM*EPO	4	0.1518 ^{ns}	0.6177 ^{ns}	0.0072**	0.0022**
Res (B)	18	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-
CV (%) Parcela		5.84	8.98	8.23	7.10
CV (%) Subparcela		7.50	11.45	9.22	9.95

^{ns}: não significativo ** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação; EPO: Época de avaliação.

4.2.1 Altura de plantas

Observou-se (Figura 8A), que plantas do controle obtiveram os melhores resultados para altura de plantas. A ALT foi influenciada negativamente pela DHM e DHS (DHM e DHS), os quais apresentaram os menores valores não havendo diferença significativa entre estes tratamentos.

Para as épocas de avaliação (Figura 8B) as plantas atingiram maiores valores de ALT na terceira avaliação, com acréscimo de 23% em relação à primeira leitura (E1), com diferença entre as três épocas avaliadas.

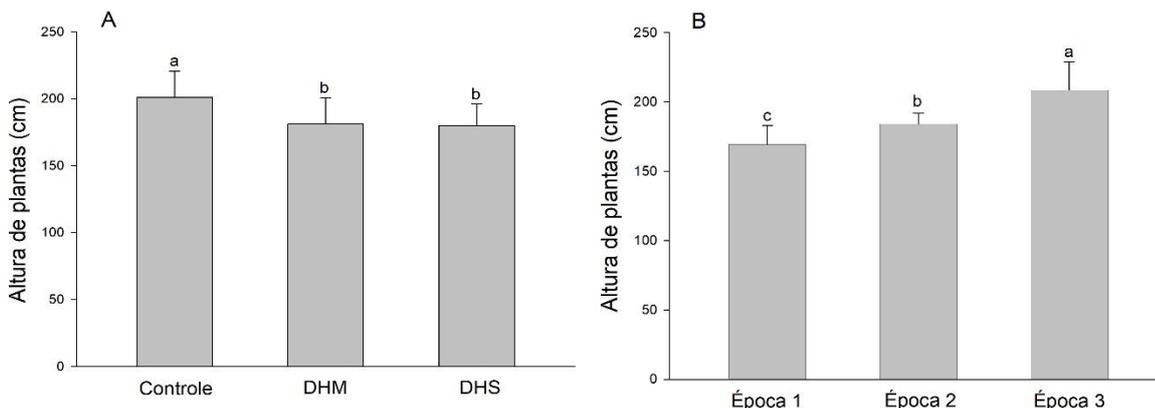
Almeida et al. (2017), trabalhando com diferentes lâminas de irrigação obtiveram resultados semelhantes aos obtidos no presente ensaio, com menores valores de ALT quando submetidas às menores lâminas de irrigação.

Padilha et. al. (2016), enfatizam que os primeiros sintomas da DH nas plantas estão relacionados ao decréscimo de crescimento devido a redução da turgescência celular, a qual está diretamente ligada à expansão celular.

Segundo Nascimento et al. (2017), o parâmetro ALT pode ser influenciado pela densidade de plantio ou pela escassez hídrica. A imposição de DHS causa várias alterações fisiológicas nas plantas, como fechamento estomático, decréscimo da

transpiração e da fotossíntese, diminuindo por consequência o crescimento das plantas.

Figura 8 – (A) Altura de plantas (cm) em função tratamentos hídricos C, DHM e DHS; (B) Altura de plantas (cm) em função das épocas de avaliação em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, com base no teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

4.2.2 Número de folhas

O número de folhas foi influenciado pela interação entre os fatores lâmina de irrigação e época de avaliação, como pode ser observado na Figura 9. Os maiores valores para a variável foram encontrados nas plantas submetidas ao tratamento controle observados nas três épocas de avaliação.

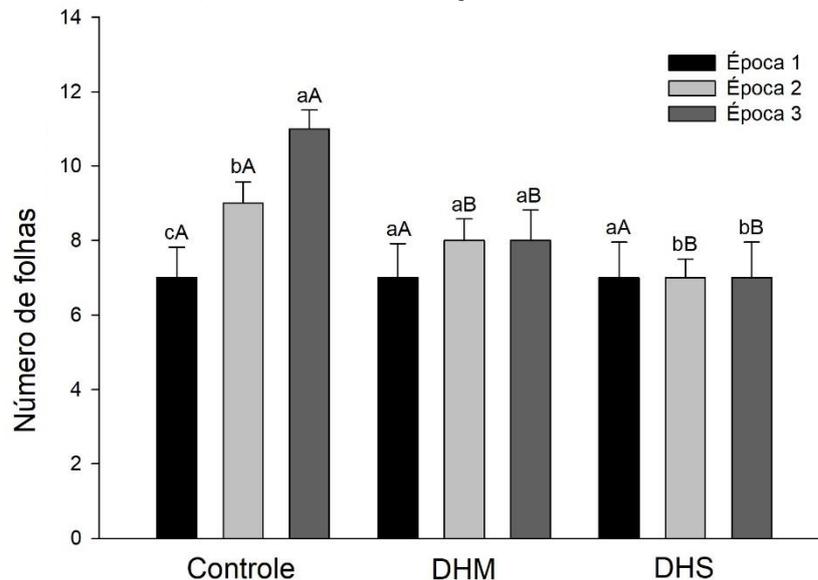
Analisando-se as lâminas de irrigação, não houve diferença entre as mesmas na primeira época de avaliação (E1). Para DHM e DHS as plantas apresentaram resultados similares na segunda e terceira época de avaliação, não havendo diferença significativa entre as duas lâminas.

As três épocas avaliadas não influenciaram nos resultados de número de folhas no tratamento sob DHM, apresentando variação de 8 a 9 folhas. No entanto, sob DHS houve decréscimo de 14% na terceira época de avaliação em relação a primeira época. Não foi observado diferença entre a segunda e a terceira época analisada.

Bonfim-Silva et al. (2011) avaliando gramíneas submetidas a três níveis de deficiência hídrica, verificaram que o milho, o sorgo e o milheto apresentaram menor número de folhas quando submetidos as disponibilidades hídricas de 30% da capacidade máxima de retenção de água no solo.

Inman-Bamber et al., (2008) afirmam que a redução do número de folhas é uma resposta das plantas com intuito de diminuir a taxa de transpiração e o consumo de energia para preservação dos tecidos.

Figura 9 – Número de folhas em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Kresovic et al. (2016) trabalhando com deficiência e excesso hídrico observaram que o estresse causado durante a fase vegetativa diminuiu significativamente o número de folhas por plantas, assim como outros componentes de rendimento da cultura do milho.

Variáveis morfológicas como matéria seca de raízes, altura de plantas e número de folhas estão sendo empregadas para avaliação da tolerância do milho e outras culturas à deficiência hídrica (PINCELLI, 2010).

4.2.3 Área foliar

Plantas do tratamento controle apresentaram os maiores valores de área foliar nas três épocas estudadas (Figura 10). Não houve diferença significativa para os níveis de irrigação na primeira época, pois as plantas estavam sob capacidade de campo.

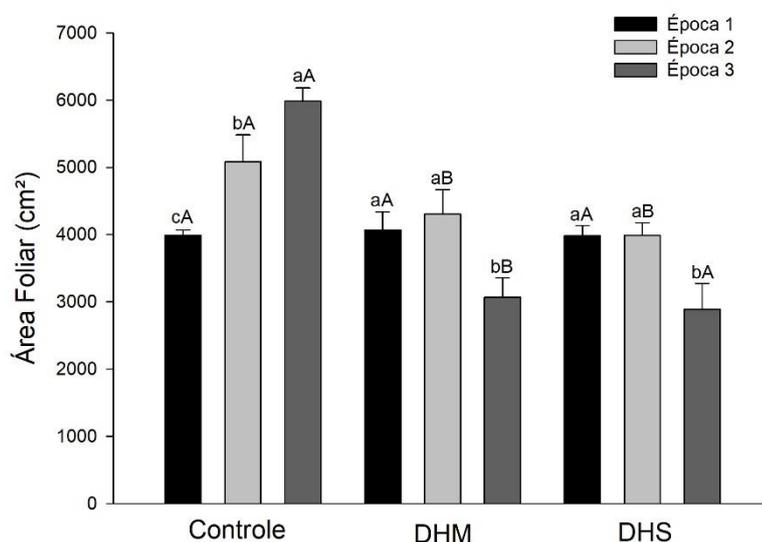
Para os tratamentos sob DHM e DHS notou-se comportamento similar das plantas, as quais apresentaram decréscimo de 26 e 31%, respectivamente, na terceira

época de avaliação quando comparado com a primeira, mostrando que ambos tratamentos apresentaram redução do desenvolvimento das plantas.

Analisando-se as lâminas de irrigação, houve decréscimo na segunda e terceira época de avaliação para DHM e DHS.

Santos et. al (2015) afirmam que plantas de milho submetidas a baixa disponibilidade hídrica durante o estágio vegetativo apresentam decréscimo da área foliar, influenciando no desenvolvimento da cultura.

Figura 10 – Área foliar (cm²) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Lisar et al. (2012), discutem que a DH interfere na redução do desenvolvimento da área foliar, fechamento dos estômatos, aceleração da senescência e na abscisão das folhas. Nascimento (2017), estudando plantas de milho sob DHS observou redução da área foliar e decréscimos das taxas de fotossíntese, afetando o metabolismo celular.

Segundo Silva (2017) o decréscimo da área foliar resulta do processo de respostas das plantas de milho submetidas a DH, as quais reduzem a área foliar com intuito de diminuir a taxa de transpiração.

Fatores bióticos e abióticos podem reduzir a área foliar da cultura do milho em todas as fases de seu desenvolvimento. A manutenção da área foliar no período

vegetativo da cultura é primordial, pois nessa fase ocorre o desenvolvimento das plantas e definição do potencial produtivo (ARAÚJO, 2017).

4.3 Parâmetros de biomassa

Para o estudo do acúmulo de biomassa, avaliou-se parâmetros relacionados a matéria seca e fresca de diferentes órgãos vegetais. A análise de variância (Tabela 6) indica que os fatores lâmina de irrigação e época de avaliação influenciaram os índices de matéria seca e fresca das folhas e colmo, havendo interação entre os fatores para todas variáveis analisadas.

Tabela 6 – Análise de variância para massa fresca de folhas (MFF), massa seca de folhas (MSF), massa fresca do colmo (MFC) e massa seca do colmo (MSC) em função de diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação em plantas de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado			
		MFF	MSF	MFC	MSC
Blocos	3	0.4253	0.2161	0.1183	0.5564
LAM	2	0.0005**	0.0005**	0.0000**	0.0004**
RES (A)	6	-	-	-	-
EPO	2	0.0001**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
LAM*EPO	4	0.0014**	0.0021**	0.0000**	0.0000**
Res (B)	18	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-
CV (%) Parcela		9.71	7.07	1.31	16.63
CV (%) Subparcela		11.03	8.10	2.44	8.95

** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação; EPO: Época de avaliação.

4.3.1 Massa fresca e seca das folhas

Na primeira época de avaliação onde as plantas estavam sob capacidade de campo, não houve diferença significativa entre as lâminas de irrigação para os parâmetros analisados. No entanto os tratamentos sob DH causaram decréscimos na massa fresca e seca das folhas na segunda e terceira época.

Sob DHM a MF das folhas variou de 92,67 a 100,89 g planta⁻¹ (Figura 11A), não havendo diferença significativa entre as três épocas de avaliação. Entretanto, a DHS

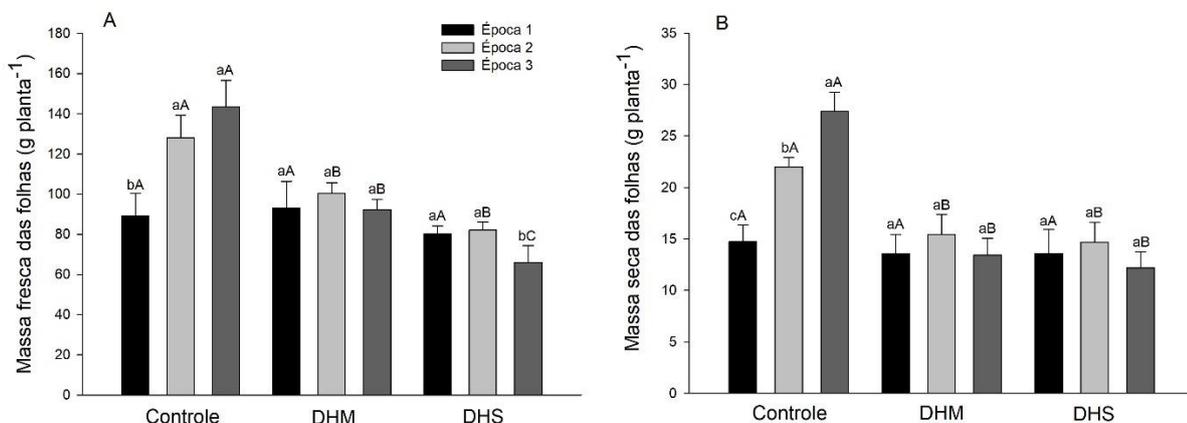
causou redução de 18% na MF das folhas na terceira época de avaliação quando comparadas a primeira época.

As épocas não interferiram na MS das folhas sob DHM e DHS, as quais apresentaram variação de 13,91 a 14,52 g planta⁻¹ e 12,73 a 14,86 g planta⁻¹, respectivamente (Figura 11B).

Moraes (2017) estudando diferentes lâminas de irrigação e níveis de compactação no solo na cultura milho observou menor quantidade de matéria seca em plantas submetidas a menor disponibilidade hídrica.

O decréscimo da massa seca e fresca das folhas é resultado do nível de DH imposto à cultura do milho. Xavier et al. (2014), explica que a DHS reduz a pressão de turgor e o fluxo nos vasos condutores. Esses fatores provocam decréscimo no alongamento celular e no desenvolvimento das plantas, promovendo redução de área foliar, altura e diâmetro, resultando em perda de biomassa vegetal.

Figura 11 – (A) Massa de matéria fresca; (B) Massa seca das folhas em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Plantas de milho submetidas a deficiência hídrica nos estágios vegetativos são favoráveis a senescência precoce das folhas, conseqüentemente há uma redução na fotossíntese e, diretamente diminuição de produção fitomassa (SILVA et al., 2012).

4.3.2 Biomassa fresca e seca do colmo

As plantas de milho submetidas a deficiência hídrica sofreram decréscimo significativo no acúmulo e produção de biomassa. Os resultados de massa fresca (MFC) e seca do colmo (MSC) estão apresentados na Figura 12 (A e B).

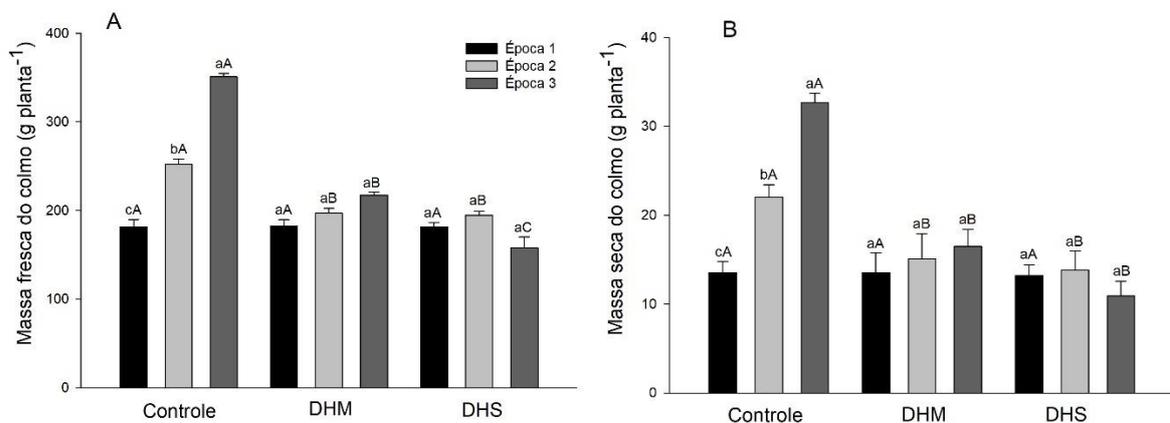
Na terceira época de avaliação, as plantas submetidas ao tratamento controle acumularam 350,21 g planta⁻¹ de MF do colmo, enquanto as plantas sob DHM acumularam 217,51 g planta⁻¹ (Figura 12A). Ao analisar as plantas submetidas a DHS nota-se que houve um decréscimo de 55% do acúmulo de MF do colmo em relação ao tratamento controle.

A MS do colmo (Figura 12B) apresentou na terceira época de avaliação redução de 66% nas plantas sob DHS em relação às plantas do controle na mesma época de avaliação. Entretanto as épocas de avaliação não influenciaram as plantas sob DHS, as quais apresentaram resultados similares.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos DHM e DHS quando comparados na segunda época de avaliação para os dois parâmetros de biomassa do colmo.

A formação de biomassa pelo vegetal pode ser conceituada por uma relação fisiológica simples, a qual se baseia na radiação absorvida e na eficácia de conversão em matéria seca, sendo esse processo afetado pela deficiência hídrica nas plantas (FERREIRA JUNIOR, 2013).

Figura 12 – (A) Massa de matéria fresca; (B) Massa seca do colmo em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Os parâmetros de biomassa foram influenciados a medida que a deficiência hídrica se tornou mais DHS. Segundo Lisar (2012), os impactos causados pela DH se desenvolvem de maneira gradual, sendo que a primeira resposta à falta de água nas plantas é a redução do processo de crescimento e acúmulo de biomassa.

4.3.3 Biomassa e volume das raízes

Para esses parâmetros, o fator lâmina de irrigação influenciou as variáveis massa fresca das raízes (MFR), massa seca das raízes (MSR) e volume das raízes (VR), conforme resumido na Tabela 7.

Tabela 7 – Análise de variância para massa fresca (MFR), massa seca (MSR) e volume das raízes (VR) em função de diferentes níveis de deficiência hídrica em plantas de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado		
		MFR	MSR	VR
Blocos	3	0.6878	0.9052	0.9063
LAM	2	0.0000**	0.0000**	0.0000**
RES	6	-	-	-
Total	11	-	-	-
CV (%)		5.50	10.24	3.88

** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação.

O acúmulo de massa fresca e seca das raízes e o volume das raízes durante o ensaio estão apresentados na Figura 14. As plantas do controle apresentaram média de 297 g planta⁻¹ para MFR, 36 g planta⁻¹ para MSR e 67 cm³ para volume de raízes. Quando avaliou-se os mesmos parâmetros para plantas mantidas sob DHM e DHS, as mesmas apresentaram decréscimo de 52 e 62%, respectivamente em relação ao controle (Figura 13A). Para massa seca houve redução de 38 e 50% para DHM e DHS respectivamente, não havendo diferença significativa entre estes tratamentos (Figura 13B).

A análise do volume de raízes revelou que as plantas estressadas (DHM e DHS) apresentaram decréscimo de 29 e 47% quando comparadas com o tratamento controle (Figura 13C).

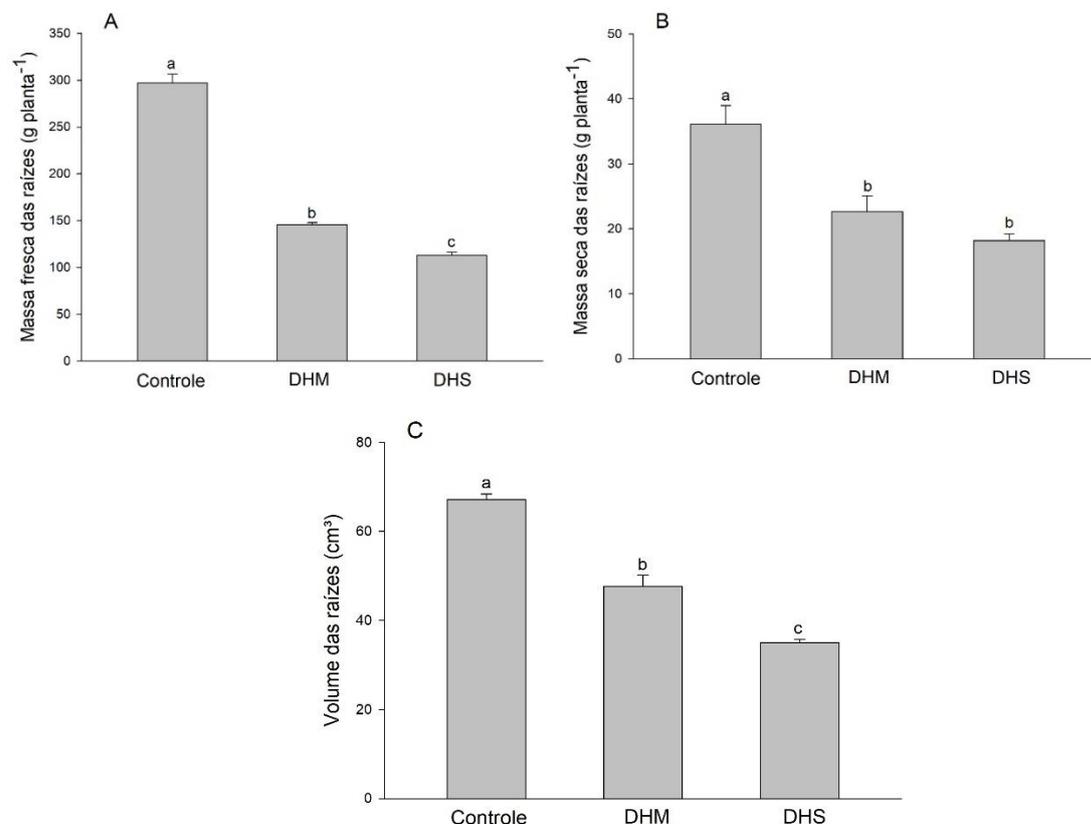
Avramova et al. (2016) analisaram diferentes genótipos de plantas de milho sob DHS. No final do ensaio observaram resultados similares ao presente ensaio, com decréscimos acentuados de massa fresca, seca e volume de raízes de plantas

submetidas a DHS. Os resultados afetaram a profundidade do sistema radicular, largura e cobertura da superfície radicular.

Os resultados das variáveis de biomassa e volume das raízes demonstram que as plantas não se adaptaram aos níveis de DH durante seu desenvolvimento. Um importante processo adaptativo é a manutenção do crescimento das raízes durante períodos de menor disponibilidade de água, o que permite que a planta tenha acesso a água em perfis mais profundos (ZHU et al., 2010).

Plantas submetidas a escassez hídrica apresentam decréscimo no turgor celular. No entanto, as raízes se desenvolvem a procura de zonas úmidas do solo. Dessa forma, quando todas as camadas do solo estão úmidas o sistema radicular tende a permanecer na camada superficial do solo (OOSTEROM et al., 2016).

Figura 13 – (A) Massa fresca das raízes (g planta^{-1}); (B) massa seca das raízes (g planta^{-1}) e (C) Volume de raízes (cm^3) em função tratamentos hídricos em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, com base no teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

4.4 Massa seca total e Índices de crescimento

Os índices de crescimento permitem avaliar as frações de biomassa provida em diferentes órgãos das plantas, podendo sinalizar possíveis alterações fisiológicas no desenvolvimento das plantas submetidas a diversos estresses bióticos e abióticos. Observa-se na Tabela 8 que o fator lâmina não influenciou nos índices de crescimento, não havendo diferença significativa entre os tratamentos estudados. O parâmetro massa seca total foi influenciado pelo fator lâmina, observando diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 8 – Análise de variância para área foliar específica (SLA), fração de biomassa total (LWR) e razão da área foliar (LAR) em função de diferentes níveis de deficiência Hídricos.

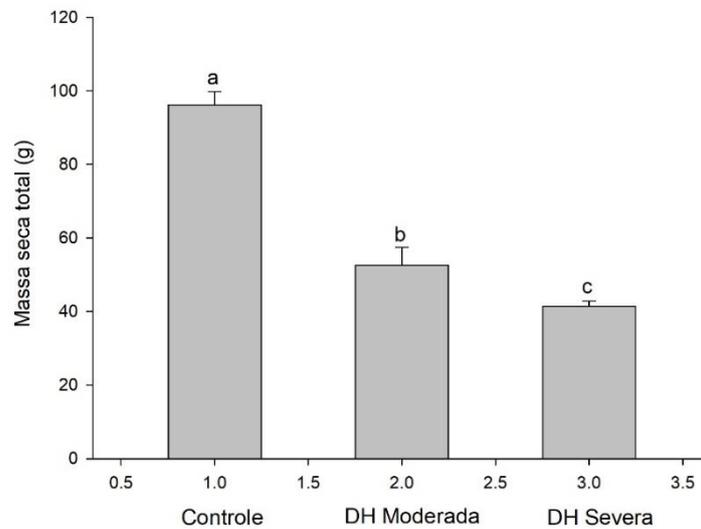
Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado			
		MST	SLA	LWR	LAR
Blocos	3	0.7223	0.1745	0.1227	0.6594
LAM	2	0.0000**	0.6067 ^{ns}	0.0648 ^{ns}	0.2473 ^{ns}
RES	6	-	-	-	-
Total	11	-	-	-	-
CV (%)		6.28	13.05	6.84	13.51

** : significativo ($p < 0,01$); ^{ns}: não significativo; CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação.

O acúmulo de massa seca total durante o ensaio estão apresentados na Figura 14. As plantas do controle apresentaram média de 96,15 g planta⁻¹. Quando se avaliou o mesmo parâmetro para plantas mantidas sob DHM e DHS, as mesmas apresentaram decréscimo de 45 e 57%, respectivamente em relação ao controle.

Wu et al. (2011), descreve que sob condições de baixa disponibilidade de água no solo ou de alta demanda evaporativa, plantas de milho apresentam redução no acúmulo de matéria seca e transpiração. O diâmetro de colmo e a massa seca do colmo são indicadores de estresse hídrico em milho doce, por serem mais sensíveis ao estresse.

Figura 14 – Massa seca total em função tratamentos hídricos em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, com base no teste de Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

4.5 Conteúdo relativo de água (CRA), perda de eletrólitos e teor de pigmentos.

Plantas de milho doce submetidas a níveis de DH apresentaram alterações fisiológicas relacionadas a diminuição da disponibilidade hídrica. Os resultados da análise de variância para conteúdo relativo de água (CRA), perda de eletrólitos e teor de pigmentos: clorofila *a* e *b* e carotenoides estão sumarizados na Tabela 9.

Considerando o fator lâmina de irrigação e época de avaliação, observou-se que pelo teste F ($p < .01$) lâminas e épocas diferiram entre si nas variáveis analisadas. Há interação entre os fatores, evidenciando assim que ambos são dependentes.

Tabela 9 – Análise de variância para conteúdo relativo de água no tecido foliar (CRA), perda de eletrólitos (PE) e teor de pigmentos: clorofila *a* (Clor *a*), clorofila *b* (Clor *b*) e carotenoides (Car) em função de diferentes níveis de deficiência hídrica e épocas de avaliação em plantas de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado				
		CRA	PE	Clor <i>a</i>	Clor <i>b</i>	Car
Blocos	3	0.7151	0.7617	0.7156	0.0769	0.3674
LAM	2	0.0005**	0.0000**	0.0002**	0.0008**	0.0000**
RES (A)	6	-	-	-	-	-
EPO	2	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
LAM*EPO	4	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
Res (B)	18	-	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-	-
CV (%) Parcela		3.62	2.67	6.06	8.14	3.85
CV (%) Subparcela		2.40	3.32	3.51	10.45	2.99

** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação; EPO: Época de coleta.

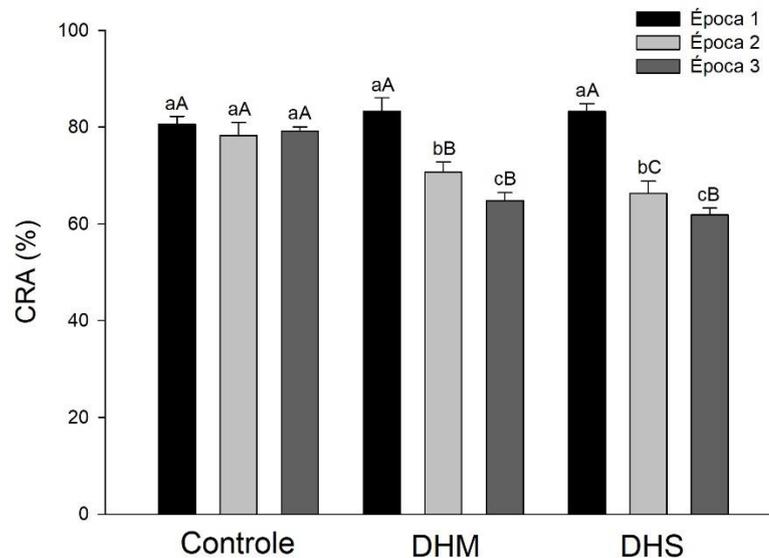
4.5.1 Conteúdo relativo de água

Análise do conteúdo relativo de água (CRA) indica houve efeito significativo da interação entre lâminas e época (Figura 15). Observou-se que o maior CRA foi encontrado nas plantas bem irrigadas (controle), variando de 80, 78 e 79% relativo às épocas de avaliação, não havendo diferença significativa entre elas.

Analisando as lâminas de irrigação com efeito estressante, na primeira época de avaliação, não houve diferença significativa. Entretanto, sob DHM e DHS houve decréscimo de CRA em 15 e 20% na segunda época, respectivamente, quando comparadas ao tratamento controle. Para a terceira época de avaliação o decréscimo foi mais acentuado, com redução de 22 e 26% para DHM e DHS, respectivamente.

De modo geral as plantas submetidas aos tratamentos de DH apresentaram reduções significativas na segunda e terceira época de avaliação. Souza et al. (2015) notaram que o conteúdo relativo de água (CRA) nas folhas de milho foi afetado pela deficiência hídrica, observando valores do CRA para as plantas submetidas a DH de 60%.

Figura 15 – Conteúdo relativo de água nas folhas (%) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Rios (2017) estudando gramíneas sob deficiência hídrica encontrou resultados semelhantes a este trabalho. Segundo o autor, a deficiência hídrica causa decréscimo no CRA das folhas e em seguida diminuição da condutância e fechamento estomático.

4.5.2 Perda de eletrólitos

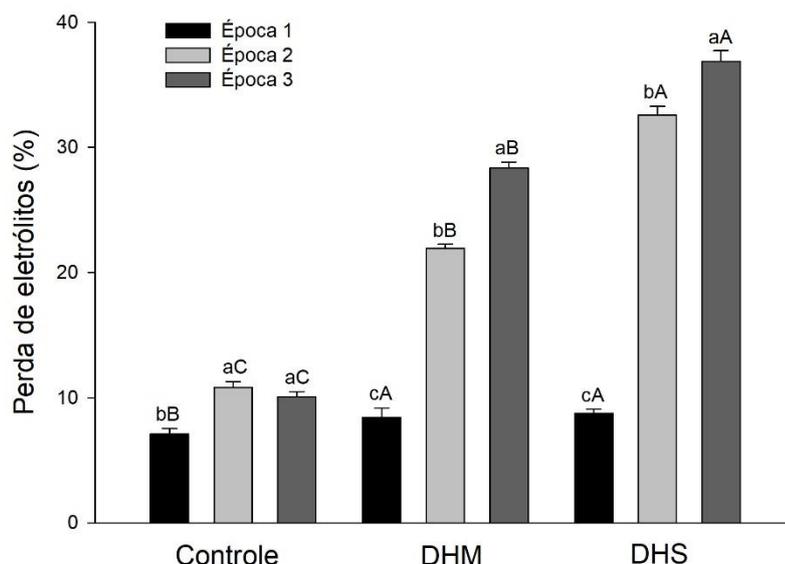
A perda de eletrólitos em tecidos foliares é um parâmetro que têm sido amplamente utilizado para estimar danos causados por estresses em várias culturas (ZHAO et al., 2009).

Os valores de perda de eletrólitos estão apresentados na Figura 16, os quais indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos aplicados. No início dos tratamentos quando as plantas estavam sob capacidade de campo, a perda de eletrólitos variou de 7,09 a 8,74%.

Os tratamentos sob DHS na segunda e terceira época de avaliação apresentaram resultados de danos nas membranas mais acentuados (32 e 36% respectivamente). No entanto as plantas submetidas a DHM indicaram valores menores em relação a DHS, entre 21 e 28% na primeira e segunda época de avaliação, respectivamente. As plantas submetidas ao tratamento controle mostraram integridade das membranas celulares ao longo das três épocas de avaliação, com valor máximo de perda de eletrólitos de 10,83% na segunda época de avaliação.

Vidal (2015) observou que a DH aplicada em plantas de milho foi suficiente para causar danos celulares nas folhas, indicando que a cultura é sensível ao DH de maior intensidade.

Figura 16 – Perda de eletrólitos (%) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

Alterações na permeabilidade da membrana celular causada por estresses abióticos são indicadores fisiológicos muito utilizados para determinar estresses em plantas. A DH pode causar rompimento da membrana celular, o que em geral, resulta em extravasamento da seiva celular e aumento da condutividade elétrica relativa (LU et al., 2017).

Quando a permeabilidade da membrana celular é alterada pela ruptura das mesmas, pode haver perda de eletrólitos, resultando na morte de células vegetais. Maior perda de vazamento eletrolítico implica em menor tolerância das células a determinados estresses (WIJEWARDANA et al., 2016).

4.5.3 Teor de pigmentos

Os resultados das análises de teor de pigmentos estão apresentados na Figura 17. As maiores taxas de clorofila *a* e *b* e carotenoides foram verificados na primeira

época de avaliação. Com o início dos tratamentos de DH, houve decréscimo acentuado dos teores de pigmentos, principalmente para clorofila *b*.

Analisando-se o tratamento DHM, nota-se que não houve diferença significativa entre a segunda e a terceira época de avaliação para clorofila *b* e carotenoides. Os mesmos apresentaram variação de 2,6 a 3,8 $\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha para clorofila *b* e 2,8 a 2,9 $\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha para carotenoides (Figura 17A e C).

Para DHS os teores de pigmentos foram influenciados pela duração do estresse, observando que houve diferença significativa entre as três épocas. A clorofila *b* se mostrou mais sensível a DH em que as plantas foram submetidas (Figura 17B).

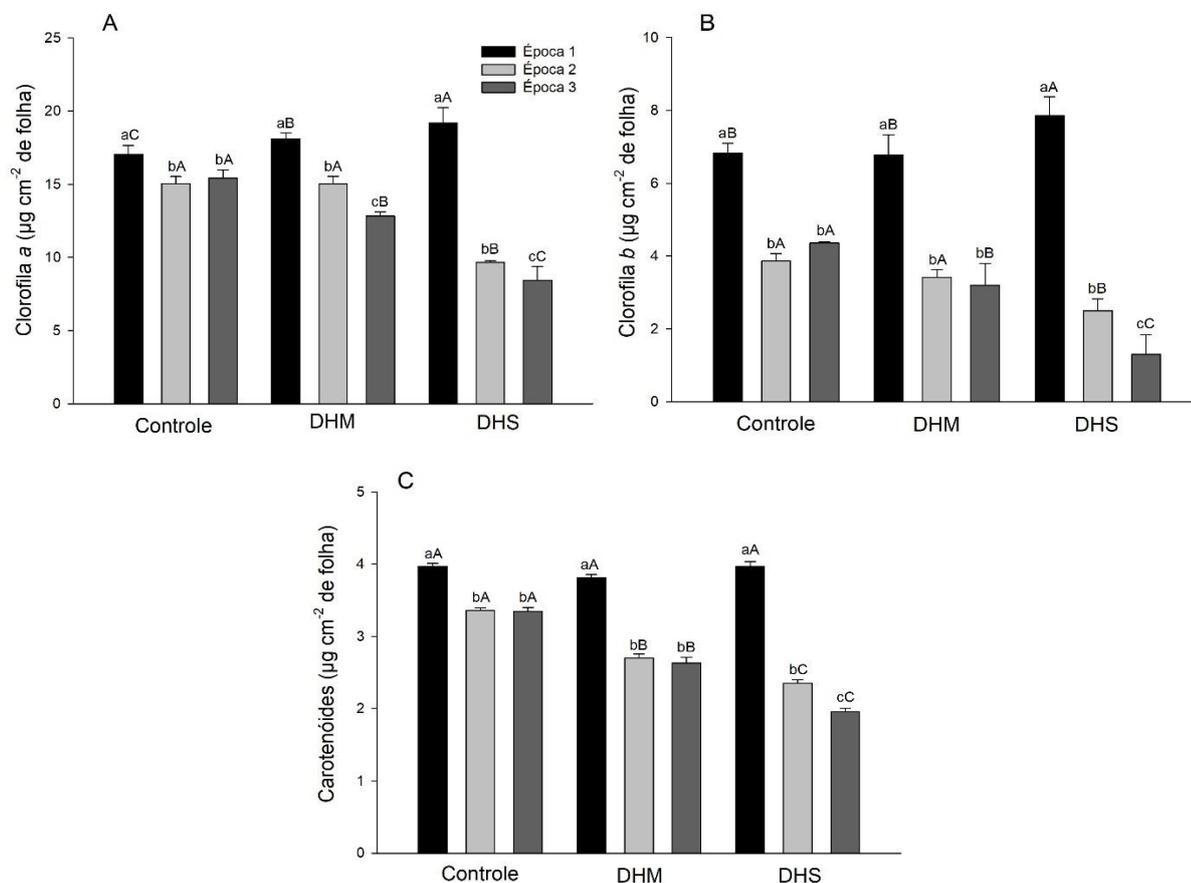
Segundo Streit et al. (2005) as clorofilas podem ser facilmente degradadas por possuírem estrutura quimicamente instável. Portanto, plantas submetidas a DH têm os pigmentos afetados, apresentando como impacto direto decréscimo da eficiência fotossintética.

Em diversas culturas como trigo (ZAEFYZADEH et al., 2009), cana-de-açúcar (SILVA et al, 2013), girassol (MANIVANNAN et al., 2014) e milho (MIRI e ARMIN, 2013) têm sido observado redução nos teores de clorofilas quando as plantas são submetidas a DH.

Meher et al. (2017) estudando diferentes tipos de estresses em plantas de sorgo observaram que os maiores valores de clorofila *a* e *b* e carotenoides foram encontrados no tratamento controle e as variáveis foram afetadas com a intensidade do estresse, influenciando a capacidade fotossintética do sistema vegetal. O decréscimo no teor de pigmentos foliares podem interferir diretamente na capacidade fotossintética máxima e, por consequência na produção das culturas (TERZI et al. al., 2010).

Segundo Silva, et al. (2014) a análise dos pigmentos foliares torna-se um indicador eficaz para verificar a integridade e sanidade das células no decorrer do processo da fotossíntese.

Figura 17 – (A) Clorofila *a* ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha); (B) Clorofila *b* ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha) e Carotenóides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ de folha); (C) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

4.6 Trocas gasosas

Durante a imposição dos tratamentos com DH, realizou-se três avaliações de parâmetros fotossintéticos, de maneira não destrutiva, com auxílio de um analisador portátil de trocas gasosas (IRGA). A partir da análise de variância dos resultados (Tabela 10), foi possível diagnosticar que os fatores lâmina de irrigação e época de avaliação, tiveram influência sobre os parâmetros fotossintéticos, além de eventos como a condutância estomática, concentração interna de CO_2 e transpiração.

Tabela 10 – Análise de variância para parâmetros de trocas gasosas: fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO_2 (C_i), e transpiração (E) em resposta a diferentes níveis de deficiência Hídrica e épocas de avaliação em plantas de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado			
		A	g_s	C_i	E
Blocos	3	0.4471	0.1666	0.0486	0.4355
LAM	2	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
RES (A)	6	-	-	-	-
EPO	2	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
LAM*EPO	4	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
Res (B)	18	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-
CV (%) Parcela		1.86	3.33	7.62	4.77
CV (%) Subparcela		2.35	5.68	4.81	3.74

** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação; EPO: Época de coleta.

Com os dados obtidos, construiu-se gráficos para distribuição dos diferentes parâmetros avaliados (Figura 18). Houve comportamento semelhante das plantas na primeira época de avaliação, não havendo diferença entre as lâminas de irrigação para as variáveis analisadas. Este resultado reflete que as plantas estavam com bom nível de hidratação, em etapa imediatamente anterior ao início dos tratamentos, apresentando apenas pequenas diferenças, sem significância.

As plantas do tratamento controle apresentaram comportamento fotossintético (A , Fotossíntese líquida) semelhante para segunda e terceira época de avaliação, com acréscimo de 11 e 13% em relação à primeira época de avaliação, respectivamente (Figura 18A). Por outro lado, quando as plantas foram mantidas sob DHM e DHS, houve diferença significativa entre as três épocas analisadas com decréscimo de 31 e 74% respectivamente, para a terceira época analisada em relação a primeira.

Plantas de milho doce cultivadas sob DHS apresentaram na terceira época de avaliação, redução acentuada de 82% da condutância estomática (g_s) em relação a primeira época de avaliação (FIGURA 18B). Houve também decréscimo nos valores de condutância estomática nas plantas sob DHM e DHS, havendo diferença significativa entre elas.

A transpiração (E) sofreu aumentou gradualmente para o tratamento controle nas três épocas analisadas (Figura 18C). Entretanto, plantas mantidas sob DHM e DHS

aumentaram E , em comportamento semelhante ao observado para condutância estomática. Assim, os resultados mostram que o decréscimo de g_s pode promover redução nas taxas transpiratórias das plantas.

Assim como pode ser observado para diferentes respostas a estresses físicos, o decréscimo de condutância estomática no presente ensaio, pode ter influenciado as taxas de concentração interna de CO_2 (Figura 18D) devido ao estresse por DH. Desta forma é possível inferir, face aos resultados alcançados, que as variáveis analisadas são interdependentes, exercendo influência na capacidade fotossintética das plantas.

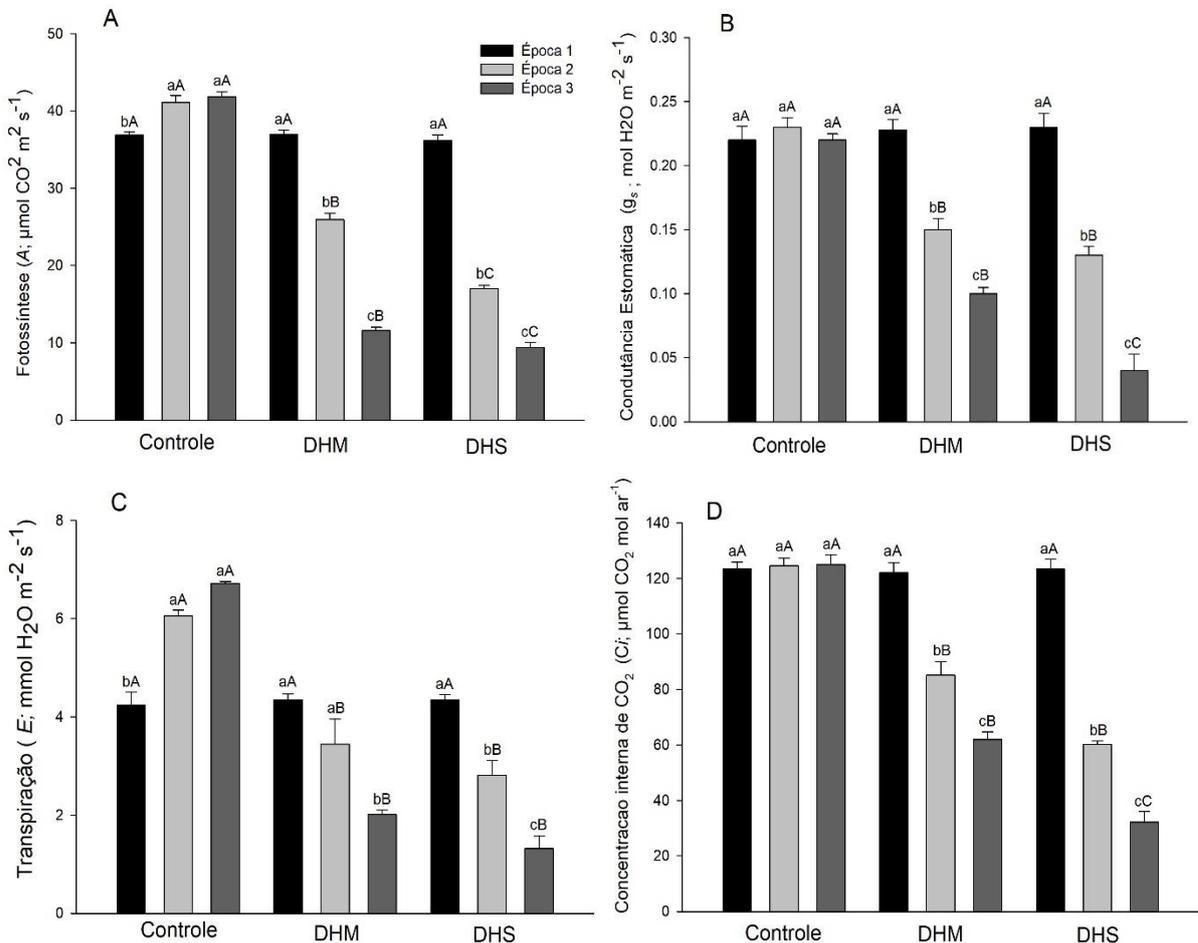
De maneira geral, a melhor atividade fotossintética foi encontrada nas plantas do controle, com acréscimo gradual da fotossíntese líquida, acompanhada pela transpiração. Já para a condutância estomática e concentração interna de CO_2 , as plantas submetidas a este tratamento apresentaram resultados semelhantes para as três épocas de avaliação.

Brito et al. (2013) estudando plantas de milho doce sob diferentes regimes de irrigação corroboram com os resultados deste ensaio. Os autores observaram decréscimo nas variáveis de trocas gasosas em função da DH. Peloso et al. (2016) argumenta que plantas sob condições mais severas de DH, tendem a diminuir taxas fotossintéticas devido à inibição de processos metabólicos específicos.

Silva et al. (2015) destacam que o aumento nos valores de concentração interna de CO_2 pode estar relacionado com o incremento da condutância estomática. Desta forma, o principal fator da redução do desempenho fotossintético seria a condutância estomática, pois quanto maior a abertura estomática maior a difusão de CO_2 para a câmara subestomática. Esse processo causa reduções na fotossíntese e promove o decréscimo de acúmulo de biomassa pela planta (TATAGIBA et al., 2015).

Plantas submetidas a DH apresentam como uma de suas principais respostas a redução das taxas transpiratórias. Assim, ocorre o decréscimo da condutância estomática pelo fechamento dos estômatos, colaborando para a manutenção do potencial hídrico celular (RONCHI et al. 2015).

Figura 18 – (A) Fotossíntese líquida (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (B) condutância estomática (g_s ; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (C) transpiração (E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (D) concentração interna de CO_2 (C_i ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$), em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

4.7 Análises bioquímicas

Assim como discutido para as trocas gasosas, os parâmetros bioquímicos são de grande importância para o entendimento da capacidade de resposta das plantas frente à deficiência hídrica. No presente ensaio, avaliou-se teor de proteínas e três enzimas relacionadas com o SRA – Sistema de resposta antioxidativo, a SOD, CAT e POD. Além disso, monitorou-se a atividade da NR – Nitrato redutase, relacionada ao processo de redução assimilatória do nitrato.

Conforme resumido na Tabela 11, os fatores lâmina de irrigação e época de avaliação influenciaram os teores de proteína solúvel total (PTS) bem como a atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e

peroxidase (POD) em tecido foliar das plantas de milho doce. Igualmente, a enzima NR também foi induzida pelo estresse físico de forma temporal e em função da severidade do estresse. Houve interação entre os fatores para todas as variáveis analisadas.

Tabela 11 – Análise de variância para teor de proteína solúvel total (PTS), atividade das enzimas Nitrato redutase (NR), Superóxido dismutase (SOD), Peroxidase (POD) e Catalase (CAT) em função de diferentes níveis de deficiência hídrica e épocas de avaliação em tecido foliar de milho doce

Fontes de variação	Graus de Liberdade	F calculado				
		PTS	NR	SOD	POD	CAT
Blocos	3	0.2281	0.5188	0.2911	0.4169	0.0434
LAM	2	0.0002**	0.0006**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
RES (A)	6	-	-	-	-	-
EPO	2	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
LAM*EPO	4	0.0001**	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
Res (B)	18	-	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-	-
CV (%) Parcela		8.26	10.85	7.87	8.79	9.94
CV (%) Subparcela		9.04	10.82	5.92	7.06	8.43

** : significativo ($p < 0,01$); CV: coeficiente de variação; LAM: Lâminas de irrigação; EPO: Época de coleta.

No início dos tratamentos as plantas apresentaram teores de proteínas em média de 18,1 mg g⁻¹ MF, não havendo diferença significativa entre as lâminas de irrigação (Figura 19A). No entanto, na segunda época de avaliação as plantas sob DHM e DHS apresentaram valores de 13,9 e 13,7 mg g⁻¹ MF, com decréscimo de 22 e 24% respectivamente, em relação ao tratamento controle. Plantas do controle apresentaram média de 18,26 mg g⁻¹ MF nas três épocas de avaliação. Assim, de maneira geral, houve decréscimo nos teores de proteínas em plantas sob DHM e DHS, porém, não houve diferença significativa entre a primeira e a segunda época de avaliação.

A atividade da SOD foi semelhante para a primeira e terceira época de avaliação para o tratamento controle, havendo diferença apenas para a segunda época (Figura 19B). Sob DHM as plantas apresentaram acréscimo de 64% na atividade da enzima na terceira época de avaliação em relação à primeira época. Plantas cultivadas sob DHS exibiram acréscimo acentuado da atividade da SOD, apresentando aumento de 115%, havendo diferença significativa entre as épocas avaliadas.

A atividade da peroxidase nas folhas sob DHS foi 130% superior na terceira época de avaliação comparando com o tratamento controle na mesma época de avaliação (Figura 19C). Houve aumento da atividade da enzima em todos os tratamentos hídricos. No entanto sob tratamento controle as plantas apresentaram valores de 1229,79 a 1510,13 $\mu\text{kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$, enquanto as plantas sob DHM apresentaram aumento de 98% na terceira época de avaliação. Sob DHS apresentaram acréscimo de 172% em relação a primeira época.

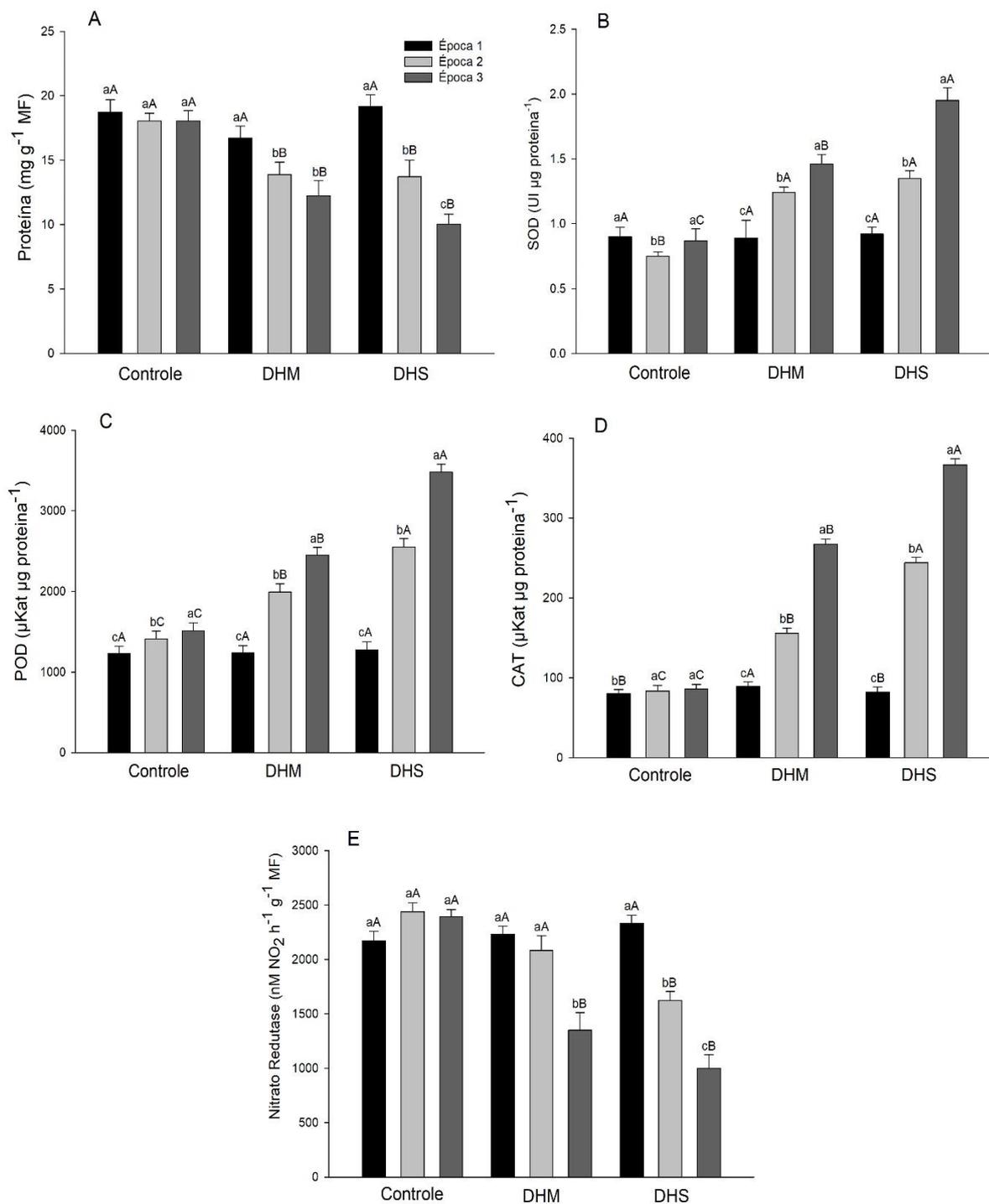
Durante o período experimental a atividade da catalase nas folhas sob tratamento controle foi em média 83 $\mu\text{kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$, havendo diferença significativa apenas para a primeira época de avaliação (Figura 19D). Porém, sob DHM e DHS na terceira época de avaliação, as plantas apresentaram acréscimo de 200 e 347% em relação a primeira época de avaliação.

Houve redução na atividade da enzima nitrato redutase em função da intensidade da DH impostas as plantas. Sob tratamento controle houve um aumento de 10 % da atividade da enzima na terceira época de avaliação quando comparada com a primeira época (Figura 19E). No entanto sob DHM houve redução de 39% na terceira época de avaliação e 57% para as plantas submetidas a DHS quando comparadas a primeira época de avaliação.

O estresse hídrico causa diversos efeitos negativos ao crescimento e desenvolvimento das plantas, alterando as relações água-planta, capacidade de trocas gasosas e turgor celular. Estudos frequentes em várias culturas têm sido observado que sob DH as plantas acumulam solutos com intuito de reduzir o potencial osmótico e manter o turgor celular (PERVEEN et al., 2016).

No entanto, no presente ensaio, verificou-se redução nos teores de proteínas nas folhas de acordo com a intensidade e severidade do estresse. Souza et al. (2014) explica que a DH diminui as concentrações de proteínas solúveis nas folhas pelo aumento da atividade das enzimas proteolíticas, que degradam as proteínas, diminuindo a síntese das mesmas.

Figura 19 – (A) Teor de proteína solúvel total (PTS); (B) atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD); (C) atividade da peroxidase (POD); (D) catalase (CAT); (E) Nitrato Redutase (NR) em função da época de avaliação e tratamentos hídricos C, DHM e DHS em plantas de milho doce.



Médias seguidas pela mesma letra maiúsculas para as lâminas e minúsculas para as épocas não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As barras indicam o desvio padrão da média de quatro repetições.

As plantas têm desenvolvido respostas bioquímicas para sobreviver em meio a DH e essas respostas, que são formadas por um sistema antioxidativo (SRA), têm sido estudadas como indicadores/marcadores de estresse em plantas. O aumento da atividade de enzimas como SOD, CAT e POD em plantas sob condições de DH tem contribuído à tolerância em trigo (ZAEFYZADEH et al., 2009) e milho (CHUGH et al., 2013), reduzindo os impactos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO).

Diversos estudos têm demonstrado o papel dos mecanismos antioxidativos enzimáticos na proteção contra o estresse oxidativo induzido pela deficiência hídrica em diferentes culturas como soja e milho (VASCONCELOS et al., 2009), de acordo com os autores o aumento da atividade de enzimas como SOD, CAT e PODs estão associadas com a manutenção dos níveis de peroxidação de lipídios sob condições de estresse.

Anjum et al. (2017), observaram aumento da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase em plantas de milho sob deficiência hídrica severa (DHS). Avramova et al. (2017) estudando os mecanismos de defesa antioxidante contra o estresse oxidativo causado pela DH concluíram que o acréscimo na atividade das enzimas como SOD, CAT e POD está relacionado com a manutenção do equilíbrio oxidativo sob condições de estresse.

No presente estudo, houve aumento da atividade das enzimas analisadas em resposta à intensidade e severidade do estresse. Estudos indicam que a atividade de uma ou mais enzimas antioxidantes, como SOD e POD é observada em plantas expostas a condições estressantes e o aumento de suas atividades podem estar relacionados ao aumento da tolerância ao estresse (NUNES et al., 2017). Juntamente com outros processos fisiológicos, a eficácia do sistema antioxidativo aumenta a tolerância da planta ao estresse, diminuindo os efeitos das ERO.

Verificou-se que a maior atividade da SOD nas condições de estresse promoveu maiores atividades da CAT e POD. Isto pode ser explicado pelo fato de a SOD ser a primeira enzima envolvida no sistema de defesa das plantas, atuando na dismutação do radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), substrato de catálise da peroxidase (Gill e Tuteja, 2010).

No entanto, dentre as enzimas avaliadas nas folhas, a DH promoveu aumentos substanciais na atividade da CAT. Jaleel et al., (2009) afirmam que o aumento da atividade desta enzima ocorre em virtude da mesma ser a principal enzima a catalisar a eliminação do H_2O_2 . Akcay et al. (2010) inferem que a CAT é uma das enzimas mais

eficazes na defesa contra processos oxidativos. Assim, elevadas atividades das enzimas em milho doce sob condições de estresse representam uma melhor capacidade de aclimatação da espécie.

A enzima nitrato redutase é a principal enzima responsável pela assimilação de nitrogênio pelos vegetais, nutriente importante para o desenvolvimento das plantas. No entanto, a atividade desta enzima sofre influência negativa da disponibilidade de água no solo (RHEIN et al., 2011).

A atividade da nitrato redutase é sensível a condutância estomática, ao passo que o fechamento dos estômatos, decorrente da DH nas plantas prejudica tanto a taxa fotossintética quanto a atividade da enzima (ANDRADE NETTO, 2005). Nota-se no presente ensaio que à medida que aumentou a intensidade da DH nas plantas, houve decréscimo na atividade da nitrato redutase e condutância estomática.

5 CONCLUSÕES

- Tratamentos com deficiência hídrica alteraram drasticamente todas as taxas de crescimento das plantas de milho doce, em função da severidade;
- A deficiência hídrica causou alterações fisiológicas que interagiram entre si, como os parâmetros de relações hídricas, trocas gasosas e teor de pigmentos;
- Plantas de milho doce cultivadas sob deficiência hídrica, apresentaram perfil bioquímico distinto, com indução de enzimas antioxidativas e prejuízo na assimilação do nitrato, devido a diminuição da atividade da Nitrato redutase;
- Concluiu-se por fim, com base em todos os parâmetros avaliados, que a cultura do milho doce é muito sensível à deficiência hídrica e que, na fase em que foi aplicada (V7), provavelmente exercerá forte influência sobre a produção vegetal.

REFERÊNCIAS

AKCAY, U. C.; ERCAN, O.; KAVAS, M.; YILDIZ, L.; YLMAZ, C.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hygaeae* L.) seedling. **Plant Growth Regulation**, v. 61, p. 21-28, 2010.

ALMEIDA, A. C. S.; BONIFÁCIO, J.; PUSCH, M.; OLIVEIRA, F. C.; GESEINHOFF, L. O.; BISCARO, G. A. Produtividade e eficiência de uso da água em milho cultivado com diferentes estratégias de manejo hídrico. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, CE, v.11, nº.3, p. 1448 - 1457, 2017.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004.

ARAÚJO, L. S. **APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A REGULADORES DE CRESCIMENTO E MICRONUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO**. 2017. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2017.

Avramova, V.; Nagel, K. A.; AbdElgawad, H.; Bustos, D.; DuPlessis, M.; Fiorani, F.; Beemster, G.T.S. Screening for drought tolerance of maize hybrids by multi-scale analysis of root and shoot traits at the seedling stage. **Journal of Experimental Botany**. Califórnia. 2016.

BARBOSA, N.A.; PAES, M.C.D.; TEIXEIRA, F.F.; PEREIRA FILHO, A.I.; SANT'ANA, R.C.O. Perda de massa em espigas minimamente processadas de diferentes cultivares de milho doce durante armazenamento em condições de comercialização a varejo. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Embrapa Milho e Sorgo, p. 3625-3629. 2012.

Barr, H.D. and Weatherley, P.E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. **Aust. J. Biol. Sci.** p. 413-428. 1962.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M; MULLER, A., G.; COMIRAN, F.; MACHADO, B. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 39, p. 831-839, 2004.

BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, E. A.; KROTH, B. E.; REZENDE, D.; Desenvolvimento Inicial de Gramíneas Submetidas ao Estresse Hídrico. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.24, n.2, p180-186, 2011.

BORIN, A. L. D. C.; LANA, R. M. Q.; PEREIRA, H. S. Absorção, acúmulo e exportação de macronutrientes no milho doce cultivado em condições de campo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 1591-1597, 2010.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v.72 p. 248-254, 1976.

BHATT, P. S.; YAKADRI, M.; SIVALAKSHMI, Y. Influence of varying plant densities and nitrogen levels on yield attributes and yield of sweet corn. **International Journal of Bio-Resource and Stress Management**, v. 3, p.169-172, 2012.

BRITO, M. E. B.; Araújo FILHO, G. D.; WANDERLEY, J. A. C.; MELO, A. S.; COSTA, F. B.; FERREIRA, M. G. P. Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1244-1254, 2013.

CARDOSO, E.T. **Genética de caracteres agronômicos e de qualidade em milho doce**. 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Plantas de Lavoura) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2001.

CARON, B. O.; OLIVEIRA, D. M.; ELLI, E. F.; ELOY, E.; SCHWERZ, F.; SOUZA, V. Q. Elementos meteorológicos sobre características morfológicas e produtivas do milho em diferentes épocas de semeadura. **Revista Científica**. Jaboticabal. v.45, n.2, p.105–114, 2017.

CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; Ricardo, C. P. P.; Osório, M. L. How plants cope with stress in the field: photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 907-16, 2002.

CHAVES, M.M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.2365-2384, 2004.

COELHO, H. A. **Diferentes condições de estresse hídrico no desenvolvimento de milhos transgênico e convencional**. 2013. 93p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Sexto levantamento de avaliação da safra 2017/2018**. Brasília, p. 1-140, 2018.

CRUZ, C. **Produtividade e rendimento industrial do milho doce irrigado em função de dose e parcelamento de nitrogênio**. 2014. 25 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

CUNHA, A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel-SP. **Irriga**, Botucatu, v.14, n.1, p.1-11, 2009.

CYRNE, L. et al. Regulation of antioxidant enzymes gene expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* during stationary phase. **Free Radical Biology & Medicine**, v.34, p.385-393, 2003.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLES, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

DINAKAR, C. et al. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, p.29-41, 2012.

DOURADO NETO, D. et al. Programa SWRC (Version 3.0): **Soil-Water Retention Curve** (Software). Piracicaba: ESALQ; Davis: University of Califórnia, 1995.

FERREIRA, A. C. **Condicionamento fisiológico, fitorreguladores e qualidade de sementes de milho-doce**. 2011. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2011.

FERREIRA JUNIOR, R. A. **Crescimento, eficiência no uso da radiação e energia de biomassa em cana-de-açúcar irrigada**. 2013. 72f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2015. **FAO**. Extraído de <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> . Acesso em 02 de maio de 2018.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T.D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, v.6, p.269-279, 2004.

FUNKHOUSER, E. A.; CAIRNEY, J.; CHANG, S.; DIAS, M. A. D. L.; NEWTON, R. J. Cellular and molecular responses to water deficits stress in woody plants. In **Handbook of plant and crop stress** (M. Pessarakli, ed.). Marcel Dekker Inc., New York, p. 347-362, 1994.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.

GUIMARÃES, P. S.; BERNINI, C. S.; PEDROSO, F. K. J.; PATERNIANI, M. A. G. Z. Characterizing corn hybrids (*Zea mays* L.) for water shortage by principle components analysis. **Maydica**, Bergamo, v. 59, n. 1, p. 72-79, 2014.

HERNÁNDEZ, M.; ECHARTE, L.; DELLA MAGGIORA, A.; CAMBARERI, M.; BARBIERI, P.; CERRUDO, D. Maize water use efficiency and evapotranspiration response to N supply under contrasting soil water availability, **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 178, p. 8-15, 2015.

INMAN-BAMBER, N.G.; BONNETT, G.D.; SPILLMAN, M.F.; HEWITT, M.L.; JACKSON, J. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.59, p.13-26, 2008.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SOMASUNDARAM, R. et al. Drought stress in plants: a review on morphological

characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, p. 1-6, 2009.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 43, p. 1274-1279, 1971.

KELLING, C.R.S. **Efeito da disponibilidade de água no solo sobre os componentes do balanço hídrico e o rendimento do feijoeiro**, 1995. 91p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1995.

KIM MD, KIM Y-H, KWON S-Y, YUN D-J, KWAK S-S. et al. Enhanced tolerance to methyl viologen-induced oxidative stress and high temperature in transgenic potato plants overexpressing *the CuZnSOD, APX and NDPK2* genes. **Physiologia plantarum**. 140:153–162, 2010.

Kresovic, B.; Tapanarova, A.; Tomic, Z.; b, Zivotic, L.; Vujovic, D.; Sredojevic, Z.; Gajic, B. Grain yield and water use efficiency of maize as influenced by different irrigation regimes through sprinkler irrigation under temperate climate. **Agricultural Water Management**. Belgrade, Serbia. v. 169 34–43. 2016.

KRON, A. P.; SOUZA, G. M.; RIBEIRO, R. V. Water deficiency at different developmental stages of *Glycine max* can improve drought tolerance. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 43-49, 2008.

Lafuente, M. T., Belver, A., Guye, M. G., Salveit, M. E. Effect of the temperature conditioning on chilling injury of cucumber cotyledons. **Plant Physiology**. 95: 443-449, 1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

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

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 550p.

LEE, D.W., BREMMEIER, S., SMITH, A.P. The selective advantage of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, v. 19, p. 40-49, 1987.

LISAR, S. Y. S., MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, **Effects and Responses**. Bangladesh (Ed.) 2012.

LOPES, S. J.; et al. Relações de causa e efeito em espigas de milho relacionadas aos tipos de híbridos. **Ciência Rural**, v.37, n.6, 2011.

LOPES, J. R. F. **VARIABILIDADE ESPAÇO-TEMPORAL DA PLUVIOMETRIA NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO E SUA RELAÇÃO COM A PRODUTIVIDADE DO MILHO**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Agrometeorologia) – Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande. 2016.

LU, Y.; HU, Y.; LI, P. Consistency of electrical and physiological properties of tea leaves on indicating critical cold temperature. **Biosystems Engineering**. p. 89 – 96. 2017.

LUZ, J. M. Q.; CAMILO, J. S.; BARBIERI, V. H. B.; RANGEL, R. M.; OLIVEIRA, R. C. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n.2, p. 163-167, 2014.

LUZ, J. M. Q.; CAMILO, J. S.; BARBIERI, V. H. B.; RANGEL, R. M.; OLIVEIRA, R. C. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em intervalos de colheita. **Revista Ceres**, v. 62, n. 1, p. 1–8, 2015.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. (Circular técnica 23).1 ed., Sete Lagoas-MG, 2002.

MALDANER, L.J.; HORING, K.; SCHNEIDER, J.F.; FRIGO, J.P.; AZEVEDO, K.D.; GRZESIUCK, A.E. Exigência agroclimática da cultura do milho (*Zea mays*). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**. 13-23. 2014.

MANIVANNAN, P.; RABERT, G. A.; RAJASEKAR, M. SOMASUNDARAM, R. Drought stress-induced modification on growth and pigments composition in diferente genotypes of *Helianthus annuus* L. **Current Botany**, v.5, p. 9, 2014.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa Editora UFV, 2005. 451p.

MEHER, P.; SHIVAKRISHNA, K.; REDDY, A. K.; RAO, D. M. Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2017.

MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci**, p. 405-410, 2002.

MURGA-ORRILLO. H.; ARAÚJO, W. F.; ABANTO-RODRIGUEZ, C.; SAKAZAKI, R. T.; BARDALES-LOZANO, R. M.; POLO-VARGAS, A. R. Influência da cobertura morta na evapotranspiração, coeficiente de cultivo e eficiência de uso de água do milho cultivado em cerrado. **Revista Irriga**, v. 21, n. 2, p. 352-364. 2016.

NASCIMENTO, F. N.; BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; RAMOS, H. M. Desempenho da produtividade de espigas de milho verde sob diferentes regimes hídricos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.16, n.1, p. 94-108, 2017.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; NETO, E. B. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relação hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p.66-74, 2001.

OLIVEIRA, T.S.; SANTOS, D.C.; COSTA, F.M.; TEIXEIRA, F.F. Avaliação de características agronômicas em híbridos-elite de milho doce. In: I SEMINÁRIO DE

INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC/BIC JUNIOR, 1., 2010, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 7p. 2010.

OOSTEROM, E. J. V.; F, YANG, Z.; ZHANG, F.; DEIFEL, K.S.; COOPER, M.; MESSINA, C. D.; HAMMER, G. L. Hybrid variation for root system efficiency in maize: potential links to drought adaptation. **Functional Plant Biology**. 2016.

OTIENO, D. O.; BESSON, C. K.; LIU, J.; SCHMIDT, M. W. T.; LOBO, R. V.; DAVID, T. S.; SIEGWOLF, R.; PEREIRA, S.; TENHUNEN, J. D. Seasonal variations in soil and plant water status in a *Quercus suber* L. Stand: roots as determinants of tree productivity and survival in the Mediterranean-type ecosystem. **Plant Soil**, v. 283, p. 119-135, 2006.

PADILHA, N. S.; SILVA, C. J.; PEREIRA, S. B.; SILVA, J. A. N.; HEID, D. M.; BOTTEGA, S. P.; SCALON, S. P. Q. Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 513-521, abr.-jun., 2016

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; VILLAS BOAS, G.L. Milho doce. **Informe Agropecuário**, 14: 17-22, 1990.

PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A. M. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Rev. Bras. Fis. Vegetal**, 11 (3):137-43, 1999.

PELOSO, A. F.; TATAGIBA, S. D.; REIS, E. F.; PEZZOPANE, J. E. M.; AMARAL, J. F. T. Limitações fotossintéticas em folhas de cafeeiro arábicas promovidas pelo déficit hídrico. **Coffee Science**, Lavras, v. 12, n. 3, p. 389 - 399, 2017.

PEREIRA FILHO, I.A.; CRUZ, J.C.; DA COSTA, R.V. **Milho doce**. Brasília: Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2015.

PIAS, O. H. C.; LOWE, M. A.; DAMIAN, J. M.; SANTI, A. L.; TREVISAN, R. Componentes de rendimento e produtividade de híbridos de milho em função de doses de NPK e de déficit hídrico em estádios fenológicos críticos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.16, n.4, p.422-432, 2017.

PINCELLI, R. P. **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-deaçúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas**. 2010. 65p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2010.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1996. 285p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

REIS, S.R.; PEREIRA, M.G.; SILVA, R.F.; MEIRELES, R.C. Efeito da heterose na qualidade de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, p. 310-315, 2011.

RIOS, C. O. **Respostas fisiológicas de gramíneas ao déficit hídrico visando a revegetação de pilha de estéril**. 2017. 84f. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2010.

RONCHI, C. P. et al. Respostas ecofisiológicas de cafeeiros submetidos ao déficit hídrico para concentração da florada no Cerrado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n.1, p. 24-32, jan. 2015.

SANTOS, A. L. F. dos; MECCHI, I. A.; RIBEIRO, L. M.; FACHINELLI, R.; MAKINO, P. A.; CECCON, G. Duas épocas e cinco densidades de semeadura de milho safrinha em Dourados-MS. In: **SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA**, 13, Maringá. Anais. 2015.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfi eld: **Science Publishers**. Chap.13, p.275-293. 2011.

SILVA, J. B.; KARAN, D. manejo integrado de plantas daninhas na cultura do milho. **O ruralista**, Belo Horizonte, v. 32, n 414, p.5-9, 1994.

SILVA, M. R.; MARTIN, T. N.; ORTIZ, S.; BERTONCELLI, P.; VONZ, D. Desempenho agrônômico de genótipos de milho sob condições de restrição hídrica. **Revista de Ciências Agrárias**. Pato Branco. v. 35. ed. 201. p. 202-212. 2012.

SILVA, V. DE P. R. DA; SILVA, B. B. DA; ALBUQUERQUE, W. G.; BORGES, C. J. R.; SOUSA, I. F.; Dantas Neto. Crop coefficient, water requirements, yield and water use efficiency of sugarcane growth in Brazil. **Agricultural Water Management**, v.128, p.102-109, 2013.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S. 2; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice *spad* como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181. 2014.

SILVA, F. G.; DUTRA, W. F.; DUTRA, AL. F.; OLIVEIRA, I. M.; FILGUEIRAS, L.M. B.; MELO, A. S. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.19, n.10, p.946–952, 2015.

SILVA, L. F. **Alterações fisiológicas de gramíneas tropicais submetidas a diferentes níveis de irradiância**. 2017. 102f. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiania. 2017.

SOUZA, L. C.; MELO, N. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SILVA, V. F. A.; OLIVEIRA NETO, C. F. Comportamento bioquímico no milho submetido ao déficit hídrico e a diferentes concentrações de silício. **Revista Agrarian**, Dourados, v.8, n.29, p.260-267, 2015.

SOUZA, T. C.; MAGALHÃES, P. C.; CASTRO, E. M.; DUARTE, V. P.; LAVINSKY, A. O. Morfoanatomia radicular em diferentes estádios de desenvolvimento e produtividade do milho sob estresse hídrico. **Pesq. agropecuária brasileira.**, Brasília, v.51, n.4, p.330-339, abr. 2016.

SHAO, H.; CHU, L.; JALEEL, C.A. & ZHAO, C. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **C. R. Biol.**, 331:215-225, 2008.

SOUZA, L. C.; MELO, N. C.; SIQUEIRA, J. A. M.; SILVA, V. F. A.; OLIVEIRA NETO, C. F. Comportamento bioquímico no milho submetido ao déficit hídrico e a diferentes concentrações de silício. **Revista Agrarian**, Dourados-MG, v. 8, n. 29, p. 260-267, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: E.Atmed, 2009.819 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Fotossíntese em *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 336-345, 2015.

TERZI, R. et al. Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Tubitak**. v. 34, p. 01-10, 2010.

Thomas, D. S.; Eamus, D. & Shanahan, S. Influence of season, drought and xylem ABA on stomatal responses to leaf-to-air vapour pressure difference of trees of the Australian wet-dry tropics. **Australian Journal of Botany** 48: 143-151. 2000.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Grain: World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service/USDA - **Office of Global Analysis**. October 2016. p. 1-56.

VAN GENUTCHEN, M. T. H. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 41, p. 892 – 898, 1980.

VASCONCELOS, A. C. F.; ZHANG, X.; ERVIN, E.H.; KIEHL, J. C. Respostas de enzimas antioxidantes a bioestimulantes em plantas de milho e de soja sob estresse hídrico. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 395-402, 2009.

VIÇOSI, K. A.; FERREIRA, A. A. S.; OLIVEIRA, L. A. B.; RODRIGUES, F. Estresse hídrico simulado em genótipos de feijão, milho e soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, p. 36-42, 2017.

VIDAL, J. B. **Crescimento reduzido de plantas de milho deficientes em potássio não está diretamente ligado a queda na atividade fotossintética**. 2015. 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015.

VIEIRA, L. Meteorologia e climatologia agrícola: notas de aula. 2009. Disponível em: <<http://www.dea.uem.br/disciplinas/meteorologia/meteorologiaagricola>>. Acesso em 18 de agosto de 2018.

WARREN, C. R., LIVINGSTON, N. J., TURPIN, D. H. Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziensis*) seedlings. **Tree Physiol**, v. 24, p. 971– 979, 2004.

WIJEWARDANA, C., HENRY, W. B.; HOCK, M. W.; REDDY, K. R. Growth and physiological trait variation among corn hybrids for cold tolerance. **Can. J. Plant Sci.** 2016.

WU, Y.; HUANG, M.; WARRINGTON, D. N. Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 71, p. 65–71, 2011.

XAVIER, D. A.; FURTADO, G. F.; SOUSA JÚNIOR, J. R.; SOUSA, J. R. M.; Andrade, E. M. G. Produção de fitomassa do milho sob lâminas de irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. Pombal – PB. v 9, n. 3, p. 144 - 148, 2014.

ZAEFYZADEH, M.; QULIYEV, R.A.; BABAYEVA, S.; ABBASOV, M. A. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. **Turk. J. Biol.**, 33: 1-7. 2009

ZÁRATE, N.A.H., VIEIRA, M.C., SOUSA, T.M., RAMOS, D.D. Produção e renda líquida de milho verde em função da época de amontoa. **Semina: Ciências Agrárias**. 2009

ZHAO, F. J.; MA, J. F.; MEHARG, A. A. MCGRATH. Arsenic uptake and metabolism in plants. **New Phytol**. 2009.

ZHU, J. BROWN, K. M. LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant, cell and Environment**. v. 33. p. 740-749. 2010.

ZUCHARELLI, C.; PANOFF, B.; PORTUGAL, G.; FONSECA, I. C. B. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na qualidade fisiológica de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina – PR, v. 34, p. 480- 48, 2012.