



**GEOVANA CREMONINI ENTRINGER**

**LINHAGEM DE MILHO COM ENROLAMENTO  
PERMANENTE DA FOLHA:  
CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E  
CONTROLE GENÉTICO**

**LAVRAS - MG**

**2011**

**GEOVANA CREMONINI ENTRINGER**

**LINHAGEM DE MILHO COM ENROLAMENTO PERMANENTE DA  
FOLHA: CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E CONTROLE GENÉTICO**

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

Orientador  
Dr. João Cândido de Souza

**LAVRAS - MG**  
**2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Entringer, Geovana Cremonini.

Linhagem de milho com enrolamento permanente da folha:  
características anatômicas e controle genético / Geovana Cremonini  
Entringer. – Lavras: UFLA, 2011.

65 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: João Cândido de Souza.

Bibliografia.

1. *Zea mays*. 2. Melhoramento genético. 3. Anatomia foliar. 4.  
Anatomia radicular. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.153

**GEOVANA CREMONINI ENTRINGER**

**LINHAGEM DE MILHO COM ENROLAMENTO PERMANENTE DA  
FOLHA: CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E CONTROLE GENÉTICO**

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

APROVADA em 10 de fevereiro de 2011.

Dr. Magno Antônio Patto Ramalho                      UFLA

Dr. Evaristo Mauro de Castro                      UFLA

Dr. João Cândido de Souza  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2011**

Aos meus pais, Valdemir e Rosimere, pessoas que sempre foram exemplos de coragem, amor, determinação, retidão e perseverança.

Ao meu irmão, Túlio, mais que um irmão, um grande amigo.

Às minhas avós, meus tios e primos, que sempre me apoiaram.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, proteção e por ter permitido mais esta vitória.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Biologia, pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

Ao orientador João Cândido de Souza, pelo incentivo, apoio, paciência e pelos ensinamentos transmitidos. Sinto-me honrada por ter sido sua orientada.

Ao professor Magno Antônio Patto Ramalho, pela participação na banca examinadora, pelos grandes ensinamentos transmitidos e pela amizade. Minha gratidão e o meu respeito pelo seu profissionalismo e sabedoria.

Ao professor Evaristo Mauro de Castro, pela participação na banca examinadora e pelo apoio e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao meu namorado Rodrigo, pelo carinho e atenção a mim dedicados.

Ao amigo Fernando Guedes, pelos ensinamentos transmitidos e pela amizade sincera, pois sem ele tenho certeza de que tudo seria muito mais difícil.

Às amigas Amanda Avelar e Samara Arcanjo, pelo apoio constante, ajuda incondicional e, sobretudo, pela amizade sincera.

Aos colegas da anatomia, pela prazerosa convivência.

Aos professores do Departamento de Biologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos funcionários de campo, Leonardo, Lindolfo e Zé Carlinhos pela convivência diária, amizade e auxílio nos trabalhos de campo.

Aos funcionários do DBI, Zélia, Rafaela, Irondina e Sebastiana.

À secretária Heloísa, por sua amizade e por seu apoio constante.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Genética, por toda ajuda e amizade.

“É durante as fases de maior adversidade que surgem as grandes oportunidades de se fazer o bem a si mesmo e aos outros”.

“Dalai Lama”

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o controle genético de uma linhagem de milho que apresenta o enrolamento permanente do limbo foliar, o que pode ser promissor para o melhoramento de plantas e caracterizá-la anatomicamente. Os ensaios foram conduzidos na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizadas, duas linhagens denominadas LE, com o limbo foliar enrolado e a L5, com o limbo foliar normal. O experimento para as avaliações anatômicas foi realizado em casa de vegetação e em laboratório, com delineamento inteiramente casualizado (DIC), onde cada parcela foi composta por uma planta. As análises anatômicas comparativas revelaram características no acesso LE interessantes para melhoramento sob condições de baixa disponibilidade de água (BDA). Para proceder ao estudo do controle genético, as linhagens LE e L5 foram utilizadas como parentais e, a partir do cruzamento entre elas, foram obtidas as gerações  $F_1$ ,  $F_2$  e os retrocruzamentos. Os genitores e as populações segregantes foram avaliados no delineamento de blocos casualizados, com duas repetições. Os componentes de média foram estimados através do método dos quadrados mínimos ponderados e os componentes de variância, pelo método dos quadrados mínimos ponderados iterativos. Observou-se que o controle genético do enrolamento do limbo é oligogênico e possui herdabilidade alta. Esses resultados evidenciam que há possibilidade de obtenção de genótipos homozigóticos superiores e que os ganhos nos ciclos de seleção serão satisfatórios, uma vez que o componente de natureza aditiva é predominante na expressão do caráter.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Anatomia foliar. *Zea mays*. Anatomia.

## ABSTRACT

This work was carried out aiming to study the genetic control and characterize anatomical lines of corn which shows the continuous winding of the leaf. We tried to study what are the genetic causes and their possible anatomical changes tests were conducted at experimental area of Department of Biology, Federal University of Lavras. We used two lines, named LE, this line has the leaf rolled up, and L5 with the normal leaf. The study on the anatomical assessments was made in a greenhouse and laboratories. The experimental design was completely randomized (CRD), where the plot was a plant. Comparative analysis of anatomies revealed features relevant on LE access, so this line has potential for improvement under low water availability (BDA). In order to make the genetic control study, lines LE and L5 were used as parents and from the cross between them were obtained the  $F_1$ ,  $F_2$  and backcrosses. The parents and segregating populations were evaluated in a randomized block design with two replications. The media components were estimated using weighted least squares method and the variance components by the method of weighted least squares iterative. The results show that the genetic control winding limbo is oligogenic and has high heritability. The results also evidence are possibility of obtaining homozygous genotypes and that gains in cycles of selection will be satisfactory, since the additive component is predominant.

Keywords: Breeding. Leaf anatomy. *Zea mays*. Anatomy.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	10
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	10
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>A cultura do milho</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>Anatomia foliar do milho</b> .....	13
<b>2.3</b>	<b>Anatomia radicular do milho</b> .....	16
<b>2.4</b>	<b>Adaptações das plantas ao ambiente</b> .....	18
<b>2.5</b>	<b>Estudo do controle genético</b> .....	20
<b>3</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	23
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	24
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....	28
	<b>ARTIGO 1 Características anatômicas foliares e seu papel no enrolamento foliar em milho</b> .....	28
	<b>ARTIGO 2 Caracterização anatômica radicular em duas linhagens de milho</b> .....	43
	<b>ARTIGO 3 Controle genético do enrolamento do limbo foliar em milho (<i>Zea mays</i> L. spp <i>mays</i>)</b> .....	55

## **PRIMEIRA PARTE**

### **1 INTRODUÇÃO GERAL**

O melhoramento genético de plantas vem sendo utilizado pelo homem a cerca de 6000 anos, visando principalmente ao aumento da produção a fim de assegurar a sobrevivência da espécie (ALLARD, 1971). Atualmente, o melhoramento genético de plantas continua sendo de grande importância para a humanidade, pois a partir dele podem ser obtidos novos cultivares com características agronômicas superiores, como maior produtividade, maior resistência a pragas, doenças e tolerância a fatores ambientais adversos.

O déficit hídrico pode ocasionar o enrolamento das folhas das plantas em situações como nas horas mais quentes do dia, em verões de alta temperatura, em razão das altas taxas de transpiração, podendo ocasionar o enrolamento total das folhas, seguido por senescência foliar e morte da planta. O enrolamento foliar causa redução na área foliar efetiva e, conseqüentemente, na área foliar disponível para a fotossíntese, além de redução da transpiração e do consumo de água em períodos de elevada demanda evaporativa (JORDAN, 1983).

Fatores adversos como o estresse hídrico podem limitar a produção dessa espécie em diferentes regiões. E a adaptação às condições de estresse resulta de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, envolvendo modificações morfoanatômicas, celulares, bioquímicas e moleculares (NOGUEIRA et al., 2005).

Para a próxima década, estatísticas apontam mudanças climáticas intensas que podem alterar a geografia da produção mundial, inclusive a brasileira (STEFANO; SALGADO, 2008). Um dos fatores principais dessa mudança é a disponibilidade hídrica, capaz de restringir significativamente a

produção e a produtividade de plantas, incluindo o milho (ZAIDI; RAFIQUE; SINGH, 2003).

Cultivado em todo o território brasileiro, o milho (*Zea mays* L. spp *mays*) tem sido exaustivamente estudado e melhorado (SANGOI et al., 2002). Durante uma das avaliações experimentais do programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA, estudantes e professores observaram que, entre diversas progênies de milho, uma se destacava pelo seu fenótipo diferenciado. Esta possuía o limbo foliar enrolado, em condições ideais para o desenvolvimento da cultura.

A partir dessa observação, melhoristas do Programa de Genética e Melhoramento da UFLA procuraram estudar quais seriam as causas genéticas e possíveis modificações anatômicas do enrolamento do limbo foliar em milho, principalmente porque a referida linhagem possui este fenótipo diferenciado em condições ambientais ideais, podendo fazer com que um fator adversos tal como o estresse hídrico, por exemplo, não seja limitante para o seu desenvolvimento e, conseqüentemente, para a sua produção.

O conhecimento dos fatores genéticos responsáveis pela herança do enrolamento do limbo foliar em milho e de suas características morfoanatômicas é importante para os programas de melhoramento. Assim, buscando esse conhecimento, este trabalho foi realizado.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura do milho

O milho é uma gramínea pertencente à família das Poaceas e à espécie *Zea mays L.* Todos os milhos estão incluídos nessa única espécie. Pertence à tribo *Maydeae*, que possui sete gêneros, dos quais, dois são nativos do hemisfério ocidental (*Zea* e *Tripsacum*) e cinco, da Ásia (PATERNIANI; NASS; SANTOS 2000). É uma planta diplóide, com  $2n = 2x = 20$  cromossomos (MARCOS FILHO, 2005). Sua taxa de autofecundação é inferior a 5%, sendo, portanto, uma planta alógama, com polinização predominantemente anemófila (LUNA et al., 2001).

Originário das Américas, o milho é um dos cereais de maior importância econômica e social no mundo. No Brasil, consideradas a produção e a área semeada, sua produção é a segunda mais importante (a produção de soja lidera essa categoria). Este cereal é plantado em todos os estados brasileiros e em todos os tipos e finalidades de propriedades rurais, da agricultura familiar à produção em larga escala, visando à exportação (VILARINHO, 2010).

Pesquisas têm desenvolvido diferentes cultivares e/ou híbridos que permitem seu cultivo desde o Equador até o limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600m. Representada por genótipos variados, essa adaptabilidade é paralela à variedade de sua utilização como alimento, como forragem ou seu uso industrial. O grão para alimentação animal representa cerca de 70% do consumo desse cereal no mundo. Nos Estados Unidos, aproximadamente 50% são destinados à alimentação animal e, no Brasil, essa porcentagem varia entre 60 e 80% (DUARTE, 2008). O Brasil é o terceiro maior produtor deste cereal, precedido pelos Estados Unidos e pela China (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2008).

Contudo, de acordo com o levantamento brasileiro de safra de grãos 2010/2011 divulgado pela Conab, a semeadura do milho na primeira safra está transcorrendo de forma mais lenta, comparativamente à safra passada. O clima não está favorecendo o estabelecimento da cultura em razão da irregularidade das chuvas, seja por excesso em alguns pontos, ou por falta em outros, como também em função da oferta de milho no mercado, reflexo da safra anterior (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2010).

Estima-se que a área total cultivada na primeira safra 2010/11 deverá variar entre 7,4 e 7,5 milhões de hectares, valor este em média 3,5% abaixo da área cultivada na primeira safra 2009/10. Especula-se que a área total cultivada com milho no país oscile entre 12,7 e 12,8 milhões de hectares, com uma variação aproximada 2% inferior à área semeada na safra passada. Assim, a previsão para a safra 2010/2011 é de 12,7 milhões de hectares, que deverão produzir aproximadamente 52,1 milhões de toneladas, com uma redução, também aproximada, de 7% (CONAB, 2010).

## **2.2 Anatomia foliar do milho**

Presente em quase todos os vegetais superiores, a folha é um apêndice caulinar, apresentando grande polimorfismo e adaptações a diferentes ambientes e funções.

Este apêndice é constituído basicamente por duas estruturas: bainha e limbo foliar. A bainha é a estrutura que une o limbo foliar ao colmo, sendo responsável principalmente pela proteção do colmo ao ataque de insetos-praga e patógenos. O limbo foliar é uma estrutura formada basicamente pela epiderme e pelo mesófilo (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 1996).

A epiderme é o tecido mais externo dos órgãos vegetais em estrutura primária, estando em contato direto com o ambiente e sujeita a modificações

estruturais (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 1996). Em algumas espécies e, particularmente em *Poaceas*, as células epidérmicas são alongadas longitudinalmente, apresentando grande quantidade de invaginações que ligam uma célula às outras, conferindo um arranjo extremamente compacto e justaposto, sem espaços intercelulares. Estas células são responsáveis pela proteção contra o excesso de radiação solar, através da reflexão dos raios solares, evitando o superaquecimento das células do mesófilo (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Além disso, a epiderme do milho é constituída por numerosos anexos epidérmicos, denominados tricomas tectores, ou não-glandulares, além dos estômatos e das células buliformes (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELO-GUERREIRO, 2006).

Os tricomas tectores ou não-glandulares são anexos epidérmicos presentes em grande quantidade nas folhas de milho. Essas estruturas podem ser unicelulares ou multicelulares, podendo variar em tamanho, forma e espessura da parede celular (SOUZA, 2003). A proteção contra a radiação solar e contra insetos-praga é uma de suas funções primordiais, além de contribuírem para a absorção de água, moléculas e íons da atmosfera (ALQUINI; LOURO, 1990; SOUZA, 2003).

Os estômatos se desenvolvem entre as células comuns da epiderme e possuem células-guardas, na forma de halteres. Os estômatos ocorrem em qualquer parte das plantas, no entanto, são mais abundantes nas folhas, fato altamente relacionado às trocas gasosas, de suma importância para a fotossíntese. Além disso, as folhas das *Poaceas* são anfihipoestomática, ou seja, apresentam estômatos em ambas as faces. Estas células podem variar tanto em número, no que se refere à sua localização na planta, como também sob a influência de características ambientais (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Segundo Esaú (1977), outro aspecto importante nas *Poaceae* é a presença de células buliformes. Estas células estão presentes na face adaxial das folhas, dispostas em fileiras longitudinais, paralelas às nervuras, podendo estar agrupadas numa seção transversal de 2 a 8 células. Denominadas também por células motoras, estão intimamente envolvidas no processo de redução da exposição das folhas à radiação solar, mediante a promoção da curvatura da folha para cima, formando uma espiral. Tal função contribui expressivamente para a redução da taxa transpiratória, em função da menor superfície específica exposta ao sol e pela manutenção de alta umidade na atmosfera do interior da folha curvada em períodos críticos.

Do ponto de vista fisiológico, o mesofilo compõe a parte mais ativa da folha e é formado por células parenquimáticas que abrangem os feixes vasculares, formado por xilema (protoxilema e metaxilema) e floema (protofloema e metafloema). Nos feixes vasculares, o xilema está voltado sempre para a parte adaxial da folha e o floema, para a parte abaxial. Sobretudo, estas estruturas são responsáveis, pelo transporte de água e nutrientes, no caso do xilema, e de fotoassimilados, no que se refere ao floema, estando arranjadas longitudinalmente nas folhas, embora haja intercomunicações entre os vasos condutores de diferentes feixes vasculares (ESAU, 1977).

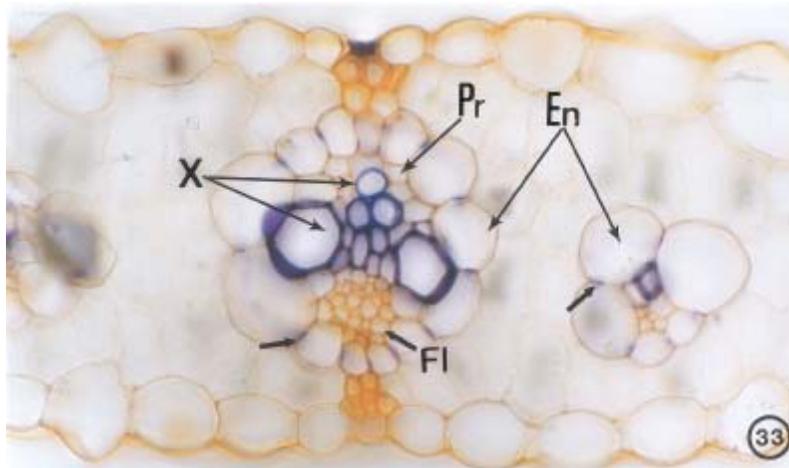


Figura 1 Corte transversal de uma folha de milho, onde se observa as células da bainha do feixe (En) com estrias de Caspary (setas menores). Pr = periciclo; Fl = floema; X = Xilema (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2006)

### 2.3 Anatomia radicular do milho

Raízes tem como funções básicas a absorção e condução de água e solutos, além da fixação do vegetal no substrato. Duas outras funções associadas às raízes são as de armazenamento e condução (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 2007). Como em muitas outras monocotiledôneas, em milho, o sistema radicular é formado por raízes adventícias que, junto as suas raízes laterais, originam o sistema radicular fasciculado (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

As raízes adventícias formam-se a partir de uma porção caulinar e assim não existe um eixo que permite a penetração em camadas mais densas do solo. Esse é um sistema que se desenvolverá nas camadas superficiais do solo com raízes delgadas. Por serem delgadas, estas raízes possuem maior sensibilidade a variações ambientais, podendo ter um ciclo de vida limitado e também estão sujeitas às modificações estruturais (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

Na estrutura anatômica da raiz de uma não dicotiledônea como o milho, é possível distinguir a epiderme, constituída por uma camada de células vivas que reveste a raiz e de crescimento primário (sistema dérmico); no sistema fundamental, a zona cortical, ou córtex, constituída geralmente por células de parênquima e cuja camada mais interna é designada endoderme, formada por células cujas paredes contêm algumas zonas suberificadas; a parte externa da zona cortical, tamb[em designada exoderme, que pode apresentar várias camadas de células compactadas; o cilindro central que inclui o sistema vascular, com uma camada exterior de células em geral parenquimatosas, formando o periciclo, tecidos vasculares feixes de xilema e de floema e, nas raízes desenvolvidas, observa-se a medula zona central da estrutura, preenchida por células parenquimatosas (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 2007).

A partir do ápice, a raiz pode ser subdividida em: coifa, zona meristemática, zona lisa, zona pilífera e zona de ramificação (figura 2).

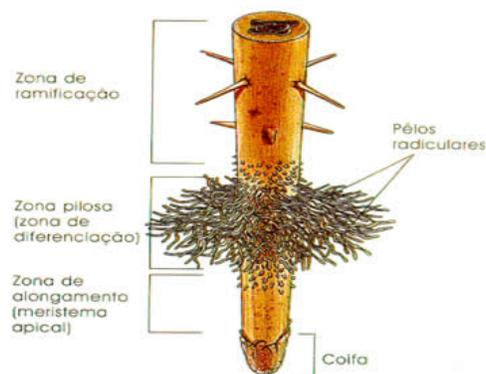


Figura 2 Diagrama ilustrando os estágios iniciais do desenvolvimento primário do ápice da raiz (MUNDO EDUCAÇÃO, 2010)

Em um corte transversal da estrutura primária da raiz, três sistemas de tecido são distintos: dérmico, fundamental e vascular (figura 3). O cilindro

vascular é circundado pelo periciclo e apresenta em seu interior os pólos de xilema e floema que formam o sistema vascular radial. Relativamente às “não dicotiledôneas”, o cilindro vascular em monocotiledôneas e os padrões de distribuição das formas do floema (protofloema e metafloema) são menos regulares, podendo variar muito quanto ao número e distribuição dos feixes no cilindro vascular. Contudo, constantemente estes circundam o cilindro vascular, formando um anel, sendo que o metaxilema pode estar localizada na parte central ou ainda pode estar espalhado ao longo do cilindro (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009).

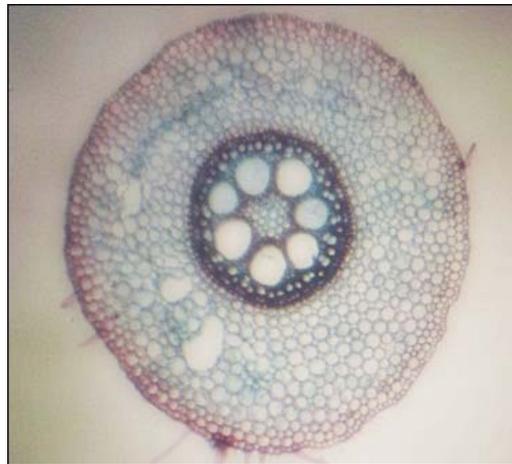


Figura 3 Seção transversal de uma raiz estrutura primária

#### **2.4 Adaptações das plantas ao ambiente**

Durante a história evolutiva das plantas, distintas modificações ambientais direcionaram o desenvolvimento de caracteres adaptativos para as novas condições, com a consequente eliminação das plantas não adaptadas (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 1996).

Entende-se por adaptação a provável interação entre o organismo e o meio, sendo o organismo possível de ser moldado pela seleção natural ou artificial e, se tais caracteres forem herdáveis, poderão se fixar em uma população. Uma vez que as plantas estejam naturalmente ajustadas às novas condições ambientais, todas as características estruturais e funcionais capazes de atender a tal ajustamento serão adaptativas desde que sejam herdáveis (RIZZINI, 1997).

As adaptações podem abranger as partes vegetativas e/ou reprodutivas de um organismo e podem ser classificadas conforme a situação a ser enfrentada. Adaptações que envolvem as partes vegetativas são as que incidem sobre as raízes, o caule e sobre as folhas como, por exemplo, seu tamanho, número de estômatos, quantidade de células buliformes e a espessura da cutícula, entre outras formas de incidência adaptativa (RIZZINI, 1997). Há também adaptações que afetam as partes reprodutivas e cuja ocorrência pode ser verificada nos órgãos reprodutivos da planta, isto é, nas flores, frutos e sementes. Uma das principais adaptações envolvendo os órgãos reprodutivos refere-se à dispersão de sementes.

Fatores morfogenéticos são aqueles que influenciam a estrutura dos vegetais. Portanto, são condições edafoclimáticas capazes de determinar ou modificar a organização vegetal. Embora seja sabido que cada espécie vegetal possua um padrão de desenvolvimento instituído, ou seja, de acordo com seu genótipo, os fatores abióticos possuem expressiva influência, atuando sobre os genes e modificando a sua expressão em múltiplos sentidos. (RIZZINI, 1997).

Em função do ambiente de ocorrência das plantas, estas podem estar mais expostas a modificações por fatores ambientais. Existem genótipos com maior ou menor grau de plasticidade fenotípica, permitindo a ocorrência de seus representantes em ambientes diversos ou não. Por conseguinte, a plasticidade fenotípica é a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia e ou morfologia

em resposta a mudanças nas condições ambientais. Habilidade esta particularmente importante para as plantas, cujo estilo de vida sésstil requer que as mesmas lidem com diferentes condições ambientais. Deve-se lembrar que a plasticidade fenotípica não implica necessariamente adaptação, que pode ser, inclusive, negativa (SCHLICHTING, 1986).

De acordo com a pesquisa realizada por Melo et al. (2007), concluiu-se que é possível aumentar a proporção de tecidos aerenquimáticos no córtex de raízes de *Paspalum paniculatum* L. como consequência da exposição dessa espécie a um ambiente com deficiência hídrica ou inundação. O aumento na proporção de aerênquimas em raízes de plantas em regime de inundação tem sido reportado como estratégia de armazenamento e manutenção da respiração aeróbia do vegetal e, em condições de deficiência hídrica, como estratégia de proteção contra perda de água das células do córtex para o solo.

## **2.5 Estudo do controle genético**

Dentre os vários objetivos alcançados pelo melhoramento de plantas, um dos mais importantes é o aumento da produtividade associada à boa qualidade do produto final designada ao consumo. Estes podem ser obtidos por meio de melhorias na população e ou por meio de modificações ambientais. A grande maioria dos genótipos possui uma expressiva diversidade genética. Sendo assim, possível selecionar e recombinar linhagens que sejam relevantes para um programa de melhoramento. Em certas situações, o melhoramento de plantas é o principal método para se conseguir o aumento na produtividade e ainda possui relevante vantagem em relação à melhoria do ambiente, ou seja, de transmitir as características aos descendentes uma vez que estas sejam hereditárias.

Vários métodos foram desenvolvidos para o estudo de controle genético em função da natureza do caráter, isto é, se são qualitativos ou quantitativos e de

acordo com a espécie estudada, se autógama ou alógama. Os detalhes das metodologias utilizadas são encontrados em vários livros-texto (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; FALCONER, 1981; MATHER; JINKS, 1984; RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993).

No caso do milho, tem-se utilizado com maior frequência os cruzamentos dialélicos e o método proposto por Mather em 1949.

No método de Mather, são utilizadas as linhagens parentais contrastantes fenotipicamente para o caráter analisado. as gerações  $F_1$ ,  $F_2$  e os retrocruzamentos são, então, obtidos e simultaneamente avaliados com as linhagens. Contudo, torna-se necessário avaliar um maior número de indivíduos nas gerações segregantes, em torno de 100 a 200 plantas na geração  $F_2$ ; de 50 a 150 plantas nos retrocruzamentos e, nas gerações dos pais e da  $F_1$ , em torno de 20 a 40 plantas, pois não se observam grandes variações nessas gerações (LIMA, 2006).

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos são de grande valia no melhoramento de plantas, auxiliando os melhoristas na tomada de decisões a respeito do método de melhoramento a ser empregado e do modo de condução e de seleção nas populações segregantes a ser seguido. A obtenção dessas estimativas colabora para que o melhoramento de plantas permita aos melhoristas avaliar as probabilidades de sucesso no programa com antecedência (CARNEIRO, 2009).

Essas estimativas podem ser conseguidas utilizando-se componentes de médias e/ou variâncias (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993). O emprego da variância é preferido, uma vez que o uso de médias pode induzir a conclusões errôneas, pois o que se obtém no final é uma soma algébrica dos efeitos de cada um dos locos em separado e, se os dominantes estiverem atuando em sentido contrário nos vários locos, o resultado final pode ser não significativo ou nulo. O mesmo não é notado quando se faz o uso da variância,

pois os efeitos individuais de cada loco são elevados ao quadrado. A variância também permite que sejam estimados a herdabilidade e o ganho esperado com a seleção. Por isso, muitas vezes, ela tem sido preferida, mesmo que sua estimação seja mais difícil, ou seja, suas estimativas estão sujeitas a mais erros experimentais, quando comparadas à estimativas de médias (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992).

A essência do estudo da variação de um caráter é reparti-la em componentes de variação que podem ser atribuídos a fatores distintos. A grandeza relativa desses componentes de variância determina as propriedades genéticas da população para um determinado caráter (FALCONER, 1996). Todavia, do ponto de vista estatístico, componentes de variância são variâncias associadas aos efeitos aleatórios de um modelo matemático (BARBIN, 1993).

A estimativa da herdabilidade pode ser utilizada para separar diferenças genéticas e não genéticas entre indivíduos de uma população. Desta forma, é possível estimar os ganhos genéticos a cada ciclo de seleção e, dentre os métodos de seleção, escolher o mais adequado a ser aplicado. Esta estimativa é decomposta em duas outras, no sentido amplo e no sentido restrito, de maneira a atender a ambos os sentidos admissíveis para hereditariedade (FALCONER, 1996).

Estudos do controle genético de caracteres relacionados ao milho têm sido frequentes na literatura. Entretanto, não existem trabalhos que se refiram ao controle genético do enrolamento do limbo foliar. Deste modo, estudos que busquem esclarecer os fatores que afetam esse caráter são importantes para os programas de melhoramento que visam ao desenvolvimento de cultivares com características agronômicas superiores.

### 3 CONCLUSÕES

A linhagem LE possui potencial para ser utilizada como fonte de germoplasma para melhoramento sob condições de BDA por apresentar plasticidade morfológica para as seguintes características: número de estômatos; índice estomático; células buliformes; espessura das fibras de esclerênquima; espessura do mesofilo e das paredes anticlinais.

A caracterização anatômica radicular dos dois acessos de milho nos permitiu concluir que o acesso LE possui características que favorecem à adaptação a ambientes sob BDA.

A decomposição não-ortogonal da soma dos quadrados dos parâmetros avaliados mostrou que a variabilidade genética presente em  $F_2$  deveu-se aos efeitos gênicos aditivos. As estimativas dos componentes de variância mostraram que o efeito aditivo em relação aos de dominância foi expressivo, caracterizando interação alélica aditiva.

O enrolamento do limbo foliar possui controle oligogênico, sendo assim um caráter de fácil seleção.

Os resultados evidenciam que há possibilidade de obtenção de genótipos homozigóticos superiores e que os ganhos nos ciclos de seleção serão satisfatórios, uma vez que o componente de natureza aditiva é predominante na expressão do caráter.

## REFERÊNCIAS

- ALLARD, R. W. **Princípio do melhoramento genético das plantas**. Rio de Janeiro: USAID, 1971. 381 p.
- ALQUINI, Y.; LOURO, R. P. The ultrastructural analysis of the leaf of *Musa rosacea* Jacq. (Musaceae). In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BOTÂNICA, 1., 1990, Caracas. **Anais...** Caracas: SLAB, 1990. p. 23.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 438 p
- BARBIN, D. **Componentes de variância: teoria e aplicações**. Piracicaba: FEALQ, 1993. 120 p.
- CARNEIRO, F. F. **Genética da resistência do feijoeiro ao mofo branco e uso do retrocrusamento assistido por marcadores microssatélite**. 2009. 97 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 243 p.
- CAVALLI, L. An analysis of linkage in quantitative inheritance. In: REEVE, E. C. R.; WADDINGTON, C. H. (Ed.). **Quantitative inheritance**. London: HMSO, 1952. p. 135-144.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: intenção de plantio primeiro levantamento, outubro/2010**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 1 nov. 2010.
- DUARTE, J. de O. **Introdução e importância econômica do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA e Milho e Sorgo, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/importancia.htm>>. Acesso em: 2 nov. 2010.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. New York: J. Wiley, 1977. 550 p.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1981. 279 p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Essex: Longmans Green, 1996. 480 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Coarse grains production in 2008 to rise above last year's peak**. Rome, 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/010/ai466e/ai466e04.htm>>. Acesso em: 25 ago. 2010.

JORDAN, W. R. Whole plant response to water deficit: an overview. In: TAYLOR, H. M.; JORDAN, W. R.; SINCLAIR, T. R. **Limitations to efficient water use in crop production**. Madison: ASA; CSSA; SSA, 1983. p. 289-317.

LIMA, L. J. **Controle genético do florescimento em milho**. 2006. 66 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

LUNA, S. S. et al. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for 84 effective pollen control. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 5, p. 1551-1557, Sept./Oct. 2001.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MATHER, K.; JINKS, L. L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242 p.

MELO, H. C. et al. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 145-153, jun. 2007.

MUNDO EDUCAÇÃO. **Raízes de dicotiledôneas e monocotiledôneas**. Disponível em: <<http://www.mundoeducacao.com.br/biologia/raizes-dicotiledoneas-monocotiledoneas.htm>>. Acesso em: 10 set. 2010.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 75-87, 2005

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos do milho para o Brasil. In: UDRY, C. V.; DUARTE, W. **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000. p. 1-41.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EECHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 510 p.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 517 p.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1997. 747 p.

SANGOI, L. et al. Base morfológica para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, p. 101-110, 2002.

SCHLICHTING, C. D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecological and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 667-693, Sept. 1986.

SOUZA, L. A. **Morfologia e anatomia vegetal: células, tecido, órgãos eplântula**. Ponta Grossa: UEPG, 2003. 259 p.

SOUZA JÚNIOR, C. L. de. **Componentes da variância genética e suas implicações no melhoramento vegetal**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 134 p.

STEFANO, F.; SALGADO, E. **O desafio de alimentar 6 bilhões de pessoas**. Disponível em:  
<[http://planetesustentavel.abril.com.br/noticia/desenvolvimento/conteudo\\_282859.shtml](http://planetesustentavel.abril.com.br/noticia/desenvolvimento/conteudo_282859.shtml)>. Acesso em: 10 out. 2010.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VILARINHO, A. A. **A importância do melhoramento genético na cultura do milho.** Disponível em:  
<<http://www.universia.com.br/materia/materia.jsp?id=8315>>. Acesso em: 18 set. 2010.

ZAIDI, P. H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N. N. Response of maize (*Zea mays* L.) genotypes to excess soil moisture stress: morpho-physiologogycal effects and basis of tolerance. **European Journal Agronomy**, Amsterdam, v. 19, n. 3,p. 383-399, July 2003.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1**

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS FOLIARES E SEU PAPEL NO  
ENROLAMENTO FOLIAR EM MILHO**

**Artigo redigido conforme norma da Revista Pesquisa Agropecuária  
Brasileira**

## **Características anatômicas foliares e seu papel no enrolamento foliar em milho**

**Geovana Cremonini Entringer<sup>1</sup>, Samara Arcanjo e Silva<sup>1</sup>, Leandro de Oliveira Lino<sup>1</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>1</sup> e João Cândido de Souza<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Campus Universitário, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG.

E-mail: geocremonini@yahoo.com.br, samara.arcanjo@yahoo.com.br, leanlino@yahoo.com.br, emcastro@ufla.br, cansouza@ufla.br

Resumo - Características anatômicas podem ser modificadas em função de mutação gênica e/ou efeito ambiental. No entanto, especificamente no caso do milho, algumas linhagens possuem o limbo foliar enrolado, mesmo em condições ótimas de umidade. Em vista dessa característica, essas linhagens de milho podem contribuir para programas de melhoramento que visam à obtenção de cultivares adaptadas a estresses causados por baixa disponibilidade de água (BDA). Sendo assim, este trabalho teve como objetivo comparar a anatomia morfológica das folhas entre duas linhagens de milho e investigar que estruturas são responsáveis pelo enrolamento permanente do limbo foliar. Os seguintes caracteres foram mensurados: diâmetro polar dos estômatos, densidade estomática; índice estomático; espessura da epiderme adaxial e adaxial; espessura do mesofilo e da cutícula; número; diâmetro polar e distância entre os feixes das células buliformes; espessura das fibras para verificar possíveis modificações e suas relações de estrutura e função. Esse enrolamento parece estar relacionado a uma menor quantidade de células buliformes e de fibras de esclerênquima na linhagem com limbo foliar enrolado, com potencial para ser utilizada como fonte de germoplasma para melhoramento sob condições de BDA.

Termos para indexação: *Zea mays*, tolerância a estresse abióticos, anatomia.

### **Leaf anatomical characteristics and its role in maize leaf rolling**

Abstract - Anatomical characteristics can be modified by mutation and / or environmental effects. There are corn lines which have the curled leaf in optimal conditions of humidity; they could contribute to breeding programs for cultivars adapted to stress low water availability (LWA). This study aimed to compare morph anatomical leaves between two maize lines in order to elucidate which structures are responsible for the leaf curl permanent. We measured the following traits: polar diameter of the stomata, stomata density, stomata index, thickness, epidermis and adaxial mesophyll thickness and cuticle, number, polar diameter and distance between the beams bulliform cells, and thickness of the fibers, for checking possible changes and their relationship of structure and function. This winding seems to be related with a smaller amount of buliforms cells and sclerenchyma fibers in line with curled leaf and this line has potential to be used as a source of germplasm for improvement under conditions LWA.

Index terms: Zea mays, abiotic stress tolerance, anatomy

## Introdução

A cultura do milho destaca-se por seu alto valor econômico, constituindo, de forma relevante, parte da dieta básica humana e animal, sendo sua produção potencialmente significativa para o mundo. Estima-se que este cereal participe como matéria-prima de aproximadamente 600 produtos (Pinazza, 1993). Como base alimentar humana, tem importância crescente em extensas regiões do Brasil e do mundo (Souza & Braga, 2004).

Contudo, sabe-se que as plantas cultivadas estão expostas constantemente a estresses abióticos que afetam diretamente a produção. Dentre esses, destacam-se períodos de seca decorrentes de precipitações irregulares e veranicos (Pinto et al., 2008). Alterações nas relações hídricas são de suma importância, pois mesmo pequenas modificações nas condições hídricas podem reduzir o crescimento da planta, ainda que não se observem as respostas típicas das plantas nessas condições, como a murcha e enrolamento das folhas (Silva et al., 2008).

Em milho, por exemplo, sobretudo no período crítico da cultura -- do pendoamento ao enchimento de grãos, a disponibilidade de água pode provocar modificações no comportamento vegetal cuja irreversibilidade vai depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta (Santos & Carlesso, 1998).

Os fatores ambientais também influenciam diretamente a morfologia foliar, que se destaca nas relações com a produção vegetal (Castro et al., 2009).

Por exemplo, as células estomáticas são formadas depois de uma sequência de divisões assimétricas que ocorrem durante o desenvolvimento da folha. Assim, a densidade estomática e a distribuição dos estômatos na superfície das folhas são regulados geneticamente

durante esse período (Nadeau & Sack, 2002). No entanto, a ontogenia dos estômatos responde a fatores ambientais como intensidade de radiação, temperatura, disponibilidade hídrica, dentre outros (Chen et al., 2001).

O milho vem sendo exaustivamente estudado e melhorado (SANGOI *et al.*, 2002). Durante uma das avaliações experimentais do programa pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA, estudantes e professores observaram que dentre diversas progênies de milho, uma se destacava pelo seu fenótipo diferenciado. Esta possuía o enrolamento permanente do limbo foliar.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo a caracterização morfoanatômica foliar de dois acessos de milho do banco de germoplasma da UFLA/DBI: LE – linhagens com as folhas enroladas e L5 – linhagem com as folhas normais, a fim de verificar quais as estruturas responsáveis pelo enrolamento permanente do limbo foliar.

### **Materiais e Métodos**

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no município de Lavras, localizado na região Sul de Minas Gerais. O local apresenta altitude de 910 metros e coordenadas geográficas de 21°58' de latitude Sul e 45°22' de longitude Oeste.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), onde cada parcela foi composta por uma planta. Foram plantados vasos de 3,5 litros, preenchidos previamente com substrato comercial, cinco plantas com o limbo foliar normal (L5) e cinco plantas com o limbo foliar enrolado (LE). Os tratos culturais foram os mesmos recomendados para a cultura da região (Fancelli & Dourado Neto, 2000).

As amostras foram colhidas, quando as plantas estavam no estágio V2 de desenvolvimento. Foram coletados fragmentos na região mediana de duas folhas de cada vaso, os fragmentos foram fixados em F.A.A. 70, por 48 horas e posteriormente preservados em etanol 70%, até a data das análises (Johansen, 1940), que foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Amostras coletadas entre o bordo e a nervura central na região mediana foram seccionadas em cortes transversais e paradérmicos. Os mesmos foram submetidos ao processo de clarificação com hipoclorito de sódio a 50% e posteriormente reidratados. Os cortes paradérmicos foram corados com safranina; os transversais, corados com safrablau (safranina-azul de Astra), sendo estes montados em lâminas semi-permanentes com glicerina a 50% (Kraus & Arduin, 1997).

Utilizou-se microscópio de luz acoplado a uma câmara digital, com a qual foram obtidas microfotografias das seções. Essas foram utilizadas para as medições das características anatômicas, pelo software de análise de imagem Imagetool, calibrado com régua microscópica, fotografadas nos mesmos aumentos das fotografias.

Foram mensurados os seguintes caracteres: diâmetro polar dos estômatos (DP); densidade estomática (DE); índice estomático (IE); espessura da epiderme adaxial (EAD); espessura da epiderme abaxial (EAB); espessura do mesofilo (MF); espessura da cutícula (CT); número de células buliformes em uma distância de 4 mm do limbo foliar (NCB); diâmetro polar das células buliformes (DPCB); distância entre os feixes (DF); número de feixes em uma distância de 4 mm (NFCB), espessura das fibras (FB).

Quanto à sua normalidade, os dados foram testados pelo teste de Shapiro-Wilk e, quanto à homocedacidade, pelo teste de Lavene. Ambos os

testes apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. Utilizou-se a análise de variância para as análises estatísticas dos resultados.

### **Resultados e Discussão**

Os caracteres diâmetro polar (DP), densidade estomática (DE) e índice estomático (IE) das linhagens avaliadas estão apresentados na Tabela 1. Como pode ser observado, houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) em todos os caracteres avaliados, exceto para o diâmetro polar.

O caráter diâmetro polar é um indicador do tamanho do estômato. O diâmetro dos estômatos pode variar em função de fatores ambientais e também pelo genótipo do indivíduo. Estômatos menores podem reduzir a transpiração, conferindo às plantas de folha enrolada características de tolerância ao estresse hídrico (Castro et al., 2009). Entretanto, não há indicativos de redução no tamanho dos estômatos entre essas duas linhagens.

As menores médias observadas para DE na face abaxial ocorreram nas plantas de folhas enroladas (LE), sendo 25,99% menores que a linhagem L5. (Tabela 1 e Figura 1). A face adaxial exibiu resultados semelhantes, com os valores 19,43% inferiores à L5 (Tabela 1). A DE está diretamente relacionada às características de trocas gasosas foliares e, dessa forma, tem influência na transpiração e na captação de  $CO_2$  (Castro et al., 2009). Esse caráter pode variar em relação aos fatores ambientais como o alagamento e o estresse hídrico (Grisi et al., 2008). Assim como o diâmetro polar, a menor densidade estomática das folhas do fenótipo com folha enrolada denota características de tolerância ao estresse hídrico.

Na face abaxial, o IE foi mais baixo no fenótipo com folha enrolada (Tabela 1). O valor encontrado para a LE é, em média, 15,34% inferior em relação à L5. Esse comportamento foi semelhante ao encontrado na face adaxial

das folhas (Tabela 1). O índice estomático representa o investimento da planta na produção de estômatos em relação à produção total de células epidérmicas (Castro et al., 2009) e pode variar também em função de fatores ambientais e/ou genéticos.

A linhagem com folhas enroladas parece exibir um menor número de estômatos e uma menor porcentagem de células epidérmicas que se diferenciarão em células estomáticas, corroborando os dados da densidade estomática encontrados para esse genótipo e demonstrando adaptação para uma redução na quantidade de estômatos, reduzindo, dessa forma, a transpiração.

Tabela 1 Índice estomático (IE), diâmetros polares dos estômatos (DP) e densidade estomática (DE) na epiderme abaxial e adaxial de folhas de milho

<i>Tratamentos</i>	<i>Diâmetro Polar</i>		<i>Densidade Estomática</i>		<i>Índice Estomático</i>	
	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial
	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}^2$ )
LE	43,23	40,41	31,43*	28,61*	17,10*	13,49*
L5	43,37	42,40	42,47*	35,51*	20,20*	17,10*

\*significativo com 5% de probabilidade pelo teste F.

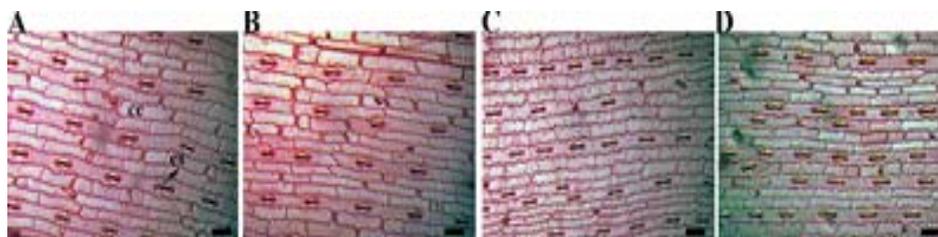


Figura 1 Seções paradérmicas de duas linhagens de milho (LE e L5) A: linhagem com folhas enroladas (LE), face abaxial; B: linhagem com folhas enroladas (LE), face adaxial; C: linhagem com folha normal (L5), face abaxial; D: linhagem com folha normal (L5), face adaxial; es: estômato; ce :célula epidérmica. Barras: 50  $\mu$ m

Para os caracteres avaliados nas Seções transversais, houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ).

As espessuras das epidermes abaxial (EAB) e adaxial (EAD) podem estar relacionadas às diversas propriedades fisiológicas da folha. Entretanto, a espessura das células regulares desse tecido parece não estar relacionada à curvatura das folhas observadas em LE, uma vez que não foram verificadas diferenças significativas para esse caráter.

A espessura do mesofilo (MF) exibiu valores 18,84% superiores em LE comparados às espessuras do mesofilo em L5 (Tabela 2 e Figura 2). O mesofilo mais espesso pode estar relacionado à maior formação de clorênquima nas folhas, pois, com o mesofilo homogêneo, um investimento em espessura pode se relacionar a um aumento na quantidade de células fotossintéticas, no intuito de aproveitar a radiação incidente, que é reduzida com o enrolamento da folha, já que a área foliar se reduz nessa situação.

Na figura 1, pode-se observar que nas microfotografias das seções da LE (A e B), as células ordinárias da epiderme exibem paredes anticlinais sinuosas menos acentuadas, quando comparada às da L5 (C e D). De acordo com Castro et al, (2009), cultivares que exibem paredes anticlinais mais acentuadas, aumentam a superfície de captação de energia luminosa. Entretanto, essa

redução exibida pela LE não reduz sua eficiência na absorção de energia, pois como visto anteriormente, esta linhagem possui um mesofilo mais espesso e, conseqüentemente, maior investimento em parênquima clorofiliano. Além disso, por serem menos sinuosas, as paredes anticlinais são mais espessas, o que contribui para a redução da perda de água.

A espessura da cutícula (CT) foi reduzida em 20,15% nas folhas da linhagem LE em comparação à L5 (Tabela 2 e Figura 2). Essa redução pode estar relacionada à maior exposição das folhas de L5 à radiação, pois possuem uma maior área foliar e, dessa forma, uma maior área de incidência da radiação.

Portanto, a maior CT está relacionada a uma restrição à transpiração (Riederer & Müller, 2006). Esse fato ilustra que as folhas de LE podem reduzir a transpiração com seu enrolamento e, assim, não investem tanto na cutícula. Podem formar um microambiente entre as faces enroladas que permitem reter mais água e reduzir a transpiração de forma semelhante à que ocorre em criptas estomáticas.

O número de células buliformes (NCB) foi 22,35% superior nas folhas de L5 em comparação a LE (Tabela 2 e Figura 2). Ocorreram ainda valores 6,06% superiores no diâmetro polar das células buliformes (DPCB) em L5, configurando células maiores nessa linhagem, comparativamente a LE. De acordo com Esau (2000), tanto o dobramento quanto o enrolamento das folhas estão associados à atuação de células motoras; as células buliformes. Apesar de não haver diferenças em relação à distância entre os conjuntos de células buliformes (DCCB) e quanto ao número de conjuntos de células buliformes (NCCB), em ambas as características, foram observados valores ligeiramente menores em LE (Tabela 2 e Figura 2). A espessura das fibras (FB) foi 27,92% superior em L5 em comparação a LE (Tabela 2).

Esses dados permitem fazer inferências sobre o papel das células buliformes nas plantas com o fenótipo enrolado, sendo que, em LE, as células

buliformes ocorreram em menor número e em tamanho menor, comparadas às de L5. Portanto, pode-se observar que uma maior quantidade de células buliformes e o seu maior tamanho promovem uma abertura maior da lâmina foliar, expondo uma área foliar maior em L5. Os menores valores dessas características observados em LE explicam as dificuldades que as plantas dessa linhagem têm em promover a abertura da lâmina foliar e, dessa forma, permanecerem enroladas ao longo de todo o dia.

Em relação à LE, outro fator que pode ter influenciado no enrolamento da folha foi a maior espessura das fibras de esclerênquima da L5, podendo dificultar o enrolamento dessas folhas. Na linhagem com menor quantidade de fibras (LE), o enrolamento pode ser facilitado e, em L5, com a maior quantidade de fibras, o enrolamento é dificultado e mais energia seria necessária para promover o enrolamento.

Tabela 2 Diferenças nas características anatômicas de duas linhagens de milho

<i>Características</i>	<i>LE</i>	<i>LI</i>
EAD ( $\mu\text{m}$ )	28,30	29,48
EAB ( $\mu\text{m}$ )	17,32	16,68
MF ( $\mu\text{m}$ )	136,45*	114,82*
CT( $\mu\text{m}$ )	8,36*	10,47*
NCB( $\mu\text{m}$ )	16,5*	21,25*
DPCB( $\mu\text{m}$ )	73,19*	77,91*
DCCB( $\mu\text{m}$ )	0,60	0,66
NCCB( $\mu\text{m}$ )	5,58	5,97
FB( $\mu\text{m}$ )	35,43*	49,16*

EAD: espessura da epiderme adaxial, EAB: espessura da epiderme abaxial, MF: espessura do mesofilo, CT: espessura da cutícula, NCB: número de células buliformes em uma distância de 4 mm do limbo foliar, DPCB: diâmetro polar das células buliformes, DF: distância entre os conjuntos de células buliformes, NCCB: número de conjuntos de células buliformes em uma distância de 4 mm, FB: espessura das fibras. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

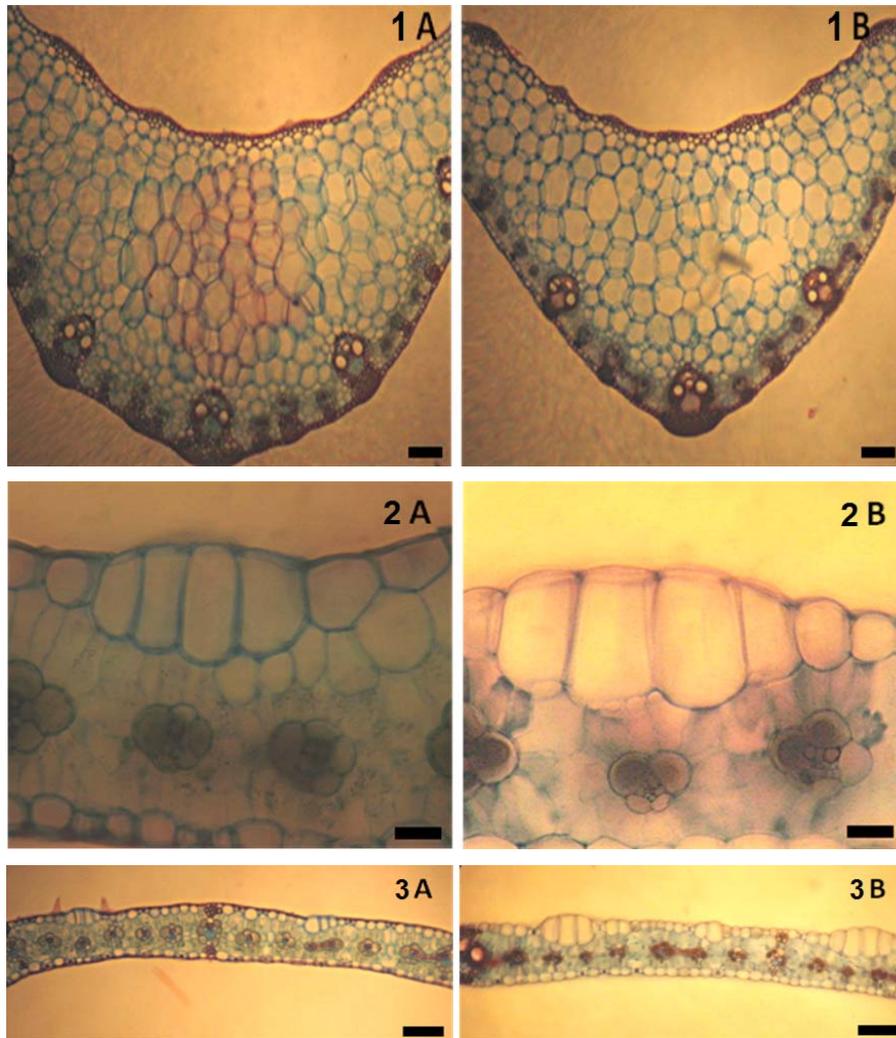


Figura 2 Seções transversais da nervura central (1A e 1B) barra = 100 $\mu$ m, mesofilo (2A e 2B) barra = 30 $\mu$ m e região da lâmina foliar (3A e 3B) barra = 100 $\mu$ m, de duas linhagens de milho, sendo: LE, com o limbo foliar enrolado (A), e L5, com o limbo foliar normal (B)

### **Conclusões**

A linhagem LE possui potencial para ser utilizada como fonte de germoplasma para melhoramento sob condições de BDA por apresentar plasticidade morfológica para as seguintes características: número de estômatos; índice estomático; células buliformes; espessura das fibras de esclerênquima; espessura do mesofilo e das paredes anticlinais.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

### **Referências bibliográficas**

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.

CHEN, L.Q.; CHALONER, W.G.; BEERLING, D.J.; SUN, Q.G.; COLLINSON, M.E.; MITCHELL, P.L. The stomatal frequency of extant and fóssil Ginkgo leaves os biosensors of atmospheric co<sub>2</sub> levels. **American Journal of Botany**, v.88, n.7, p.1309-1315, June 2001.

DURÃES, F.O.M. **Fenotipagem associada a tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores**. Sete Lagoas: Embrapa, 2004. (Circular técnica, 39).

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. 15<sup>a</sup> reimpressão. São Paulo, Edgard Blucher, 293p, 2000.

FANCELLI, A. L. & NETO, D. D., **Produção de Milho**.: Agropecuária, Guaíba, 360p, 2000.

GRISI, F.A.; ALVES, J.D.; CASTRO, E.M.; OLIVEIRA, C.; BIAGIOTTI, G.; MELO, L.A. Avaliações anatômicas foliares em mudas de café ‘Catuai’ e ‘Siriema’ submetidas ao estresse hídrico. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.6, p.1730-1736, 2008.

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

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 300p.

NADEAU, J.A.; SACK, F.D. Control of stomatal distribution on the Arabidopsis leaf surface. **Science**, v.296, n.5573, p.1697-1700, June 2002.

PINAZZA, L.A. Perspectivas da cultura do milho e do sorgo no Brasil. In: BULL, L.T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1993. p.1-10.

PINTO, C.M.; TÁVORA, F.J.F.A.; BEZERRA, M.A.; CORRÊA, M.C.M. Crescimento, distribuição do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiência hídrica. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.3, p.429-436, 2008.

RIEDERER, M.; MULLER, C. Biology of the plant cuticle. **Annual Plant Reviews**, v.23, p.45-46, 2006.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SILVA, C.A. et al. Produtividade e potencial hídrico foliar do cafeeiro ‘Catuai’ em função da época de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.1, p.21-25, 2008.

SOUZA, P.M. de; BRAGA, M.J. Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. (Ed.). **Tecnologia de produção do milho**. 20.ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v.1, p.13-53.

Versão preliminar do artigo.

**ARTIGO 2**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA RADICULAR EM DUAS  
LINHAGENS DE MILHO**

**Artigo redigido conforme norma da revista Pesquisa Agropecuária  
Brasileira**

## **Características anatômicas radiculares em duas linhagens de milho**

**Geovana Cremonini Entringer<sup>1</sup>, Samara Arcanjo e Silva<sup>1</sup>, Cynthia de Oliveira<sup>1</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>1</sup> e João Cândido de Souza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Campus Universitário, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG.

E-mail: geocremonini@yahoo.com.br, samara.arcanjo@yahoo.com.br, cyntia\_ufla@yahoo.com.br, emcastro@ufla.br, cansouza@dbi.ufla.br.

Resumo - O valor econômico do milho pode ser atribuído à sua forma ampla e diversa de utilização. Em função disso, o milho vem sendo estudado e melhorado desde a sua domesticação até os dias atuais. Há linhagens de milho que possuem o limbo foliar enrolado mesmo em condições ótimas de umidade, sendo que estas linhagens podem contribuir para programas de melhoramento que visam à obtenção de cultivares adaptadas a estresses causados por baixa disponibilidade de água (BDA). Este trabalho teve como objetivo caracterizar a anatomia radicular de dois acessos de milho do banco de germoplasma a fim de caracterizá-las e relacioná-las às suas possíveis funções. Para isto, foram mensurados os seguintes caracteres: espessura da epiderme e da endoderme; diâmetro da raiz; espessura do córtex; diâmetro da célula do metaxilema; número de metaxilema; diâmetro do cilindro vascular, além do índice de vulnerabilidade de Carlquist, para verificar possíveis modificações e suas relações estruturais e funcionais. As análises comparativas das características anatômicas revelaram características relevantes na linhagem com limbo foliar enrolado, portanto com potencial para ser utilizada como fonte de germoplasma para melhoramento sob condições de BDA.

Termos para indexação: *Zea mays*, tolerância a estresse abióticos, anatomia.

### **Root anatomical characteristics in two maize lines**

Abstract - The economic value of corn is due to different forms of use. Then, corn is being studied and improved since its domestication. There are corn lines which have the curled leaf in optimal conditions of humidity and they could contribute to breeding programs aimed to obtaining cultivars adapted to stress by low water availability (LWA). This study aimed to characterize the anatomic root of two accessions of maize to define and relate them to their possible functions. For this, we measured the following traits: thickness of epidermis and endodermis, root diameter, cortex thickness, diameter of metaxylem cell, number of metaxylem, diameter of vascular cylinder, and the index of vulnerability Carlquist, to investigate possible changes and their relationship to structure and function. Comparative analysis of the anatomical features shown traits related to lines with curled leaf, and this has the potential to be used as a source of germplasm for breeding under conditions of LWA.

Index terms: Zea mays, abiotic stress tolerance, anatomy.

## Introdução

O valor econômico do milho (*Zea mays* L. spp *mays*) deve-se, principalmente, à sua forma ampla e diversa de utilização. Assim, em razão de sua relevância socioeconômica, o milho vem sendo estudado e melhorado desde a sua domesticação até os dias atuais.

Nos últimos períodos, grande parte da população mundial passou a comprar seus alimentos em vez de plantá-los. A estabilização entre a oferta e a demanda por alimentos passa, necessariamente, por um aumento da produtividade e/ou da área agricultável. Diante desse cenário, o Brasil surge como um país estratégico, por contar com a maior fronteira agrícola do mundo. Porém, algumas incertezas estão se delineando para o futuro próximo, com os possíveis cenários relacionados às mudanças climáticas, decorrentes do fenômeno chamado aquecimento global (Stefano & Salgado, 2010).

Diante dessas perspectivas, disponibilizar genótipos produtivos e com características de tolerância a estresses abióticos -- especialmente ao estresse causado por baixa disponibilidade de água (BDA) -- é um desafio contínuo para os programas de melhoramento, pois esta é a maior fonte de instabilidade da produção de grãos de milho e outros cereais em áreas tropicais. Além disso, a herdabilidade para a característica produção de grãos é baixa. Portanto, genótipos melhor adaptados e com maior rendimento poderiam ser mais eficientes se os atributos que conferem rendimento sob condições limitantes de água pudessem ser identificados e usados como critérios de seleção (Durães, 2004).

Adaptações são resultados de interações genótipos por ambientes. O genótipo corresponde à constituição genética que determina a direção geral do desenvolvimento do organismo. Todavia, esse desenvolvimento pode ser influenciado por condições ambientais às quais o organismo em

desenvolvimento está exposto. Como resultados da ação das condições ambientais, as características morfológicas e fisiológicas previamente definidas pelo genótipo podem ser modificadas, expressando um fenótipo particular. Por conseguinte, a determinação genética e os fatores ambientais agem em conjunto no desenvolvimento do indivíduo. Organismos com plasticidade fenotípica têm vantagens sobre aqueles que são menos adaptáveis e com isso possuem maior chances de sobrevivência no ambiente (Castro et al., 2009).

Sendo assim, observa-se a estreita relação existente entre a morfologia externa e interna da planta com a sua fisiologia e ecologia. Cada tipo de adaptação nos órgãos, tecidos, células, ou mesmo expressão de genes está relacionada a uma função que poderá prover benefícios ao organismo, aumentando sua adaptabilidade e estabilidade. Sendo assim, não é aconselhável dissociar a estrutura e a função de uma planta, se desejamos compreender de forma mais holística a biologia desta planta (Castro et al., 2009).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo a caracterização anatômica radicular de dois acessos de milho do banco de germoplasma da UFLA/DBI a fim de caracterizá-la e relacioná-la com suas possíveis funções.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no município de Lavras, localizado na região Sul de Minas Gerais. O local apresenta altitude de 910 metros e coordenadas geográficas de 21°58' de latitude Sul e 45°22' de longitude Oeste. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), onde cada parcela foi composta por uma planta. Foram semeadas em vasos de 3,5 litros preenchidos previamente com substrato comercial, cinco plantas com o limbo foliar normal (L5) e cinco plantas com o

limbo foliar enrolado (LE). Os tratos culturais foram os mesmos recomendados para a cultura na região (Fancelli & Dourado Neto, 2000).

As amostras foram colhidas quando as plantas estavam no estágio V2 de desenvolvimento. Para as análises do sistema radicular, todas as plantas foram coletadas inteiras, retirando-se os blocos de substrato, sendo posteriormente lavadas em água corrente. Cinco raízes completas foram amostradas aleatoriamente em cada planta da parcela. As mesmas foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (FAA70) (Johansen, 1940) por 48 horas e, em seguida, preservadas em etanol 70% até a data das análises. As raízes foram cortadas a  $4 \pm 0,5$ cm a partir do ápice radicular. Os fragmentos de raízes foram utilizados para a realização das seções transversais em micrótomo de mesa. Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 5% por 10min, reidratados por 10min, corados com safrablau (solução de 30 ml de safranina a 0,1% e 70 ml de azul de Astra a 1%) e montados em lâminas com glicerina 50% (Kraus & Arduin, 1997).

Utilizou-se microscópio de luz acoplado a uma câmara digital, com a qual foram obtidas fotomicrografias das seções. Essas foram utilizadas para as medições das características anatômicas, pelo software de análise de imagem Imagetool, calibrado com réguas microscópicas, fotografadas nos mesmos aumentos das fotomicrografias.

As características anatômicas mensuradas foram: espessura da epiderme (EP); espessura da endoderme (EN); diâmetro da raiz (DM); espessura do córtex (EC); diâmetro da célula do metaxilema (DX); número de metaxilema (NX); diâmetro do cilindro vascular (DC) e o índice de vulnerabilidade de Carlquist (IV). Para a determinação das médias, foram realizadas quatro medições de cada característica anatômica, em cada repetição. O IV foi calculado com base na divisão da média do diâmetro dos vasos pelo número de vasos.

Quanto à normalidade, os dados foram testados pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedacidade, pelo teste de Lavene. Ambos os testes apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. Realizou-se a análise de variância e o teste F foi usado para classificar as médias dos dois tratamentos.

### **Resultado e Discussão**

De acordo com a análise anatômica radicular, pode-se inferir que não ocorreu diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) para a espessura da endoderme (EN). No entanto, para os demais caracteres anatômicos mensurados, houve diferenças.

A formação da endoderme está associada ao estresse por baixa disponibilidade de água (BDA) e pode estar agindo concomitantemente com a redução da capacidade hidráulica da planta nestas condições, demonstrando ser um fator significativo para a preservação de água nas plantas em tais condições. Entretanto, esta característica não diferiu significativamente para as linhagens avaliadas.

A espessura da epiderme (EP) foi maior, em média em LE 9,70%, quando comparada à de L5 (tabela1). Esse acréscimo é uma característica que favorece a linhagem, conferindo-lhe o fenótipo folha enrolada, pois forma uma barreira contra a entrada de microorganismos patogênicos (Esaú, 1974) e, também, contra a entrada de substâncias tóxicas presentes em solo sob estresse hídrico (Kozlowski, 1997).

A espessura do córtex (EC) apresentou valores 10,95% inferiores na LE quando comparado à de L5 (tabela1). O córtex das plantas sob condições de BDA pode ser modificado quanto ao seu diâmetro ou ainda modificações estruturais. Nas condições de BDA, as células corticais sofrem uma redução em

seu turgor, ficando então menores e isto pode ocasionar a redução na espessura do córtex. Deste modo, é possível relacionar a redução na EC à redução do potencial hídrico dessas raízes, o que poderia auxiliar a planta a suportar tais condições ambientais.

O diâmetro da raiz (DM) exibiu valores 16,88% inferiores na LE, comparado ao de L5 (tabela 1 e figura 1). A literatura relata que existe uma correlação negativa entre o diâmetro da raiz e a condutividade hidráulica em condições de BDA (Castro et al., 2009).

O diâmetro do metaxilema (DX) apresentou valores 21,06% menores na LE, comparado ao de L5 (tabela 1). O número de metaxilema (NX) apresentou, em média, uma redução de 6,70% em LE, relativamente ao de L5 e, corroborando com os demais resultados, o diâmetro do cilindro vascular (DC) apresentou valores, em média, 10,46% menores na LE, quando comparado aos de L5 (tabela 1 e figura 1).

A presença de vasos numerosos e estreitos, de elementos vasculares curtos e de pontuações intervasculares pequenas tem sido interpretada como uma estratégia do xilema secundário para garantir a segurança da condutividade hidráulica em ambientes com estresse hídrico. (Bass & Carlquist, 1985; Carlquist & Hoekman, 1985; Lindorf, 1994). Quanto maior o diâmetro dos vasos, maior a eficiência na condução da seiva, bem como a suscetibilidade a embolia. Nesse sentido, a presença de vasos numerosos e estreitos contribui efetivamente para aumentar a segurança na condutividade hidráulica, pois, em virtude do seu menor diâmetro, ocorre adesão da água junto à parede, diminuindo a possibilidade de rompimento da coluna d'água e, conseqüentemente, da formação de bolhas de ar e, dessa forma, auxiliando na manutenção da condução de água, embora em menores taxas durante períodos de estresse hídrico.

Tabela 1 Valores anatômicos médios observados relacionados a raízes dos diferentes acessos de milho

<i>Características</i>	<i>LE</i>	<i>L5</i>
EP ( $\mu\text{m}$ )	22,26 *	20,10*
EN ( $\mu\text{m}$ )	15,59	14,55
DM ( $\mu\text{m}$ )	1168,61*	1406,02*
EC ( $\mu\text{m}$ )	330,39*	371,07*
DX ( $\mu\text{m}$ )	98,994*	125,48*
NX (uni)	7,35*	8,85*
DC ( $\mu\text{m}$ )	540,63*	603,82*

(EP): espessura da epiderme; espessura da endoderme (EN); diâmetro (DM); espessura do córtex (EC); diâmetro da célula do metaxilema (DX); número de metaxilema (NX); diâmetro do cilindro vascular (DC). \*significativo com 5% de probabilidade pelo teste F

Quanto ao índice de vulnerabilidade de Carlquist (IV) (figura 2), pode-se observar um menor valor em LE (13,58), em relação a L5(14,41). O IV é uma relação que pode ser estabelecida quanto ao número de vasos, ou seja, quanto menos a relação entre o diâmetro dos vasos e o seu número por milímetro quadrado, maior é a xeromorfia e menor a vulnerabilidade do sistema de condução hidráulica. Dessa forma, pode-se inferir que LE contribui para aumentar a segurança na condutividade hidráulica do xilema.

Na figura 1, podemos observar um ligeiro aumento na espessura da exoderme da linhagem LE em relação à linhagem L5. Uma maior deposição de lignina ou suberina na exoderme das raízes pode auxiliar na proteção da planta contra dessecação e morte das células do córtex (Castro et al., 2009).

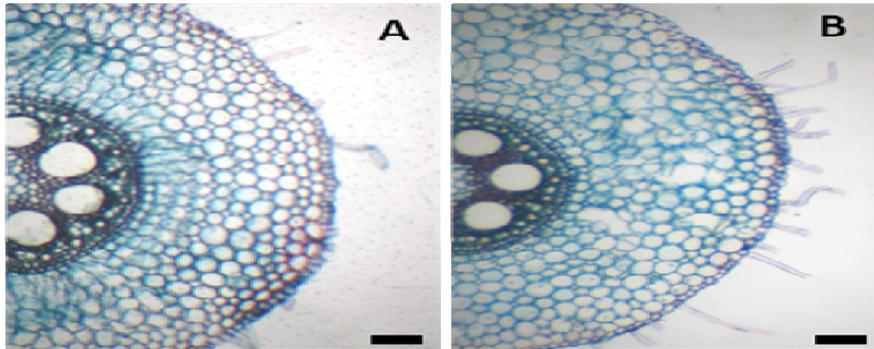


Figura 1 Secções transversais de raízes de milho, A=Linhagem com limbo foliar enrolado (LE), B=Linhagem com o limbo foliar normal (L5). A barra corresponde a 10µm

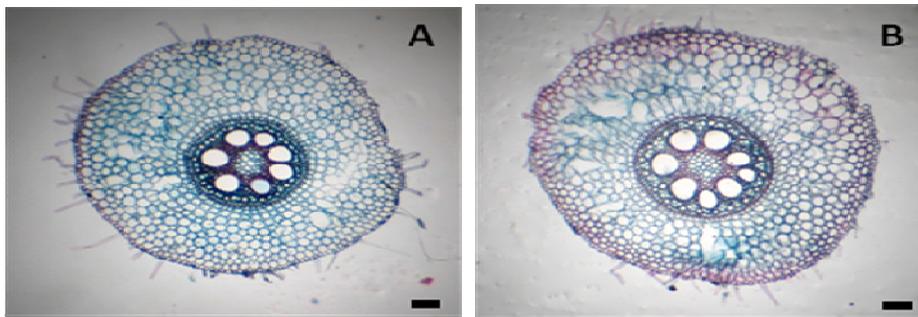


Figura 2 Secções transversais de raízes de milho, A=Linhagem com limbo foliar enrolado (LE), B=Linhagem com o limbo foliar normal (L5). A barra corresponde a 100µm

### Conclusão

A caracterização anatômica radicular dos dois acessos de milho nos permitiu concluir que o acesso LE possui características que favorecem à adaptação a ambientes sob BDA.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

### Referências Bibliográficas

- BAAS, P.; CARLQUIST, S. A comparison of the ecological wood anatomy of the floras of southern California and Israel. **IAWA Bulletin**, v.6, n.4, p.349-353, 1985.
- CARLQUIST, S.; HOEKMAN, S. Ecological wood anatomy of the woody southern Californian flora. **IAWA Bulletin**, v.6, n.4, p.319-347, 1985.
- CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.
- DURÃES, F.O.M. **Fenotipagem associada a tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores**. Sete Lagoas: Embrapa, 2004. (Circular técnica, 39).
- ESAÚ, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: E. Blucher, 1974. 293p.
- FANCELLI, A. L. & NETO, D. D., **Produção de Milho**.:Agropecuária, Guaíba,360p, 2000.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 300p.
- KOZŁOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v.1, p.1-29, 1997.
- KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 221p.
- LINDORF, H. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. **IAWA Journal**, v.15, n.4, p.361-376, 1994.

STEFANO, F.; SALGADO, E. **O desafio de alimentar 6 bilhões de pessoas.**

Disponível em:

<[http://planetesustentavel.abril.com.br/noticia/desenvolvimento/conteudo\\_282859.shtml](http://planetesustentavel.abril.com.br/noticia/desenvolvimento/conteudo_282859.shtml)>. Acesso em: 10 out. 2010

Versão preliminar do artigo.

**ARTIGO 3**

**CONTROLE GENÉTICO DO ENROLAMENTO DO LIMBO FOLIAR  
EM MILHO (*Zea mays* L. spp *mays*)**

**Artigo redigido conforme norma da revista CBAB – Crop Breeding and  
Applied and Biotechnology**

**CONTROLE GENÉTICO DO ENROLAMENTO DO LIMBO FOLIAR  
EM MILHO (*Zea mays* L. spp *mays*)**

**Geovana Cremonini Entringer<sup>1</sup>, Fernando Lisboa Guedes<sup>1</sup>, Amanda Avelar  
de Oliveira<sup>1</sup>, João Cândido de Souza<sup>1</sup>**

**RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo estudar o controle genético do enrolamento do limbo foliar em milho. Foram utilizadas duas linhagens contrastantes para o caráter em questão. A partir dessas duas linhagens, foram obtidas as gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e os retrocruzamentos. Os dados referentes ao enrolamento do limbo foliar foram obtidos por planta. Estimaram-se os componentes de média e de variância por meio do método dos quadrados mínimos ponderados. Para estimar os componentes de média, considerou-se o modelo simplificado, denominado aditivo-dominante e para os componentes de variância, o modelo envolvendo variância aditiva, variância de dominância e variância ambiental foram suficientes para explicar ( $R^2 > 99\%$ ) o controle genético do enrolamento do limbo foliar em milho, evidenciando que este caráter possui controle oligogênico, com predominância de efeitos aditivos. O alto valor da estimativa do coeficiente de herdabilidade permite inferir a possibilidade de sucesso com a seleção massal para o caráter.

Palavras-chave: *Zea mays* L., componentes genéticos, herdabilidade.

---

<sup>1</sup> Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), C.P. 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil

## INTRODUÇÃO

O milho é cultivado em todos os estados do Brasil e em quase todas as propriedades agrícolas, seja na agricultura familiar, seja na agricultura voltada para exportação. É uma cultura de grande e diversificada utilização na sociedade moderna e um dos produtos agrícolas de mais ampla distribuição mundial, tanto na produção, quanto no consumo.

Esta cultura tem sido exaustivamente estudada e melhorada nas mais particulares condições de manejo (Sangoi et al. 2002). Dentre os vários objetivos alcançados pelo melhoramento de plantas, um dos mais importantes é o incremento na produtividade associada à boa qualidade do grão. Objetivos estes, podem ser obtidos principalmente pelo melhoramento genético de plantas.

É sabido que o déficit hídrico reduz a área foliar das plantas através da modificação na arquitetura do dossel vegetativo. Entretanto, o enrolamento e a redução na expansão das folhas é a mudança mais visível na parte aérea dessa cultura submetida a esse estresse (Carlesso 1995). Para Jordan (1983), o enrolamento causa redução na área foliar efetiva da folha e, conseqüentemente, na extensão foliar fotossinteticamente ativa da planta, além de redução da desidratação e redução no consumo de água em períodos de elevada demanda evaporativa.

Durante uma das avaliações experimentais do programa pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA, estudantes e professores observaram que, entre diversas progênies de milho, uma se destacava pelo seu fenótipo diferenciado. Esta possuía o limbo foliar permanentemente enrolado. É importante salientar que, conforme visto nos capítulos anteriores, esta linhagem possui relevantes características anatômicas que nos permite fazer inferências sobre sua utilização potencial como fonte de germoplasma para os programas de

melhoramento de plantas que visam ao desenvolvimento de cultivares tolerantes à baixa disponibilidade de água.

Deste modo, é importante conhecer os fatores genéticos responsáveis pela herança do enrolamento do limbo foliar em milho, pois podem contribuir para a escolha do método de melhoramento mais eficiente a ser utilizado

Melhoristas do Programa de Genética e Melhoramento da UFLA procuraram estudar quais seriam as causas genéticas do enrolamento do limbo foliar em milho.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido na área experimental do Departamento de Biologia (DBI), da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, localizado na região Sul de Minas Gerais. O local apresenta altitude de 910 metros e coordenadas geográficas de 21°58' de latitude Sul e 45° 22' de longitude Oeste.

Para o estudo do controle genético do enrolamento foliar, foram utilizadas duas linhagens do programa de melhoramento de milho do DBI/UFLA, contrastantes para o caráter em questão, sendo a linhagem com as folhas enroladas (figura 1A) denominada LE e L5, a linhagem com as folhas normais (figura 1B). A partir dessas duas linhagens, foram obtidas as gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e os retrocruzamentos.

Os genitores e as populações segregantes foram avaliados no delineamento de blocos casualizados, com duas repetições. A semeadura foi realizada na safra de 2009/2010. As parcelas foram constituídas de duas linhas de cinco metros de comprimento para os genitores e para a geração F<sub>1</sub> e seis linhas de oito metros para as demais gerações. O espaçamento foi de 60 cm entre linhas. A densidade equivalente a 66.600 plantas/ha foi empregada em todas as

populações. Foram avaliadas 42 plantas do genitor 1; 67 plantas do genitor 2; 62 plantas da população F<sub>1</sub>; 294 plantas da população F<sub>2</sub>; 199 plantas do RC<sub>11</sub> e 166 RC<sub>12</sub> (tabela 1).

Quando as plantas se encontravam no estágio de embonecamento, também chamado de R1 (FANCELLI, 2000), foram coletados os dados de enrolamento foliar. Para cada planta, foi estimada a razão média a partir de 3 folhas acima da primeira espiga. A razão do enrolamento foliar foi calculada, com base na divisão da largura da folha enrolada pela largura da mesma desenrolada.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Os componentes de média foram estimados através do método dos quadrados mínimos ponderados (Mather e Jinks 1984, Rowe e Alexander, 1980), considerando o seguinte modelo:  $\hat{\beta} = (C'NS^{-1}C)^{-1}(C'NS^{-1}Y)^{-1}$ , em que  $\beta$  é vetor dos parâmetros ( $m$ ,  $a$  e  $d$ );  $C$ , matriz do modelo, sendo constituída da média geral, contribuição dos locos em homozigose e dos locos em heterozigose;  $N$  matriz do número de plantas avaliadas dentro de cada geração;  $S$  matriz das variâncias associadas às gerações e  $Y$  é vetor dos valores médios observados nas gerações (Ramalho et al. 1993). As estimativas foram obtidas com auxílio do software Mapgen (Ferreira e Zambalde 1997).

Os componentes de variância foram estimados utilizando o método dos quadrados mínimos ponderados interativos (ROWE e ALEXANDER, 1980; MATHER e JINKS, 1984), considerando o seguinte modelo:  $\hat{\beta} = (C'NC)^{-1}(C'NY)^{-1}$ , em que  $\beta$  é o vetor dos parâmetros ( $\sigma^2_A$ ,  $\sigma^2_D$  e  $\sigma^2_E$ );  $C$  é a matriz do modelo, sendo constituída pela variância aditiva, dominante e ambiental dentro de cada geração;  $N$  é matriz dos graus de liberdade associados a cada população e  $Y$  é vetor das variâncias observadas dentro de cada

população (Ramalho et al. 1993). A obtenção das estimativas foi realizada com auxílio do software Mapgen (Ferreira e Zambalde 1997).

Foram obtidas as estimativas da herdabilidade no sentido restrito, utilizando a expressão descrita por Ramalho et al. (1993). Para a estimação do número de genes envolvidos no controle do caráter, foi utilizada a expressão proposta por Wright em 1934 (Ramalho et al. 1993).

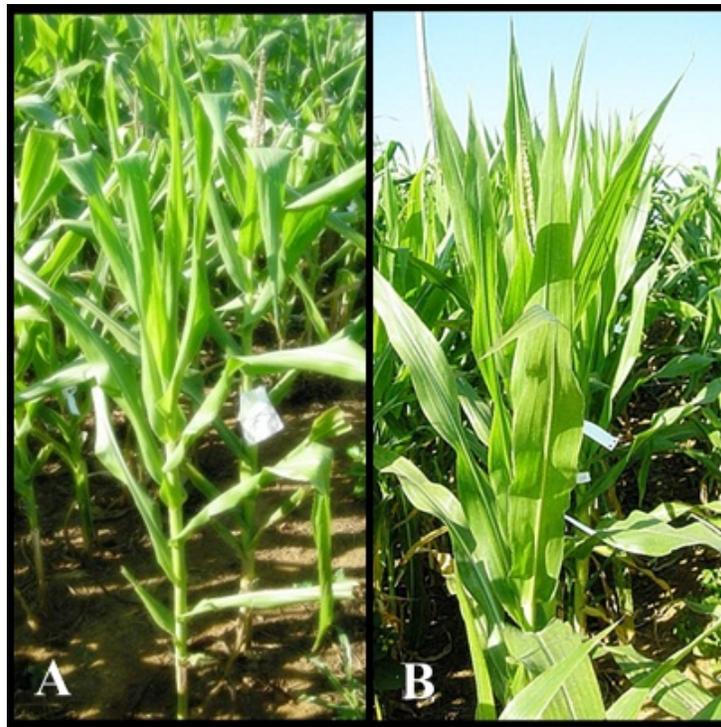


Figura 1 Linhagens do programa de melhoramento de milho da UFLA, A: Linhagem com limbo foliar enrolado (LE); B: Linhagem com o limbo foliar normal (L5)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As linhagens mostraram contrastantes positivos para o caráter em estudo, ou seja, diferem na proporção de enrolamento do limbo foliar. A diferença entre as médias dos dois genitores foi de aproximadamente 55% (Tabela 1). De acordo com Cruz e Regazzi (1994), tal fato é imprescindível para a obtenção de maior precisão nas análises genéticas. A média da geração F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> é semelhante e, aproximadamente, intermediária à média dos parentais, indicando que o tipo de interação alélica predominante é a aditiva. Os retrocruzamentos apresentaram médias dentro do esperado, considerando o genitor utilizado como recorrente (Tabela 1)

Tabela 1 Número de indivíduos avaliados em cada população, com as médias do enrolamento foliar e o respectivo erro-padrão, obtidos na safra 2009/10, em Lavras (MG)

População	Número de Plantas	Média	Erro-Padrão
P <sub>1</sub>	45	0,4407	±0,054
P <sub>2</sub>	67	0,9714	±0,021
F <sub>1</sub>	62	0,6464	±0,0379
F <sub>2</sub>	294	0,5908	±0,018
RC <sub>11</sub>	199	0,4971	±0,025
RC <sub>12</sub>	166	0,8094	±0,020

Com base nas médias das gerações, as estimativas dos parâmetros genéticos são apresentadas na tabela 2. Estas foram obtidas utilizando-se o modelo reduzido composto pelos parâmetros  $m$ ,  $a$  e  $d$ . É preciso salientar que houve um bom ajustamento ao modelo adotado ( $R^2 > 99\%$ ).

O efeito genético aditivo foi mais importante na determinação do caráter, uma vez que o efeito de dominância foi não significativo (tabela 2). É

oportuno ressaltar o valor negativo para  $a$ . Isso se deve ao fato de que a linhagem LE ( $m-a$ ) apresenta menor razão do que a linhagem L5 ( $m+a$ ).

Tabela 2 Teste de escala conjunta para o caráter enrolamento do limbo foliar em milho envolvendo os parâmetros  $m$ ,  $a$  e  $d$ , e valor do  $R^2$

Parâmetros	Estimativa	Erro-Padrão	Prob> t
$m$	0,6795	$\pm 0,029$	0,0002
$a$	-0,2903	$\pm 0,029$	0,002
$d$	-0,066	$\pm 0,057$	0,3334
$R^2$	0,998		

As estimativas dos componentes de variância estão apresentadas na tabela 3. É necessário salientar que houve um bom ajustamento ao modelo adotado ( $R^2 > 99\%$ ). Dessa forma, pode-se considerar que a variação do enrolamento do limbo foliar foi explicada pela variância dos efeitos aditivos, dominantes e ambientais.

Pode-se observar que a estimativa da variância de dominância, em negativa, indica que esta deve admitir valor igual a zero. Este resultado corrobora com o obtido nos componentes de média, ou seja, a variância aditiva é a que predomina na expressão do caráter. Esse resultado é de fundamental importância para os programas de melhoramento. Quando há predominância da interação alélica aditiva, a seleção é facilitada, porque indivíduos superiores produzirão uma descendência também superior.

No sentido restrito ( $h^2_r=84\%$ ), a herdabilidade foi alta. Valores altos de herdabilidade refletem a presença do componente genético da variação fenotípica na expressão do caráter, sugerindo que o mesmo proporciona ganho expressivo com a seleção (Tabela 3).

Tabela 3 Estimativas dos componentes de variância e seus respectivos erros-padrão e valor do  $R^2$  (%), herdabilidade no sentido restrito, obtido para o caráter enrolamento do limbo foliar

Parâmetros	Estimativa	Erro-Padrão
$\sigma^2_A$	0,0288	$\pm 0,021$
$\sigma^2_D$	-0,0137	$\pm 0,011$
$\sigma^2_E$	0,0053	$\pm 0,003$
$h^2_r$	84%	
$R^2$	0.9999	

As estimativas do número de genes, envolvidos no controle genético do enrolamento do limbo foliar foi de 1,22 genes. É sabido que, havendo um número grande de genes envolvidos no controle de um caráter, a seleção é dificultada, pois a segregação em  $F_2$  tende a uma distribuição contínua. Contudo, o controle do enrolamento foliar em milho é oligogênico. Deste modo, pode-se inferir que a seleção para este caráter é facilitada.

## CONCLUSÃO

A decomposição não-ortogonal da soma dos quadrados dos parâmetros avaliados mostrou que a variabilidade genética presente em  $F_2$  deveu-se aos efeitos gênicos aditivos. As estimativas dos componentes de variância mostraram que o efeito aditivo em relação aos de dominância foi expressivo, caracterizando interação alélica aditiva.

O enrolamento do limbo foliar possui controle oligogênico, sendo assim um caráter de fácil seleção.

Os resultados evidenciam que há possibilidade de obtenção de genótipos homozigóticos superiores e que os ganhos nos ciclos de seleção serão

satisfatórios, uma vez que o componente de natureza aditiva é predominante na expressão do caráter.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bergamaschi H, Dalmago GA, Bergonci JI, Bianchi CAM, Müller AG, Comiran F and Heckler BMM (2004) Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **39**: 831-839.

Burton GW (1951) Quantitative inheritance in pearl millet (*Penisetum glaucum*). **Agronomy Journal** **43**: 409-417.

Carlesso R (1995) Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extraível e a produtividade das culturas. **Revista Ciência Rural** **25**: 183-188.

Cruz CD, Regazzi AJ and Carneiro PCS (2004) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Editora UFV, Viçosa, v. 1.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Produção de Milho. Guiba: Agropecuária, 2000. p.21-54.

Ferreira DF and Zambalde AL (1997) Simplificação das análises de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e softwares correlatos. In: **Anais do congresso da sociedade brasileira de informática aplicada a agropecuária e agroindústria**. UFMG, Belo Horizonte, p. 285-291.

Jordan WR (1983) Whole plant response to water deficit: an overview. In: Taylor HM, Jordan WR and Sinclair TR (ed.) **Limitations to efficient water use in crop production**. Press ASA, CSSA, SSA, Mandison, p. 289-317.

Mather K and Jinks LL (1984) **Introdução à genética biométrica**. Editora Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 242 p.

Ramalho MAP, Santos JB and Zimmermann MJO (1993) **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação ao melhoramento de feijoeiro**. Editora UFG, Goiânia, 271 p.

Rowe KE and Alexander WL (1980) Computations for estimating the genetic parameters in joint-scaling test. **Crop Science** **20**: 109-110.

Sangoi L, Almeida ML, Silva PRF and Argenta G (2002) Base morfológica para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. **Bragantia** **61**: 101-110.

Wright S (1934) The results of crosses between inbred strains of Guinea pigs, differing in number of digits. **Genetics** **19**: 537-551.

**AGRADECIMENTOS:** Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Versão preliminar do artigo.