

**EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS
MORFOANATÔMICAS NOS CICLOS DE
SELEÇÃO DO MILHO 'SARACURA' SOB
ENCHARCAMENTO INTERMITENTE**

THIAGO CORRÊA DE SOUZA

LAVRAS-MG

2009

THIAGO CORRÊA DE SOUZA

**EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOANATÔMICAS NOS
CICLOS DE SELEÇÃO DO MILHO 'SARACURA' SOB
ENCHARCAMENTO INTERMITENTE**

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

Orientador

Dr. Paulo César Magalhães

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

2009

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

Souza, Thiago Corrêa de.

Evolução das características morfoanatômicas nos ciclos de
seleção do milho 'Saracura' sob encharcamento intermitente
/ Thiago Corrêa de Souza. – Lavras : UFLA, 2009.

94 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Paulo César Magalhães.

Bibliografia.

1. Hipoxia. 2. Alagamento. 3. *Zea mays* L. 4. Aerênquimas. 5.
Ciclos de seleção. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.15

THIAGO CORRÊA DE SOUZA

**EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOANATÔMICAS
NOS CICLOS DE SELEÇÃO DO MILHO 'SARACURA' SOB
ENCHARCAMENTO INTERMITENTE**

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

APROVADA em 26 de fevereiro de 2009

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

UFLA

Prof. Dr. Marcelo Polo

UNIFAL-MG

Dr. Paulo César Magalhães
Embrapa Milho e Sorgo
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A meus pais, Sebastião Corrêa de Souza e Ana Aparecida de Carvalho Souza, que sempre batalharam e deram sua vida para construir a minha.

OFEREÇO.

A meus professores do pré-primário, ensino fundamental e médio, graduação e pós-graduação, que foram exemplos em minha vida,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus que incessantemente olha por mim, guia meus passos e ensina-me que sempre há uma solução.

Aos meus pais, exemplo de luta, humildade e amor.

A Lucimara e Milton Sérgio, por serem meus irmãos.

As minhas sobrinhas, Ana Caroline e Isadora e minha cunhada Suelva, por sempre trazerem alegrias em meu coração.

Aos meus avós: “Vô” Corrêa (*in memoriam*), “Vô” Pedro (*in memoriam*), “Vó” Lucy e “Vó” Maria, que foram e são exemplos de perseverança na vida e a todos os tios(as) e primos (as) que torcem por mim.

A minha namorada Sheyla, pelo carinho nas horas de alegria, pela paciência nas horas de desespero e pelo amor em todas as horas.

Aos meus amigos(as) de Nepomuceno, Lavras e Alfenas, que são parte integrante da minha história e estão sempre guardados na memória e no coração.

Aos meus amigos (as) e companheiros (as) de sala de aula da Fisiologia Vegetal com que, nesse tempo, convivi e que fizeram este mestrado diferente.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, na pessoa do coordenador Antônio Chalfun e do subcoordenador Renato Paiva, pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Dr. Paulo César Magalhães e coorientador professor Dr. Evaristo Mauro de Castro, pelos exemplos de humildade, por toda a atenção, apoio, amizade e conselhos oferecidos durante estes anos.

Aos professores: Luiz Edson, Ângela, Eduardo, Amauri, por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao Dr. Marcelo Murad Magalhães, pela grande contribuição nas correções.

Aos funcionários técnico-administrativos da UFLA: Joel, Lena, Evaristo, Ana Cristina, D'Artagnan, Celen, Izonel, Barrinha e Odorêncio

Aos funcionários da Embrapa Milho Sorgo: Fábio, Rodrigo, Gilberto, Baiano, Marisa, Edna e José Eduardo, por toda ajuda e pela simpatia sempre constante.

Aos bolsistas da Embrapa Milho e Sorgo: Michel, Fernando e Marcelo pelos momentos de ensinamento e descontração.

Aos professores da UNIFAL-MG: Marcelo Henrique, Márcia Paranho, Marcelo Polo, Maria José, Sandro, Maria Ângela e Geraldo pelos conselhos, incentivo e amizade.

Aos meus amigos e companheiros do Grupo de Partilha dos Profissionais São Benedito e do Ministério Universidades Renovadas da Renovação Carismática Católica de Lavras, pelas orações e amor mútuo.

A todos que, de forma direta ou indireta, participaram deste encerramento de mais um “degrau” de minha vida e que não foram citados aqui, mas Deus sabe e traz a recompensa.

A fé não teme a razão. Estas "constituem como que as duas asas pelas quais o espírito humano se eleva para a contemplação da verdade. Foi Deus quem colocou no coração do homem o desejo de conhecer a verdade e, em última análise, de conhecer a Ele, para que, conhecendo-O e amando-O, possa chegar também à verdade plena sobre si próprio" (Fides et Ratio)

Papa João Paulo II

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	01
1 Introdução geral	01
2 Referencial teórico.....	03
2.1 O solo de várzea.....	03
2.2 O milho.....	05
2.3 Cultivo do milho em áreas alagadas.....	05
2.4 O milho ‘BRS 4154-Saracura’	07
2.5 Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas sob alagamento.....	10
2.6 Modificações anatômicas e morfológicas em plantas sob alagamento.....	12
2.7 O sistema radicular.....	14
3 Referências bibliográficas.....	16
CAPÍTULO 2 Características morfológicas radiculares em ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ sob encharcamento do solo.....	25
1 Resumo.....	26
2 Abstract.....	27
3 Introdução.....	28
4 Material e métodos.....	30
5 Resultados e discussão.....	32
6 Conclusões.....	40
7 Referências bibliográficas.....	40
CAPÍTULO 3 Modificações na anatomia radicular dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ sob alagamento intermitente.....	45
1 Resumo.....	46
2 Abstract.....	47

3	Introdução.....	48
4	Material e métodos.....	50
5	Resultados e discussão.....	53
6	Conclusões.....	62
7	Referências Bibliográficas.....	63
CAPÍTULO 4 Plasticidade foliar nos sucessivos ciclos de seleção do milho 'Saracura' em resposta ao alagamento intermitente do solo.....69		
1	Resumo.....	70
2	Abstract.....	71
3	Introdução.....	72
4	Material e métodos.....	74
5	Resultados e discussão.....	77
6	Conclusões.....	89
7	Referências bibliográficas.....	89

RESUMO GERAL

SOUZA, Thiago Corrêa. **Evolução das características morfoanatômicas nos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ sob encharcamento intermitente.** 2009. 94 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *.

Embora toda planta necessite de certa quantidade de água, o excesso nas raízes pode levar a injúrias e até a morte. O alagamento é um dos mais importantes fatores que afetam a produção e a produtividade do milho nas regiões tropicais e subtropicais. O excesso de água bloqueia a transferência de oxigênio e de outros gases entre o solo e a atmosfera. No Brasil, cerca de 33 milhões de hectares de terras estão sujeitos a inundações temporárias. Apesar da sensibilidade do milho ao alagamento, estudos demonstram grande variabilidade genética a essas condições sendo esta cultura uma opção para o aproveitamento dessas áreas. A sensibilidade do milho a solos alagados levou pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, de Sete Lagoas, MG, a desenvolverem uma variedade de milho tolerante conhecida como ‘Saracura’ que está no 18º ciclo de seleção massal estratificada sob encharcamento contínuo. Foram conduzidos três experimentos, com o objetivo de estudar as características morfoanatômicas das plantas nos 18 ciclos de seleção, no intuito de entender melhor os mecanismos envolvidos na maior tolerância ao encharcamento verificada nos últimos ciclos. Um ensaio foi realizado em casa de vegetação, onde as características morfológicas radiculares foram avaliadas por meio do programa de imagens digitais WinRHIZO. O alagamento foi imposto logo após a emergência. Outros dois ensaios foram realizados em condições de campo, no intuito de caracterizar as modificações anatômicas radiculares e foliares. O alagamento foi imposto a partir do estágio de seis folhas, aplicando-se uma lâmina de água de 20 cm, três vezes por semana. Em todos os três experimentos foram utilizados uma testemunha (BR 107) e dez ciclos de seleção (C1 a C18 alternados) e o delineamento foi em blocos casualizados. Os últimos ciclos de seleção apresentaram características morfoanatômicas que favorecem a sobrevivência das plantas a ambientes encharcados. Observaram-se, nesses últimos ciclos, raízes mais finas e compridas, com maior volume total e área superficial. Além disso, houve maior formação de aerênquimas, diminuição da exoderme, modificações no córtex e nos vasos condutores, os quais facilitam o fluxo de fotossintatos e de água pela planta. Nas folhas verificaram-se aumento nos estômatos funcionais, diminuição

* Comitê orientador: Dr. Paulo César Magalhães – Embrapa Milho e Sorgo (orientador); Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro – Universidade Federal de Lavras (coorientador).

da cutícula e da epiderme, diminuição no número e no tamanho das células buliformes, metaxilema com menor diâmetro, aumento na espessura do floema e menor área de esclerênquima.

Palavras-chave: Hipoxia, alagamento, *Zea may* L., aerênquimas, ciclos de seleção.

GENERAL ABSTRACT

SOUZA, Thiago Corrêa. **Evolution of morpho-anatomical characteristics on selection cycles of maize (*Zea mays* L.) “Saracura” – BRS – 4154 under intermittent soil flooding.** 2009. 94p Dissertation (Master in Crop Physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Although every single plant needs a certain amount of water, the excess around roots can cause severe injuries and even death of most crops. Soil flooding is one of the most important factors which affects maize crop production and development on tropical and subtropical regions. Excess of water blocks the oxygen transfer and others gases from soil to atmosphere. In Brazil around 33 millions of hectares are found under intermittent soil flooding. Even though maize is sensitive to flooding, some research has shown a great genetic variability to this condition, which places this crop as an option to grow in these areas. The sensitivity of maize to soil flooding resulted in a study carried out by Embrapa Maize and Sorghum Research Center, located at Sete Lagoas, which ended with a release of a maize variety known as “Saracura” which is tolerant to those conditions. The “Saracura” maize was subjected to 18 cycles of stratified mass selection under soil flooding. Three experiments were carried out with the objective of studying morphological and anatomical characteristics on the 18 selection cycles, searching to understand better the mechanisms involved on the greater tolerance observed on the last cycles. One trial was carried out in greenhouse conditions, where the root morphological characteristics were evaluated through a digital image program (WinRHIZO). Flooding was imposed right after plant emergence. Two other trials were carried at field conditions, with the objective of characterizing root and leaf anatomical modifications. Here, flooding started at V6 growth stage by receiving 20 cm of water three times a week. In all experiments the genetic material used were the selection cycles, C1 up to C18 (alternated) companing with control BR 107. The experimental design was a randomized complete block. The results showed that the last selection cycles presented morphological and anatomical characteristics which favors plant survive in flooded environments. There were observed in these cycles very fine roots, large length, greater total volume and superficial area. Besides that there was a greater aerenchyma formation, decrease of exoderme, modification in cortex and vascular bundles, which may facilitates flux of photosynthates and water through plants. In the leaf there was also

* Adviser Comitee: Dr. Paulo César Magalhães – Embrapa Maize and Sorghum Research Center (Adviser); Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro – Federal University of Lavras (Co-adviser).

alterations with greater amount of stomata with better function, decrease of cuticle and epidermis, decrease also on the number and size of bulliform cells, metaxylem with shorter diameter, increase in phloem thickness and shorter sclerenchyma area.

Key words: Hypoxia, flooding, *Zea mays* L., root anatomy, aerenchyma, selection cycles.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos tempos, milhões de pessoas no mundo passaram a comprar sua comida em vez de plantá-la. O crescente consumo dos chineses e indianos, a aceitação dos produtores de milho americanos pelo etanol e a elevação do preço do petróleo são razões visíveis para a inflação mundial no preço dos alimentos. A estabilização entre a oferta e a demanda por alimentos, no mundo, passa, necessariamente, por um aumento na produtividade e/ou na área agricultável. A área agrícola mundial hoje é de 1,4 bilhão de hectares, e cada vez mais se restringe a capacidade de aumentar a produção via aumento de novas áreas agrícolas.

Diante desse cenário, o Brasil surge como país estratégico, por contar com a maior fronteira agrícola do mundo, mesmo sem avançar um centímetro sobre a floresta Amazônica. Entretanto, um grande elemento de incerteza está se delineando para o futuro, com os possíveis cenários relacionados às mudanças climáticas decorrentes do fenômeno chamado aquecimento global. Nas próximas décadas, estatísticas apontam para mudanças de clima intensas, a ponto de mudar a geografia da produção mundial, inclusive a brasileira (Stefano & Salgado, 2008).

Um dos fatores principais destas mudanças é a disponibilidade hídrica (falta e excesso de umidade) que leva à grande restrição na produção e na produtividade de plantas, incluindo o milho (Zaidi et al., 2003). O encharcamento (saturação hídrica temporária do solo) é um dos estresses abióticos de maior impacto na sobrevivência de plantas em muitas regiões do mundo. Além de fatores naturais, como excesso de precipitação, águas marginais de cursos de rios e má drenagem, existem fatores antrópicos que

influenciam o aumento de áreas alagadas, como urbanização excessiva, criação de hidrelétricas, remoção de vegetação, construção de canais, rodovias e irrigação inadequada (Dat et al., 2004).

O encharcamento também limita a exploração agronômica de minifundiários que possuem, em suas propriedades, áreas de várzea onde ocorrem inundações frequentes em períodos de chuva, devido ao nível freático pouco profundo. O problema se agrava nas regiões nas quais a lavoura das várzeas constitui a única possibilidade de produção agrícola, recebendo somente o cultivo do arroz, pois esta prática tem custos elevados de sistematização do terreno, de produção da cultura e de necessidade de máquinas especiais para a colheita (Núñez Flecha, 2004).

No sul do Brasil, 6.800.000 ha são de áreas alagadas onde se cultivava somente arroz (Klamt et al., 1985). O desenvolvimento de pesquisas avançadas para culturas tolerantes ao encharcamento intermitente certamente seria uma alternativa para a implantação de novas culturas, aumentando a produção brasileira, além de ser um “atrativo agrônomico” para os 28 milhões hectares (Magalhães et al., 2008) de terras brasileiras encharcadas com grande potencial agrícola.

O milho é uma cultura sensível ao alagamento (Magalhães et al., 2008; Fries, 2006). Somente no sul da Ásia, 15% das plantações de milho são afetadas por encharcamento e, na Índia, o excesso de água é o segundo fator de estresse depois do déficit hídrico (Zaidi et al., 2004). No ano de 1993, em Illinois, nos Estados Unidos, o prejuízo foi de 20 milhões de hectares de milho e soja, devido ao encharcamento do solo (Suszkiw, 1994).

Solos com quantidades excessivas de água apresentam como característica problemas na aeração, o que leva à condição de baixa (hipoxia) ou nenhuma (anoxia) concentração de oxigênio (Alves, 2002; Zaidi et al., 2003).

Plantas tolerantes a esses ambientes possuem capacidade de adaptação metabólico-bioquímica, morfológica e anatômica para conseguirem sobreviver e reproduzir (Fernández, 2006).

A sensibilidade do milho em solos hipóxidos levou pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, a desenvolverem, por meio de melhoramento genético, uma variedade de milho chamada ‘Saracura’, tolerante a estas condições, o que pode propiciar o seu aproveitamento nas áreas de várzea. Atualmente, o milho ‘Saracura–BRS-4154 já passou por 18 ciclos de seleção massal estratificada sob encharcamento intermitente.

Apesar de vários estudos básicos com o ‘Saracura’ terem sido realizados, objetivando entender melhor o mecanismo de tolerância das plantas (Magalhães et al., 2008; Lopes, 2005; Ferrer et al., 2005; Pereira, 2008), não existe ainda um trabalho de comparação morfoanatômica com todos os ciclos de seleção em condições de campo.

Nesse contexto, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de entender melhor os mecanismos de tolerância e a eficiência de seleção entre as características morfoanatômicas ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ que levaram os ciclos a adquirir uma maior tolerância a ambientes encharcados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O solo de várzea

No Brasil há grande disponibilidade de várzeas, o que poderia aumentar a produção de alimentos. Existem, no país, no total, 28 milhões de hectares de várzea, dos quais 12 milhões estão nos cerrados e, em Minas Gerais, 500 mil hectares (Magalhães et al., 2008).

As várzeas, também chamadas de planície de inundação, são terrenos baixos e relativamente planos, presentes nas margens dos rios, ribeirões, lagos e pântanos, sendo áreas propensas a inundações periódicas em períodos de chuva (Curi et al., 1988).

Sob a denominação de solos de várzea aparecem diversas classes de solos, abrangendo os do tipo Glei Húmico, Glei pouco Húmico, orgânicos e aluviais (Curi et al., 1988). O solo de várzea é denominado de hidromórfico devido à sua principal característica de apresentar drenagem natural deficiente, ocasionada pelo relevo plano associado a uma camada subsuperficial impermeável e a uma camada superficial rasa (Pinto et al., 1999). Embora apresentem topografia e disponibilidade de água favorável, os solos de várzea são ácidos e deficientes em nutrientes, principalmente N, P, K e B (Azevedo et al., 2000).

Nas várzeas ocorrem sérias mudanças nos processos físicos, químicos e biológicos do solo. Porém, a natureza de tais mudanças depende das características físico-químicas intrínsecas do mesmo e da duração do excesso de água (Costa, 2004). As principais mudanças decorrentes de solos submersos são: desaparecimento do oxigênio e diminuição do potencial redox (Zaidi et al., 2003); acúmulo de dióxido de carbono, metano, hidrogênio e nitrogênio gasoso; redução de ferro, manganês e sulfatos, resultando em um solo com coloração cinza e decomposição mais lenta da matéria orgânica. Nos processos de obtenção de energia pelos organismos neste tipo de solo, surgem reações que resultam na transferência de elétrons de substâncias que servem como fontes de energia para produzirem fontes de carbono na respiração. Os metais presentes em várzeas são reduzidos a formas de menor valência recebendo elétrons e, assim, substituindo o papel do oxigênio (Raij, 1991; Pezeshki, 2001).

2.2 O milho

Segundo levantamento brasileiro da safra de grãos 2008/2009, divulgado pela Conab, a área com a 1ª safra de milho 2008/2009 está estimada em 9,3 de milhões de hectares, com produção estimada de 34,9 milhões de toneladas. Somados estes valores ao volume estimado para a 2ª safra 2008/2009, será ofertada ao mercado a produção de milho total de 52,3 milhões de toneladas (Conab, 2009). Já em relação à produção mundial do milho, estima-se que ela permaneça inalterada em 2008, com 779,6 milhões de toneladas, depois de um aumento acentuado em 2007. O Brasil é o terceiro maior produtor de milho, atrás somente dos Estados Unidos e da China (FAO, 2008).

Com um alto potencial de produção, valor nutricional e composição química, o milho é um dos mais importantes cereais cultivados no mundo. Além disso, este cereal é considerado como uma das espécies mais eficientes na conversão de energia radiante em biomassa, devido à sua grande capacidade de acumulação de fotoassimilados (Baldo, 2007).

O milho é uma gramínea pertencente à família *Poaceae* 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. Calcula-se que seja a América Central ou o México a sua região de origem, tendo sido desenvolvido há 8 ou 10 mil anos (Paterniani et al., 2000).

2.3 Cultivo do milho em áreas alagadas

Recentemente, grandes esforços em pesquisas têm sido levantados para se obter avanços no plantio de culturas em áreas alagadas (Geigenberger et al., 2000; Setter & Waters, 2003; Subbaiah & Sachs, 2003; Sá et al., 2003).

Na literatura, existem alguns trabalhos relacionados com a seleção de milho adaptado ao encharcamento. O milho é a espécie que, provavelmente,

possui maior variabilidade genética entre todas as espécies cultivadas (Parteniani et al., 2000) e é notável a sua variabilidade para características que estão ligadas ao estresse por excesso de água (Magalhães et al., 2008).

Zaidi et al. (2003 e 2004) procuraram genótipos de milho tolerantes ao encharcamento em várzeas indianas. Estudando, comparativamente, milho mexicano e indiano, estes autores constataram genótipos indianos bastante eficientes quanto à tolerância (CM-118 e CM-501), os quais tiveram boa germinação em ambientes anóxicos e suas plantas jovens apresentaram características como clorofila (a/b), peso seco da parte aérea, volume de raiz, transpiração, rendimento de grãos, intervalo entre a floração masculina e feminina (IFMF) e açúcares solúveis bastante superiores em relação às testemunhas.

Também Zaidi et al. (2007), utilizando a seleção de linhagens elites de milho com favoráveis alelos para a tolerância ao encharcamento, conseguiram desenvolver híbridos com altos rendimentos e estáveis sob o excesso de água.

Silva S. et al. (2007), utilizando cruzamento de linhagens, observaram a herança da tolerância ao encharcamento do solo em milho avaliando características como peso seco da parte aérea e da raiz. O comportamento das gerações demonstrou a presença de heterose. Estudos semelhantes mostraram o desempenho de duas variedades venezuelanas frente ao excesso de água. Estas, comparadas com testemunhas, apresentaram maior desempenho quanto às características área foliar, massa seca, crescimento radicular, presença aerênquimas e raízes adventícias (Lizaso et al., 2001).

2.4 O milho ‘BRS 4154-Saracura’

São poucos os materiais comerciais de milho adaptados a condições de encharcamento disponíveis no mercado. Com o incentivo do programa Provárzea, surgiu a necessidade de se produzir uma variedade tolerante ao encharcamento, pois havia uma preocupação com as áreas ociosas após a colheita do arroz nas várzeas e o milho poderia ser uma cultura bastante interessante para este propósito.

Em meados da década de 1980, a Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, MG, explorando as conhecidas variações de tolerância às condições de inundação por espécie de plantas, iniciou o desenvolvimento de um composto de ampla base genética de uma mistura de 36 populações amarelas para cultivo em áreas de várzea (Parentoni et al., 1995).

O desenvolvimento desse material foi contínuo, tendo sido utilizado o método de seleção recorrente fenotípica estratificada modificada. Cerca de trezentas melhores espigas vêm sendo selecionadas por ciclo. Uma mistura balanceada de sementes é plantada em uma área de tabuleiro e submetida à encharcamento por inundação para se obter cada novo ciclo de seleção. Para produzir cada ciclo, características primárias, como teor de clorofila, tombamento, altura da espiga, altura da planta, empalhamento e susceptibilidade a doenças foram analisadas.

Na época da colheita, uma nova análise (secundária) foi feita, selecionando-se espigas sadias (Lopes, 2005). Após 12 anos de estudos, ou seja, no décimo segundo ciclo de seleção, este material foi lançado comercialmente sob a sigla BRS 4154, milho ‘Saracura’. Todo o trabalho de melhoramento dessa variedade foi direcionado para dotá-la de capacidade para suportar períodos temporários de encharcamento do solo, característica que as cultivares de milho disponíveis no mercado normalmente não possuem. O nome milho ‘Saracura’ é uma referência à ave comumente encontrada em terrenos alagadiços. Os ciclos

de seleção continuam sendo realizados anualmente e hoje se encontra no décimo oitavo.

Este milho selecionado para áreas encharcadas apresenta ciclo precoce, altura de planta em torno de 235 cm, altura de espiga 132 cm, produtividade média de 5 a 6,5 t ha, ótima resistência ao acamamento e ao quebramento, grão do tipo semiduro e cor laranja (Paretoni et al., 1997).

O milho ‘Saracura’, comparado com a variedade BR 107, mostrou-se superior quanto à tolerância ao encharcamento. Após o quarto dia de hipoxia, as plantas da variedade BR 107 mostraram sensibilidade à deficiência de oxigênio no meio, chegando a taxas de sobrevivência próximas de zero, enquanto a sobrevivência do ‘Saracura’ aproximou-se de 73% (Vitorino et al., 2001). Lemke-Keyes & Sachs (1989) compararam o ‘Saracura’ com uma variedade dos Estados Unidos tolerante ao alagamento e os resultados mostraram que a sua sobrevivência foi 29% maior, resultado mais que duas vezes superior à taxa de sobrevivência do milho norte-americano (Alvez et al., 2002).

Em estudos com plântulas do milho ‘Saracura’, Dantas (1999) e Dantas et al. (2001) observaram a formação de grandes espaços intercelulares, formando aerênquima lisígenos, tanto em raízes como em coleóptilos. Esse fenômeno ocorreu devido ao aumento na atividade das enzimas de degradação e ao afrouxamento de parede celular, celulase, poligalacturonase e xiloglucano endotransglicolase. Com a presença de cálcio exógeno (estudos apontam como mensageiro em condições de hipoxia) também foi notável a inibição de aerênquima nas plântulas e esta inibição parece estar relacionada com um possível efeito de proteção da parede celular contra as enzimas de hidrólise de parede, causada pela presença de cátions de cálcio junto à parede celular. Pinto (2004), por meio de técnicas de hibridização substrativas por supressão, observou, na variedade ‘BRS 4154–Saracura’ o gene que expressa a paracaspase, enzima da rota de morte celular programada que está intimamente

ligada à formação de aerênquimas. Alves et al. (2002) e Fries (2003) também observaram que a presença do cálcio é de suma importância para a reparação dos danos causados pelo estresse no milho ‘Saracura’.

Adicionando cloreto de cálcio à solução de germinação, alguns autores observaram aumento na sobrevivência das plântulas sob hipoxia, tanto no ‘Saracura’ quanto em uma variedade não tolerante ao encharcamento, a ‘BR 107’ (Gouvêa, 2001; Purcino, 2001; Vitorino, 2001). Fries (2006), estudando a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) no milho ‘Saracura’ sob encharcamento, percebeu que, com a presença do cálcio, a rota de eliminação preferencial era a rota do ascorbato/glutathiona e sem a presença do cálcio por meio das catalases. Pereira (2008) observou que, ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, houve uma alteração nas atividades das enzimas radiculares relacionadas ao estresse oxidativo, resultando em um aumento da catalase, peroxidase do guaiacol e ascorbato. Este mesmo autor observou aumento da atividade da enzima pepcase e de isoformas da invertase dos últimos ciclos em relação aos primeiros.

Alguns parâmetros, como transpiração e resistência difusiva, foram estudados nos ciclos iniciais do milho ‘Saracura’ e mostraram valores maiores para o C4 em relação ao C1 (Parentoni et al., 1995). A porosidade das raízes também foi avaliada nos últimos ciclos de seleção, sendo observado aumento ao longo deles, o que evidencia a importância dessa característica em cultivares de milhos tolerantes ao encharcamento (Magalhães et al., 2008).

Parâmetros anatômicos também foram analisados no ciclo 14 do milho ‘Saracura’. Ferrer et al. (2004) observaram, em raízes, diminuição da epiderme, alterações no córtex como a presença de aerênquimas, exoderme e endoderme pouco lignificada (fina), quando alagado, em relação ao irrigado normalmente. Mesmas alterações foram observadas por Pereira et al. (2008), em experimento conduzido em casa de vegetação. Ao longo dos ciclos de seleção, as raízes

apresentaram aumento da eficiência da condução do xilema e floema, grandes espaços intercelulares e diminuição da espessura do córtex e da exoderme.

Modificações morfoanatômicas também foram observadas em folhas do milho 'Saracura'. Em um trabalho sobre a influência da aplicação do cálcio sobre o 'Saracura' em ambientes encharcados, realizado por Melo et al. (2004), houve diminuição dos feixes vasculares, variação no tamanho dos estômatos e células bulbiformes. Além dessas alterações, Pereira (2008) também observou, em casa de vegetação, ao longo dos ciclos de seleção, diminuição do xilema, da epiderme e da endoderme, aumento da densidade e do índice estomático, aumento da cutícula, do floema e aumento do número e do tamanho das células bulbiformes. Todas essas características contribuem significativamente para o sucesso da cultura em solos encharcados.

2.5 Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas sob encharcamento

O excesso de água no solo leva a consequências dramáticas no processo difusivo, pois os gases se difundem 10.000 vezes mais rápido no ar do que na água e, com isso, há um empobrecimento da disponibilidade de oxigênio (hipoxia) tanto no solo quanto nas partes do vegetal. O declínio do oxigênio se acentua ainda mais com a presença de microrganismos aeróbicos que utilizam este mesmo gás em seus processos na rizosfera, podendo levar à erradicação extrema do oxigênio (anoxia) (Dat et al., 2004).

Como o oxigênio é o aceptor final de elétrons nas mitocôndrias, sem sua presença cessam o transporte de elétrons, a fosforilação oxidativa e a oxidação de NAD(P)H e o ciclo dos ácidos tricarbóxicos é bloqueado nas raízes. Sem a respiração mitocondrial ocorrem mudanças decrescentes na carga energética do adenilato (proporções de ATP, ADP, AMP), devido a um rápido deplecionamento de energia (ATP). Com o ciclo do ácido tricarbóxico parado, ocorre um aumento do potencial redox [NAD(P)H/NAD(P)] e há um desvio para

a rota glicolítica fermentativa, formando apenas 2 ATPs. Por causa da declinação súbita de energia ocorre um estímulo adicional chamado efeito Pasteur, que aumenta ainda mais a rota da glicólise e da fermentação, acarretando uma exaustão das reservas de açúcares. O acúmulo de piruvato oriundo da rota da glicólise, que foi estimulado pelo efeito Pasteur, é agora convertido em ácido láctico (fermentação láctica). O lactato, além de ser tóxico para a planta, leva à redução do pH citoplasmático (acidose citoplasmática), ocasionando danos à planta. Para desviar desse problema, o metabolismo vegetal começa transformar piruvato em etanol (fermentação alcoólica) em vez de lactato, porém, o etanol é altamente tóxico para a planta, levando desordens ao metabolismo (Fukao & Bailey-Serres, 2004; Saíram et al., 2008). McManmon & Crawford, (1971) propuseram uma teoria de que plantas tolerantes ao alagamento possuem um desvio da rota fermentativa, acumulando malato devido à deleção da enzima málica-NADP em seu metabolismo. Assim, há um esquivamento da toxidez por produtos como etanol e lactato, porém, existem algumas exceções.

Nas primeiras duas horas de estresse anaeróbico, ocorre forte repressão da síntese de proteínas aeróbicas, acompanhada de progressiva indução de síntese de proteínas anaeróbicas relacionadas com as enzimas da rota da glicólise, da fermentação e enzimas da parede celular (Sachs et al., 1996; Subbaiah & Sachs, 2003).

Plantas sob estresse anaeróbico possuem uma limitação nas trocas gasosas pelo fechamento estomático. A baixa disponibilidade de oxigênio pode afetar a condutância estomática, diminuindo a perda de água pela transpiração e também a assimilação de carbono (Else et al., 2001; Fernández, 2006). As plantas sensíveis ao alagamento apresentam uma diminuição na fotossíntese (Chen et al., 2005), devido a fatores não-estomáticos (bioquímicos), tais como redução da atividade da rubisco (Yardanova et al., 2005), mas há relatos de

inibição da fotossíntese por fatores estomáticos (Liao & Lin, 2001). Já as plantas tolerantes conseguem manter sua atividade fotossintética constante maior, mesmo em ambientes hipóxicos (Li, 2004).

Como o alagamento causa inibição do fotossistema II, em algumas espécies é observada diminuição da relação Fv/Fm (Fernández, 2006). Além disso, o estresse por excesso hídrico pode levar à diminuição dos pigmentos (clorofila **a** e clorofila **b**) (Ashraf & Habib, 1999; Drew, 1997).

Formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) também pode ocorrer em condições de estresse por hipoxia. Eles causam prejuízos ao metabolismo celular pela oxidação lipídica e levam à mutação no DNA e à degradação de pigmentos. Há relatos de que os EROs também funcionem como sinalizadores em células sob hipoxia (Moller et al., 2007; Saíram et al., 2008).

2.6 Modificações anatômicas e morfológicas em plantas sob encharcamento

Com a hipoxia, ocorre queda drástica na absorção de água e transporte de nutrientes, além de redução do crescimento da raiz e da parte aérea, diminuindo a relação raiz/parte aérea (Liao & Lin, 2001).

Estudos têm revelado adaptações morfológicas e anatômicas que permitem o transporte do oxigênio do caule para a raiz (difusão longitudinal) e do córtex para a rizosfera (difusão radial), deficientes em oxigênio, sendo crucial para o desenvolvimento de plantas tolerantes ao encharcamento (Colmer, 2003b; Jackson, 2008). Dessas adaptações, a principal é a presença de aerênquima, um tecido especializado caracterizado por espaços celulares constituídos de gases. Após o estresse, rapidamente, eles são formados em folhas, caules ou raízes. Dois mecanismos de formação de aerênquima têm sido descritos: esquizógeno e lisígeno. O primeiro envolve o afastamento de células pelo afrouxamento da parede celular e o segundo envolve lise e morte celular programada. A formação do aerênquima pode ser constitutiva, ou seja, mesmo sem estímulo ambiental

(como excesso de água), há a presença de aerênquima em seus tecidos ou, então, ocorrer somente por um estímulo ambiental, como acontece com o milho (Drew et al., 2000; Evans, 2004; Seago et al., 2005). Diferentemente, no milho selvagem (teosinto) os espaços intercelulares ocorrem de maneira constitutiva (Mano et al., 2006). A formação de aerênquima leva a um aumento na porosidade da raiz em várias plantas alagadas, inclusive no milho (Vodnik et al., 2009).

Algumas plantas em hipoxia possuem barreiras no córtex (células suberizadas abaixo da hipoderme-exoderme) que impedem a saída do oxigênio (que está escasso) para a rizosfera. Porém, nem todas as plantas utilizam essa adaptação, pois há a necessidade de reoxigenação da rizosfera (aeração radial), o que impede a formação de compostos tóxicos (Soukup et al., 2007; Colmer, 2003b). Como estruturas de ventilação também podem ocorrer lenticelas, principalmente em espécies arbóreas.

Outra mudança morfológica importante no encharcamento é a formação de raízes adventícias que contribuem com maior absorção de água e nutrientes em resposta à ineficiência da atividade das raízes antigas, além de reoxigenar locais superficiais onde se encontram (Colmer, 2003a). Outras características também são observadas, como diâmetro dos vasos condutores, diminuição da endoderme e epiderme (Pereira et al., 2008).

A folha também passa por uma grande plasticidade fenotípica em estresse por hipoxia, podendo ocorrer diminuição da cutícula e do mesofilo, produzindo menor resistência à difusão de gases e mudanças no diâmetro dos vasos condutores (aumento do floema e diminuição do xilema), levando à maior absorção e fluxo de água e minerais e melhor distribuição de fotoassimilados, além do aumento do diâmetro e do número de células bulbiformes (no caso do milho) e diminuição da área foliar (Liao & Lin, 2001; Ferrer et al., 2004; Voesenek et al., 2006; Pereira, 2008).

2.7 O sistema radicular

A arquitetura radicular é um importante fator para a exploração do solo (Lynch, 2007). Mudanças na estrutura radicular podem ser evidenciadas em plantas sob encharcamento (Vasellati et al., 2001).

O decréscimo do oxigênio leva à diminuição da condutividade hidráulica e afeta a regulação das aquaporinas (por causa da diminuição do pH) e, com isso, a absorção da água decresce (Dell'Amico et al., 2001; Tournaire-Roux et al., 2003).

Tanto as raízes adventícias quanto os aerênquimas presentes nelas e em outras raízes ajudam a aumentar a difusão do oxigênio atmosférico, mantendo a respiração aeróbica, bem como a absorção de águas e nutrientes (Colmer, 2003b). Um maior comprimento de raiz pode levar a uma melhor exploração do solo (preferencialmente se for de forma econômica) e, conseqüentemente, maior absorção de água e de nutrientes, além de maior aeração. Em ambiente desfavorável, é de suma importância o crescimento da raiz sem gasto dispendioso. Assim, os aerênquimas são uma grande forma de economia de carbono, refletindo no aumento do comprimento específico das raízes (comprimento da raiz/peso seco da raiz) (Miller et al., 2003) e favorecendo a maior exploração do volume do solo em busca de oxigênio. Outro parâmetro característico de raízes de plantas em ambientes estressados é uma alta densidade de tecido de raiz (massa da raiz/volume) que acaba diminuindo o comprimento específico. Raízes com grande quantidade de tecido morto como esclerênquima, refletem as altas densidades de tecido (Wahl & Ryser, 2001).

É relatado que raízes finas (até dois milímetros de diâmetro) são responsáveis pela absorção de água e nutrientes e as raízes grossas (acima de 2 milímetros) são responsáveis pela fixação da planta ao solo. Outras funções podem estar no sistema radicular, como as de armazenamento, reprodução assexuada e síntese de hormônios (Fitter, 2002). Plantas com maior quantidade

de raízes finas possuem maior desenvolvimento e são mais vigorosas, podendo resultar em maiores chances de sobrevivência (Silva, A. et al., 2007).

Comparando genótipos de milho tolerantes ao encharcamento, Zaidi et al. (2003) observaram que o genótipo de maior adaptação à hipoxia tinha volume radicular e biomassa (peso da raiz/peso da parte aérea) destacável entre os outros genótipos. Portanto, estes parâmetros também são interessantes de se analisar em estudos de morfologia radicular.

Genótipos com maior desempenho radicular (responsáveis pela absorção de água e nutrientes) possuem os caracteres comprimento da raiz, diâmetro médio, área de superfície e quantidade de raízes finas que, medidos, podem fornecer matrizes para seleções de plantas tolerantes a condições de estresse com maior desenvolvimento e crescimento (Silva, A. et al., 2007). Com o avanço da tecnologia, essas análises de caracteres estão mais rápidas e mais confiáveis, além de tornarem possíveis algumas medidas antes não realizadas (Bouma et al., 2000; Himmelbauer et al., 2004). O uso de imagens digitais e softwares baseados no método de interseção de linhas (proposto por Newman, 1966 e modificado por Tennant, 1975, como o WinRHIZO) permitem essas avaliações.

O programa denominado WinRHIZO Basic (Reagent) permite estudos de raízes lavadas por meio de um sistema de análise digital específico. O WinRHIZO avalia a morfologia (comprimento, área e volume), a topologia, a arquitetura e a coloração e é constituído de um programa de computador e de componentes de aquisição de imagem (Himmelbauer et al., 2004).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J.D.; MAGALHÃES, M.M.; GOULART, P.F.P.; DANTAS, B.F. GOUVÊA, J.A.; PURCINO, R.P.; MAGALHÃES, P.C.; FRIES, D.D.; LIVRAMENTO, D.E.; MEYER, L.E.; SEIFFERT, M.; SILVEIRA, T. Mecanismos de tolerância da variedade de milho “Saracura” (BRS 4154) ao encharcamento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n.1, p.33-40, jan. 2002.

ASHRAF, M.; HABIB-UR-REHMAN. Interactive effects of nitrate and long-term waterlogging on growth, water relations, and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* L.). **Plant Science**, London, v.144, n.1, p.33-43, 1999.

AZEVEDO, W.R.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.C. Boro em rabanete cultivado em solos de várzea: produção de matéria seca, níveis críticos nos solos e na planta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.5, p.7-14, dez. 2000.

BALDO, M.N. **Comportamento anatômico, fisiológico e agrônômico do milho (*Zea mays* L.) submetidos a estresses de ambiente em diferentes estágios fenológicos**. 2007. 91p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

BOUMA, T.J.; NIELSON, K.L.; KOUTSTAAL, B.A.S. Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.218, n.1-2, p.185-196, Jan. 2000.

CHEN, H.; QUALLS, R.G.; BALK, R.R. Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.82, p.250-268, June 2005.

COLMER, T.D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, London, v.91, p.301-309, 2003a.

COLMER, T.D. Long-distance transport of gases in plants a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.26, n.1, p.17-36, Jan. 2003b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: quarto levantamento, janeiro/2009**. Brasília, 2009. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 29 jan. 2009.

COSTA, M.N.X. **Desempenho de duas gramíneas forrageiras tropicais tolerantes ao estresse hídrico por alagamento em dois solos Glei Húmicos**. 2004. 88p. Tese (Doutorado em Ciências Animal e Pastagens)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

CURI, N.; RESENDE, M.; SANTANA, D. P. **Solos de várzea de Minas Gerais**. Belo Horizonte, v. 13, n. 152, p.3-10, 1988 (Informe Agropecuário).

DANTAS, B.F. **Efeito do cálcio no desenvolvimento e atividade de enzimas de degradação e afrouxamento de parede celular em plântulas de milho (*Zea mays* L.) cv. Saracura – BRS 4154 submetidas à hipoxia**. 1999. 37p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; ALVES, J.D. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividade de celulase em plântulas de milho submetidas a hipoxia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.2, p.251-257, abr./jun. 2001.

DAT, J.F.; CAPELLI, N.; FLOZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT, M. Sensing and signaling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.42, n.4, p.273-282, Apr. 2004.

DELL'AMICO, J.; TORRECILLAS, A.; RODRIGUES, P.; MORALES, D. SANCHE-BLANCO, M.J. Differences in the effects of flooding the soil early and late in the photoperiod on the water relations of grown tomato plants. **Plant Science**, London, v.160, n.3, p.481-487, Feb. 2001.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.48, p.223-250, June 1997.

DREW, M.C.; HE, C.J.; MORGAN, P.W. Programed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in Plant Science**, London, v.5, n.3, p.123-127, Mar. 2000.

ELSE, M.A.; COUPLAND, D.; DUTTON, L.; JACKSON, M.B. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis*) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. **Physiology Plant**, Copenhagen, v.111, n.1, p.46-54, Jan. 2001.

EVANS, D.E. Aerenchyma formation. **New Physiologist**, Cambridge, v.161, n.1, p.35-39, Jan. 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Coarse grains production in 2008 to rise above last year's peak**, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/010/ai466e/ai466e04.htm>>. Acesso em: 27 jan. 2009.

FERNÁNDES, M.D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica**, Prague, v.44, n.1, p.32-38, Mar. 2006.

FERRER, J.L.R.; CASTRO, E.M.; ALVES, J.D.; ALENCAR, M.A.; SILVA, S.; VIEIRA, C. V.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do cálcio sobre as características anatômicas de raízes de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154 submetido ao alagamento em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.172-181, 2004.

FERRER, J.L.R.; MAGALHÃES, P.C.; ALVES, J.D.; VASCONCELLOS, C.A.; DELÚ FILHO, N.; FIRES, D.D.; MAGALHÃES, M.M.; PURCINO, A.A.C. Calcium relieves the deleterious effects of hypoxia on a maize cultivar selected for waterlogging tolerance. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.4, n.3, p.381-389, 2005.

FITTER, A.H. Characteristics and functions of root systems. In: **Plant roots: the hidden half**. 3.ed. WEISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.). New York: M. Dekker, 2002. p.15-32.

FRIES, D.D. **Atividade da α amilase/invertases e mudanças anatômicas associadas ao cálcio exógeno na germinação e/ou alagamento de plântulas do milho (*Zea mays* L.) ‘Saracura’ – BRS-4154**. 2003. 49p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FRIES, D.D. **Efeito do cálcio em enzimas do sistema antioxidante em plântulas do milho (*Zea mays* L.) ‘Saracura’ – BRS-4154 submetidas à baixa disponibilidade de oxigênio.** 2006. 47p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Plant responses to hypoxia- is survival a balancing act? **Trends in Plant Science**, London, v.9, n.9, p.439-456, Sept. 2004.

GEIGENBERGER, P.; FERNIE A. R.; GIBON, Y.; CHRIST, M.; STITT, M. Metabolic activity decreases as an adaptive response to low internal oxygen in growing potato tubers. **Biological Chemistry**, v.381, n.8, p.723-740, Aug. 2000.

GOUVÊA, J.A. **Crescimento inicial e sobrevivência do milho (*Zea mays* L.) “Saracura” – BRS-4154.** 2001. 44p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HIMMELBAUER, M.L.; LOISKANDLL, W.; KASTANEK, F. Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses system. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.206, n.1-2, p.111-120, Mar. 2004.

JACKSON, M.B. Ethylene promoted elongation: na adaptation to submergence stress. **Annals of Botany**, London, v.101, n.2, p.229-248, Jan. 2008.

KLANT E.; KAMPF N.; SCHNEIDER P. **Solos de várzea no estado do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 42p. (Boletim Técnico, 4).

LEMKE-KEYES, C.A.; SACHS, M.M. Genetic variation for seedling tolerance to anaerobic stress in maize germoplasm. **Maydica**, Bergamo, v.34, n.4, p.329-337, 1989.

LI, S.W.; PEZESHKI, S.R.; GOODWIN, S. Effects of soil moisture regimes on photosynthesis and growth in cattail (*Typha latifolia*). **Acta Oecologica**, Berlin, v.25, n.1-2, p.17-22, Mar. 2004.

LIAO, C.T.; LIN C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of National Science Council**, Beijing, v.25, n.3, p.148-157, Apr. 2001.

LIZASO, J.L.; MELENDEZ, L.M.; RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I Shoot and root growth. **Journal of Plant Nutrients**, New York, v.24, n.7, p.979-995, June 2001.

LOPES, M.J.C. **Estresse oxidativo e análise anatômica em plantas de diferentes ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ BRS-4154 sob encharcamento contínuo**. 2005. 65p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LYNCH, J.P. Roots of the green revolution. **Australian Journal of Botany**, Victory, v.55, n.5, p.493-512, 2007.

MAGALHÃES, P.C.; SOUZA, T.C.; KARAM, D.; PARENTONI, S.N.; PEREIRA, F.J. Características de produção nos ciclos de seleção do milho Saracura BRS 4154 tolerante ao encharcamento do solo. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27., 2008. Londrina. **Anais...** Londrina, Embrapa Milho e Sorgo 2008. CD Rom.

MANO, Y.; OMORI, F.; TAKAMIZO, T.; KINDIGER, B.; MCK.BIRD, R.; LOAISIGA, C.H. Variation for root aerenchyma formation in flooded and non-flooded maize and teosinte seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.281, p.269-279, May 2006.

MCMANMON, M.; CRAWFORD, R.M.M. A metabolic theory of flooding tolerance: the significance of enzyme distribution and behaviour. **New Phytologist**, Oxford, v.70, n.2, p.229-306, 1971.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; ROMERO, J.L.; ALVES, J.D. FRIES, D.D.; MELO, L.A.; MAGALHÃES, P.C. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.3, p.333-342, 2004.

MILLER, C.R.; OCHOA, I.; NIELSEN K.L. BECK, D.; LYNCH, J.P. Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. **Functional Plant Biology**, v.30, n.9, p.973-985, 2003.

MOLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.58, n.1, p.459-481, June 2007.

NEWMAN, E.I. A method of estimating the total length of root in a sample. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.3, n.1, p.139-145, 1966.

NÚÑES FLECHA, P.A. **Sensibilidade das culturas da batata (*Solanum tuberosum* L.) e da alface (*Lactuca sativa* L.) ao excesso de água no solo**. 2004. 68p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem)–Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R.; MAGALHÃES, P.C. Seleção para tolerância ao encharcamento em milho (*Zea mays* L.). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: o milho em perspectiva, 1995, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1995.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.; LOPES, M.A.; SANTOS, M.X.; GUIMARÃES P.E.O.; PACHECO, C.A.; SOUZA, I.R.O.; MEIRELES, W.; CORREA, L.A. Seleção para tolerância ao encharcamento na variedade de milho CMS54-Saracura. In: REUNION LATINOAMERICANA, 4.; REUNION DELA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EM MAIZE, 17., 1997, Cerete Y Cartagena de Lúdia. **Memória...** Cerete Y Cartagena de Lúdia, Colômbia: CORPOICA/CIMMYT, 1997. p.368-373.

PATERNIANI, E.; NASS, L.L.; SANTOS, M.X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil. In: UDRY, C.V.; DUARTE, W. **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000. 175p.

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

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho ‘Saracura’ em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1649-1656 dez. 2008.

PEZESHKI, S.R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.46, n.3, p.299-312, Dec. 2001.

PINTO, A.C. **Genes induzidos por tratamento com cálcio em raízes do milho (*Zea mays* L.) ‘Saracura’ BRS-4154 em condições de hipoxia.** 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PINTO, L.F.S.; PAULETTO, E.A.; GOMES, A.S.; SOUZA, R.O. Caracterização de solos de várzea. In: GOMES, A.S.; PAULETTO E.A. **Manejo do solo e da água em áreas de várzea.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. 201p.

PURCINO, R.P. **Efeito fisiológico do cálcio na germinação e crescimento inicial de plântulas de milho BR- 154 “Saracura” e sua relação com o aumento da tolerância ao alagamento.** 2001. 40p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RAIJ, B.V. **Fertilidade do solo e adubação.** Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo, 1991. 343p.

SÁ, J.S.; CRUCIANI, D.E.; PEREIRA, J.R.B. Susceptibilidade da ervilha a inundações temporária do solo. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.496-503, set./dez. 2003.

SACHS, M.M.; SUBBAIAH, C.; SAAB, I. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.47, n.249, p.1-15, Jan. 1996.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P.S.; SRIVASTAVA, G.C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.52, n.3, p.401-412, 2008.

SEAGO, J.L.; MARSH, L.C.; STEVENS, K.J.; SOUKUP, A.; VOTRUBOVÁ, D.E.; ENSTONE, D.E. A reexamination of the root cortex in wetland flowering plants with respect to aerenchyma, **Annals of Botany**, London, v.96, n.4, p.565-579, Aug. 2005.

SETTER, T.L.; WATERS, I. Review of prospects for germplasm for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.253, n.1, p.1-34, June 2003.

SILVA, A.C.; ROSADO, S.C.S.; CALEGARIO, N.; RODRIGUES, E.A.C.; OLIVEIRA, A.N.; VIEIRA, C.T. Variações genéticas na qualidade do sistema radicular de mudas de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.4, p.609-617, July/Aug. 2007.

SILVA, S.D.A.; SERENO, M.J.C.C.M.; SILVA, C.F.L.; OLIVEIRA, A.C.; NETO, J.B. Inheritance of tolerance to flooded soils in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.7, n.2, p.165-172, 2007.

SOUKUP, A.; ARMSTRONG, W.; SCHREIBER, L.; FRANKE, R.; VOTRUBOVÁ, O. Apoplastic barriers to radial oxygens loss and solute penetration: a chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. **New Physiologist**, Cambridge, v.173, n.2, p.264-278, Jan. 2007.

STEFANO, F.; SALGADO, E. O desafio de alimentar 6 bilhões de pessoas. **Revista Exame**, jun. 2008. Disponível em: <http://planetasustentavel.abril.com.br/noticia/desenvolvimento/conteudo_282859.shtml>. Acesso em: 9 set. 2008.

SUBBIAIAH, C.C.; SACHS, M.M. Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. **Annals of Botany**, London, v.91, n.2, p.119-127, Jan. 2003.

SUSZKIW, J. After the flood - satellites show damage to midwest farmlands. **Agricultural Research**, May 1994. Disponível em: <http://findarticles.com/p/articles/mi_m3741/is_n5_v42/ai_15424850>. Acesso em: 29 jan. 2009.

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v.63, n.3, p.995-1001, 1975.

TOURNAIRE-ROUX, C.; SUFKA, M.; JAVOT, H.; GOUT, E.; GERBEAU, P.; LUU, D.T.; BLIGNY, R.; MAUREL, C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. **Nature**, v.425, p.393-397, 2003.

VASELLATI, V.; OESTERHELDS, M.; MEDAN, D.; LORETI, J. Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, London, v.88, n.3, p.355-360, Apr. 2001.

VITORINO, P.G.; ALVES, J.D.; MAGALHÃES, P.C.; MAGALHÃES, M.M.; LIMA, L.C.O.; OLIVEIRA, L.E.M. Flooding tolerance and cell wall alterations in maize mesocotyl during hypoxia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.8, p.1027-1035, ago. 2001.

VODNIK, D.; STRAJNAR, P.; JEMC, S.; MACEK, I. Respiratory potential of maize (*Zea mays* L.) roots exposed to hypoxia. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.65, n.1, p.107-110, Jan. 2009.

VOESENEK, J.A.C.; COLEMAN, T.D.; PIETLIK, R.; MILLENAAR, F.F.; PEETERS, A.J.M. How plants cope with complete submergence. **New Phytologist**, Cambridge, v.170, n.2, p.213-226, Apr. 2006.

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

ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop stages and identification of tolerant genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.90, n.2-3, p.189-202, Dec. 2004.

ZAIDI, P.H.; SELVAN, P.M.; SULTANA, R.; SRIVASTAVA, A.; SINGH, A.K.; SRINIVASAN, G.; SINGH, R.P.; SINGH, P.P. Association between line *per se* and hybrid performance under excessive soil moisture stress in tropical maize (*Zea mays* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v.101, n.1, p.117-126, Feb. 2007.

YORDANOVA, R.Y.; UZUNOVA, A.; POPOVA, L.P. Effects of short-term soil flooding on stomata behaviour and leaf gas exchange in barley plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.49, n.2, p.317-319, June 2005.

WAHL, S.; RYSER, P.; EDWARDS, P.J. Phenotypic plasticity of grass root anatomy in response to light intensity and nutrient supply. **Annals of Botany**, London, v.88, n.6, p.1071-1078, 2001.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS RADICULARES EM CICLOS DE SELEÇÃO DO MILHO 'SARACURA' SOB ENCHARCAMENTO DO SOLO

Thiago Corrêa de Souza^{I*}, Paulo César Magalhães^{II}, Fabrício José Pereira^I,
Evaristo Mauro de Castro^I

O capítulo 2 será transcrito em formato de artigo e encaminhado para submissão ao Periódico Científico **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira PAB**

^I Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Lavras, MG, Brasil, caixa postal 37, CEP 37200-000.

^{II} Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil, caixa postal 151, CEP 35701-970

* Autor para correspondência. Email: thiagonepre@hotmail.com

1 RESUMO

O milho é uma cultura sensível ao encharcamento do solo e seu cultivo nessas áreas pode levar a perdas consideráveis. A sensibilidade do milho em condições de hipoxia levou a Embrapa Milho Sorgo a desenvolver, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade tolerante ao encharcamento intermitente do solo, o ‘Saracura-BRS 4154’. Atualmente, esta variedade se encontra no 18º ciclo anual de seleção. Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar, nos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, o ganho em relação às características morfológicas radiculares, por meio do analisador de imagens WinRHIZO. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, iniciando o encharcamento do solo logo após a emergência. Foram utilizados uma testemunha (BR 107) e dez ciclos de seleção (C1 a C18, alternados). O ensaio foi colhido aos 18 dias após a emergência. As características morfológicas radiculares avaliadas foram: matéria seca: da parte aérea, da raiz, total e relação raiz/parte aérea; comprimento total de raiz; área de superfície de raiz total; diâmetro médio de raiz; volume de raiz total; comprimento específico, densidade de tecido de raiz e comprimento por classes de diâmetro (muito fina, fina e grossa). Não houve diferenças significativas nas características de massa seca, comprimento de raízes muito fina e grossa, diâmetro médio e área superficial de raízes grossas. No entanto, os últimos ciclos de seleção apresentaram raízes mais finas, maior volume, área superficial e comprimento radicular com baixo custo metabólico, o qual favorece a sobrevivência das plantas em ambientes encharcados.

Palavras-chave: WinRHIZO, encharcamento, *Zea may* L., morfologia de raízes, milho ‘Saracura’.

2 ABSTRACT

Maize crop is sensitive to soil flooding, and its cultivation in these conditions will cause significant losses in crop productivity. Due to this fact Embrapa Maize and Sorghum Research Center develop through mass selection a maize variety tolerant to intermittent soil flooding: the Saracura Maize – BRS 4154. This variety is on 18⁰ annual selection cycle. The objective of this work was to verify gains related to morphological characteristics in the Saracura maize selection cycles, by using a digital image analyzer called WinRHIZO. The experiment was carried out in green house conditions at Embrapa Maize and Sorghum Research Center, Sete Lagoas city, MG. The soil flooding started right after plant emergence. It was studied 11 treatments, including a check and 10 cycles of selection (C1 throughout C18, alternated). The trial was harvested 18 days after emergence, evaluating morphological characteristics, such as: shoot and root dry matter, shoot/root ratio, root total length, root total surface area, root average diameter, total root volume, specific length, root tissue density and length by classes (very fine, fine and thick). There was no significant differences on dry matter parameters, root very fine length and thick, average diameter and superficial area of thick roots. The last cycles of selection resulted in very fine roots, greater volume, superficial area and root length with low metabolic cost which favors the plant development on these flooded environments.

Key words: WinRHIZO, flooding, *Zea mays* L., root morphology, ‘saracura’ maize.

3 INTRODUÇÃO

Em condições normais, o sistema radicular está em contato com o oxigênio, com uma pressão parcial equivalente à da atmosfera gasosa. A redução desse gás no solo resulta em hipoxia (baixa concentração de oxigênio) ou anoxia (ausência de oxigênio) (Sairam et al., 2008). Esse fenômeno é encontrado, geralmente, em áreas alagadas, como as planícies de inundação mais comumente chamadas de várzeas, onde ocorrem inundações periódicas, nas épocas de chuva, devido ao nível freático pouco profundo (Curi et al., 1988). Geralmente, agricultores dessas regiões cultivam unicamente o arroz, cultura mais adaptada a essas condições, a qual resulta, além de custos elevados de implantação, também em problemas gerados com a monocultura (Silva, S. et al., 2007).

O crescimento é completamente inibido em condições de estresse por hipoxia. Em condições alagadas, as raízes crescem somente na região superficial e não conseguem explorar totalmente o volume do solo como em condições aeradas. Sem oxigênio nas raízes a respiração mitocondrial é bloqueada e a produção de energia fica restrita à fermentação com um rendimento de 2 ATPs (Fukao & Bailey-Serres; 2004; Sairam et al., 2008). Além disso, a hipoxia diminui a condutividade hidráulica e afeta as aquaporinas, diminuindo a absorção de água e de nutrientes da raiz (Dell'amico et al., 2001; Tournaire-Roux et al., 2003).

É relatado que raízes finas (até 2 mm) são responsáveis pela absorção de água e nutrientes e as raízes grossas são responsáveis, principalmente, pela fixação da planta ao solo (Fitter, 2002; Silva, A. et al., 2007a). Enquanto a biomassa radicular determina o custo associado à construção e à manutenção, o comprimento de raízes determina a capacidade de adquirir água e nutrientes (Bouma et al., 2000). Muitos estudos têm revelado mudanças morfoanatômicas

em plantas frente ao excesso hídrico (Vasellati et al., 2001; Jackson, 2008; Vodnik et al., 2009).

Um dos métodos mais utilizados na caracterização da morfologia é o proposto por Newman (1966) e modificado por Tennant (1975). Sua ampla utilização é particularmente devido ao pequeno tempo requerido para realizar as análises, em comparação aos métodos manuais. Além disso, softwares baseados neste mesmo método conseguem, por meio da análise de imagens digitais, realizar medidas até então não mensuradas, como número de raízes finas e diâmetro médio das raízes (Bouma et al., 2000, Costa et al., 2002). De acordo com Himmelbauer et al. (2004), o software WinRHIZO Basic (Regent) realiza medidas precoces de parâmetros morfológicos (comprimento, área e volume) bastante adequados para estudos de raízes lavadas.

Na tentativa de buscar um aumento na produção de alimentos, o milho se torna uma espécie oportuna para preencher as áreas ociosas logo após a colheita do arroz nas várzeas. Sabe-se que o milho é uma cultura sensível ao encharcamento e seu cultivo nessas áreas pode levar a perdas consideráveis. Entretanto, uma grande variabilidade genética tem sido encontrada na espécie *Zea mays* L., sendo de grande valia para os melhoristas (Zaidi et al., 2003; Zaidi et al., 2004).

A sensibilidade do milho em condições de hipoxia levou a Embrapa Milho Sorgo a desenvolver, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho tolerante ao encharcamento do solo: o ‘Saracura-BRS 4154’ (Parentoni et al., 1997). Atualmente, esta variedade se encontra no 18º ciclo anual de seleção. Uma das características pouco estudadas no milho ‘Saracura’ é sua morfologia radicular, o que se justifica pela dificuldade em se amostrar e avaliar as raízes do milho. Não havia, até pouco tempo atrás, aparelhagem ou, mesmo, uma metodologia adequada e confiável que fosse capaz de caracterizar, analisar e quantificar as raízes de milho. Com o

auxílio do sistema de análise de imagens digitais WinRHIZO, esse cenário tende a mudar, sobretudo para a avaliação precoce do sistema radicular.

Com base nesse contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar, nas raízes, o ganho em relação às características morfológicas nos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, utilizando-se o analisador de imagens WinRHIZO.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no mês de janeiro de 2009, em regime de casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG (altitude de 732 m, latitude Sul 19°28’, longitude oeste 44°15’). O encharcamento do solo foi iniciado logo após a emergência. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições e, como material genético, foram utilizados os ciclos de seleção do milho ‘Saracura-BRS 4154’ intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade, BR 107, como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento (Magalhães et al., 2007). O material foi plantado em vasos de 8 kg preenchidos previamente com solo de várzea classificado como Neossolo Flúvico Tb, Eutrófico Típico, textura argilosa, fase relevo plano campos de várzea (Embrapa, 1999). A adubação foi feita de acordo com a recomendação da análise do solo.

O ensaio foi colhido aos 18 dias após a emergência. Para as análises do sistema radicular, foram coletadas 3 plantas inteiras (sistema radicular e parte aérea), retirando-se blocos de solo, com o auxílio de uma espátula de metal separando, portanto, parte aérea e blocos de solo com as raízes. A parte aérea das três plantas foi levada para estufa de circulação forçada, a 72°C, até atingir peso constante, para a determinação de massa seca (MSPA – g 3 plantas⁻¹). Os blocos de solo contendo as raízes foram transportados imediatamente para o

Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Milho e Sorgo e colocados em peneiras de 20 Mesh a as raízes foram submetidas à lavagem em água corrente. Em seguida, as raízes das três plantas foram armazenadas em etanol 70%, para evitar desidratação, até o dia da avaliação da morfologia. Após a avaliação, as raízes foram levadas para a estufa, para determinação de massa seca (MSR – g 3 plantas⁻¹), massa seca total (MST – g 3 plantas⁻¹) e relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA) conforme citado para parte aérea.

As raízes foram dispostas em uma cuba de acrílico de 20 cm de largura por 30 cm de comprimento contendo água destilada e sua morfologia foi analisada utilizando-se o sistema WinRHIZO Pro 2007a (Régent Instr. Inc.), acoplado a um *scanner* profissional Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU). Foi utilizada uma definição de 400 (dpi), como descrito por Bouma et al. (2000) e Costa et al. (2002).

As características morfológicas radiculares avaliadas foram: comprimento total de raiz (CTR - cm), área superficial de raiz total (ASR – cm²), diâmetro médio de raiz (DMR – mm), volume de raiz total (VRT – cm³), comprimento específico (CE – cm g⁻¹) e densidade de tecido de raiz (DTR – g cm⁻³). Também foram realizadas classificações de raízes por três classes de diâmetro, como proposto por Bhom (1979), que forneceu raízes muito finas ($\varnothing < 0,5$ mm), raízes finas ($0,5 \text{ mm} < \varnothing < 2$ mm) e raízes grossas ($\varnothing > 2$ mm).

Os dados foram testados quanto à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk, e quanto à homocedacidade, pelo teste de Lavene e apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. Para análise estatística dos resultados, utilizaram-se a análise de variância e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 5% de probabilidade, no programa estatístico gratuito SISVAR versão 4.3 (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado um aumento significativo nas características de comprimento total de raiz, área superficial e volume total nos últimos ciclos de seleção, em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Essa significância foi especialmente observada em C15, C17 e C18 para CTR, enquanto que, para ASR (excetuando o C15) e VTR, foi observado o acréscimo a partir do sétimo ciclo de seleção (C7). O CTR do primeiro ciclo correspondeu a 68,8% do comprimento encontrado no último ciclo. Em relação à testemunha, o comprimento foi menor correspondendo a 60,1% do ciclo 18. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para a característica DMR (Tabela 1).

TABELA 1 Médias dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ (C1 a C18) e testemunha (BR 107), submetidos ao encharcamento, para as características de raiz: comprimento total (CTR), área superficial (ASR), diâmetro médio (DMR) e volume total (VRT).

Tratamentos	CTR cm	ASR cm ²	DMR mm	VRT cm ³
BR107	1740,50b *	315,20b	0,306a	4,508b
C1	1993,22b	356,85b	0,356a	4,846b
C3	1700,90b	359,00b	0,305a	5,500b
C5	1984,20b	410,02b	0,359a	5,074b
C7	2017,90b	500,20a	0,387a	7,830a
C9	2391,20a	516,09a	0,369a	7,375a
C11	2059,97b	508,10a	0,331a	7,000a
C13	2060,69b	442,37a	0,389a	6,530a
C15	2522,04a	363,90b	0,305a	6,730a
C17	2775,87a	481,05a	0,362a	7,630a
C18	2896,61a	527,80a	0,367a	7,810a
CV(%)	17,11	21,50	23,27	21,36

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade (P>0,05).

Mudanças na morfologia radicular foram verificadas por Henshaw et al. (2007), estudando a morfologia da soja (*Glycine max* L. Merr) pelo uso de imagens digitais por meio do WinRHIZO. Esses autores verificaram uma diminuição no comprimento, na área superficial, no volume e no diâmetro de raízes primárias alagadas em relação ao controle (não alagado).

Vários estudos mostram a inibição no comprimento de raízes em plantas alagadas (Bouma et al., 2001; Bell & Sultan, 1999). Albrechtová et al. (1997), testando um método não destrutivo com imagens 3D de raízes de milho cv. CE 250, estimaram uma diminuição no comprimento total radicular devido a condições de hipoxia por alagamento. Henshaw et al. (2007) também observaram um aumento nas características morfológicas de raízes adventícias de soja (comprimento, volume, área superficial) no decorrer das semanas de alagamento, sendo a presença destas raízes uma importante característica para a adaptação a ambientes com hipoxia.

Alguns autores demonstraram que a presença de raízes adventícias em milho e em outras espécies pode favorecer a aeração e a absorção de água e nutrientes em regiões em que as raízes seminais têm sido severamente afetadas, favorecendo, assim, a exploração do solo e a tolerância ao encharcamento (Drew et al., 1979; Colmer, 2003; Zaidi et al., 2004).

Vodnik et al. (2009), em estudos com milho, relataram que um aumento no número de raízes adventícias propiciou um maior comprimento total de raízes, portanto, é possível que o aumento no comprimento total das raízes do milho ‘Saracura’ esteja diretamente ligado às raízes adventícias. Um maior comprimento da raiz total dos últimos ciclos do milho ‘Saracura’ pode favorecer a adaptação das plantas de milho, pela maior exploração de nutrientes e oxigênio do solo. O mesmo foi encontrado no interior de florestas de mangu, e em plantas que aumentam sua proliferação radicular como estratégia para a captura de nutrientes e a diminuição da perda de oxigênio (Mckee, 2001).

A ASR e o VRT também foram maiores a partir do sétimo ciclo de seleção, correspondendo a um aumento de 40,3% (C18) e 38% (C18), respectivamente, em relação ao primeiro ciclo (Tabela 1). A testemunha foi a que apresentou menores valores em relação à área superficial e ao volume, contudo, nas duas características avaliadas, os ciclos 1, 2, 3 mais a testemunha estiveram agrupados como estatisticamente iguais.

Estudos de tolerância ao encharcamento do solo em várzeas indianas relataram aumento no volume total de raízes nos genótipos tolerantes (CM-118 e CM-501) em relação aos sensíveis (CML-80 e CML-75). Nestes estudos, os autores relataram que o genótipo tolerante CM-118, em relação a condições de normoxia, teve um acréscimo de 40,4% do volume radicular em condições de hipoxia (Zaidi et al., 2003), mostrando que diferenças no volume podem ter contribuído no grau de tolerância tanto no CM-118 como no presente estudo com o ‘Saracura’. Um aumento no volume de raízes para cereais, quando a concentração de nutrientes é a mesma em toda superfície radicular, pode levar a uma maior eficiência de absorção de nutrientes (Costa et al., 2002). Já Imada et al. (2008) afirmam que a área superficial de raiz é que está mais relacionada com a absorção de nutrientes. Uma maior área de superfície pode ajudar a planta a obter fontes de nutrientes que estão deficientes. Em solos encharcados, normalmente, há diminuição na disponibilidade de nutrientes (Azevedo et al., 2000); em contrapartida, os últimos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ na presente pesquisa poderão apresentar maior eficiência na absorção devido ao aumento das características anteriormente citadas.

Apesar de serem encontrados trabalhos mostrando aumento do diâmetro de raízes de outras espécies alagadas (Visser et al., 1996), com o milho não foram encontradas diferenças significativas no diâmetro entre os ciclos de seleção do ‘Saracura’ submetidos ao encharcamento. Ryser (2006) aponta que raízes com maior diâmetro podem levar a uma diminuição do comprimento

específico, entretanto, alterações no comprimento específico de raízes no milho ‘Saracura’ estudado neste trabalho não ocorreram em detrimento do diâmetro.

A análise de raízes de milho por classe de diâmetros também mostrou diferenças significativas entre os ciclos nas características CRF, ASMF, ASF (Tabela 2). Houve um aumento destas características, sobretudo nos dois últimos ciclos de seleção, para CRF e ASMF e a partir do C15 para ASF. O ciclo 18 apresentou CRF 38,5% maior que a testemunha (Tabela 2). O ciclo 18 apresentou ASMF e ASF, respectivamente, 23,3% e 36,4% maiores do que o primeiro ciclo. Não houve diferenças estatisticamente significativas para comprimento de raízes muito finas (CRMF), comprimento de raízes grossas (CRG) e área superficial de raízes grossas (ASG).

Como o método de seleção utilizado no milho ‘Saracura’ foi o recorrente, em que uma mistura balanceada de sementes do ciclo atual com o ciclo anterior é plantada em uma área de tabuleiro e submetida a encharcamento para a obtenção do novo ciclo, nem sempre ocorrem ganhos genéticos lineares. Devido a esse fator, em algumas características (CTR, ASR, VRT, CRF, ASMF e ASF), podem-se observar maiores médias em alguns ciclos iniciais do que nos ciclos mais avançados (Tabelas 1 e 2).

TABELA 2 Médias das características CRMF (comprimento de raízes muito finas), CRF (comprimento de raízes finas), CRG (comprimento de raízes grossas), ASMF (área superficial de raízes muito finas), ASF (área superficial de raízes finas), ASG (área superficial de raízes grossas), MSPA (massa seca da parte aérea), MSR (massa seca da raiz), MST (massa seca total), MSR/MSPA (relação massa raiz/parte aérea), CE (comprimento específico) e DTR (densidade de tecido de raiz) dos ciclos de seleção (C1 a C18) do milho ‘Saracura’ e testemunha (BR107) submetidos ao encharcamento.

Tratamentos	CRMF cm	CRF cm	CRG cm	ASMF cm ²	ASF cm ²	ASG cm ²
BR107	1389,56a*	496,30b	39,32a	0992,50b	206,20b	47,50a
C1	1418,72a	619,66b	52,21a	1239,00b	165,92b	63,70a
C3	1290,91a	538,74b	43,80a	1077,50b	176,93b	53,62a
C5	1491,22a	614,58b	50,72a	1229,00b	200,90b	62,35a
C7	1764,17a	739,06a	61,57a	1477,75a	240,55a	80,93a
C9	2076,84a	769,85a	57,21a	1539,75a	211,99b	68,45a
C11	1396,10a	641,83b	34,56a	1283,75b	251,83a	41,19a
C13	1737,32a	673,53a	46,60a	1247,25a	219,60b	57,62a
C15	1348,83a	566,07b	38,38a	1132,25b	242,76a	46,45a
C17	1661,32a	729,11a	57,83a	1448,25a	242,64a	70,59a
C18	2006,00a	807,75a	54,77a	1615,25a	260,87a	68,19a
CV(%)	26,77	20,04	32,07	20,04	18,18	34,84

Tratamentos	MSPA (G pl. ⁻³)	MSR (G pl. ⁻³)	MST (G pl. ⁻³)	MSR/MSPA	CE (cm/g)	DTR (g cm ⁻³)
BR107	6,38a	0,60a	6,98a	0,097a	2920,4b	0,132a
C1	6,02a	0,63a	6,64a	0,105a	3226,2b	0,130a
C3	5,82a	0,60a	6,42a	0,102a	3062,8b	0,122a
C5	5,60a	0,62a	6,23a	0,145a	3201,1b	0,120a
C7	5,27a	0,66a	5,93a	0,127a	3095,4b	0,097b
C9	5,20a	0,52a	5,72a	0,102a	4683,1a	0,075b
C11	6,21a	0,70a	6,88a	0,120a	3105,1b	0,095b
C13	5,82a	0,65a	6,47a	0,112a	3177,9b	0,102b
C15	5,52a	0,64a	6,15a	0,117a	4031,1a	0,092b
C17	6,39a	0,66a	7,05a	0,107a	4330,2a	0,092b
C18	5,90a	0,77a	6,67a	0,130a	5197,4a	0,075b
CV(%)	12,59	12,55	11,84	14,01	23,11	22,31

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade (P>0,05).

As raízes finas têm grande (quase que total) papel na absorção de água e nutrientes (Eissenstat et al., 2000). Plantas com grandes quantidades de raízes

finas podem resultar em plantas mais vigorosas (Silva, S. et al., 2007). Essa são, portanto, as possíveis razões para que os últimos ciclos de seleção apresentem maior quantidade de raízes finas e maior área de superfície, favorecendo a exploração e a obtenção de água e nutrientes. Ao contrário, os primeiros ciclos e a testemunha apresentaram baixo desenvolvimento de raízes finas e, conseqüentemente, baixa área superficial radicular. O encharcamento pode levar à inibição e à morte de raízes, principalmente as finas. Estudos morfológicos de *Populus alba* mostraram que raízes finas (até 1 mm de diâmetro) foram inibidas devido à exposição a baixas concentrações de oxigênio, em decorrência da lenta difusão de gases na água comparado com o ar (Imada et al., 2008).

Com relação ao acúmulo de matéria seca, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, para as características MSR, MSPA, MST, MSR/MSPA (Tabela 2). Trabalhos de melhoramento de milho para ambientes encharcados têm utilizado o acúmulo de matéria seca da raiz e parte aérea como características determinantes (Silva et al., 2006; Silva, A. et al., 2007). Decréscimo na acumulação de massa seca em condições de hipoxia tem sido noticiado em plantas jovens de milho (Zaidi et al., 2003). Nestas condições, os genótipos sensíveis ao encharcamento tiveram menor massa seca radicular, resultando em um decréscimo na relação MSR/MSPA. Entretanto genótipos tolerantes apresentaram maior massa seca de raiz e total.

Para CE e DTR foram observadas diferenças significativas (Tabela 2). Os ciclos 9, 15, 17 e 18 apresentaram comprimento específico (CE) semelhantes, porém, diferentes entre os tratamentos restantes, os quais apresentaram menores médias. O ciclo 18 resultou em um aumento de 43,8% de comprimento específico em relação à testemunha.

Para a densidade de tecido de raiz (DTR), os ciclos 1, 3, 5 e a testemunha apresentaram mesmo grupo estatístico com maiores médias em relação aos demais tratamentos. A maior densidade ocorreu na testemunha com

0,132 g cm⁻³ e as menores densidades ocorreram nos ciclos 9 e 18, com um valor de 0,75 g cm⁻³.

Teoricamente, um maior comprimento específico reflete em uma maior exploração e aquisição de água e nutrientes no solo por unidade de carbono investido (Bouma et al., 2001). Portanto, as raízes dos ciclos 9, 15, 17 e 18 do milho ‘Saracura’ apresentam menor gasto de construção linear (gramas de carbono/comprimento), por apresentarem maior comprimento específico (Tabela 2). Em ambiente desfavorável, é de suma importância o crescimento da raiz (para maior exploração do solo) sem gasto dispendioso (Ryser, 2006). Bell & Sultan (1999) observaram maior exploração do solo por *Polygonum persicaria* e *Polygonum cespitosum*, devido ao aumento no comprimento específico sob condições de alagamento. Tais respostas, tanto no gênero *Polygonum* quanto no milho ‘Saracura’, contrariam a hipótese de alguns autores (Eissenstat, 1992) que relataram que um maior comprimento específico e maior comprimento de raízes finas seriam desvantajosos em ambientes alagados, pois aumentaria a área superficial radicular, o que, de acordo com Sorrel (1994), leva a uma maior perda de oxigênio das raízes para o solo.

De fato, no milho ‘Saracura’ houve um aumento tanto do comprimento específico quanto da área superficial (de raízes muito finas, finas e totais), porém, Mckee (2001) e Bell & Sultan (1999) relataram que a presença de estruturas anatômicas envolvidas no aumento da concentração interna de oxigênio, como aerênquimas, invalida esta hipótese em relação à área superficial radicular. Ao longo dos 18 ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, Pereira et al. (2008) observaram um aumento significativo na área de aerênquima, em que o ciclo 1 apresentou apenas 10,8% da área do ciclo 18. Ainda nesse trabalho, em comparação com a mesma testemunha (BR 107), o incremento de área foi ainda maior, tendo a área de aerênquima do BR107 representado apenas 2% da encontrada no ciclo 18. Portanto, os aerênquimas presentes em grandes

quantidades nos últimos ciclos favorecem a aeração e, conseqüentemente, maior absorção de água e nutrientes nas raízes com características (comprimento total e/ou específico e área superficial) otimizadas. Além disso, é relatado que a presença de adaptações anatômicas, como aerênquimas, está associada à redução do custo metabólico de raízes em crescimento, além de diminuir a densidade de tecido radicular (Lynch & Ho, 2005).

Altas densidades de tecido de raiz apresentadas pelo BR 107, ciclos 1, 3 e 5, são exemplos de características de espécies inseridas em ambientes de estresse que acabam diminuindo o comprimento específico (Craine et al., 2001). Raízes com grande quantidade de tecido morto, como esclerênquima, possuem altas densidades de tecido (Wahl & Ryser, 2000). A presença de raízes mais compridas e finas nem sempre leva a uma maior eficiência na absorção de águas e nutrientes, pois elas podem estar velhas e mais impermeáveis. Com isso, modificações anatômicas durante a maturidade de tecidos, por suberização, cutinização e formação de tecidos secundários, determinarão o padrão de absorção pelas partes radiculares (Hopikins, 1995).

Pereira et al. (2008) observaram um aumento da espessura das células suberizadas (exoderme) presentes na região da hipoderme nos ciclos iniciais do milho 'Saracura'. O ciclo 18 apresentou uma redução de 54,22% da espessura exoderme em relação aos ciclos iniciais. O aumento da camada suberizada pode ter influenciado o aumento da densidade de tecido dos ciclos iniciais e, conseqüentemente, diminuído o comprimento específico. Já os últimos ciclos podem ter apresentado menor densidade de tecido em consequência do aumento de aerênquima e da diminuição de tecidos suberizados.

Finalmente, o comprimento específico de raiz nos ciclos de seleção do milho 'Saracura' pode estar negativamente correlacionado com a espessura da exoderme, como observado em *Citrus*, por Eisseenstat et al. (2000). Os menores comprimentos de raiz nos primeiros ciclos mostram que houve maior

investimento em tecido suberizado do que em comprimento e que estas raízes podem estar com o padrão de absorção e desenvolvimento diminuído, por causa do aumento de tecidos suberizados e pela falta de ventilação através dos aerênquimas.

6 CONCLUSÕES

A seleção ao longo do tempo, no milho 'Saracura', foi eficiente para alguns caracteres morfológicos das raízes, os quais favorecem a sua sobrevivência em ambientes encharcados.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHTOVÁ, J.; KUBÍNOVÁ, L.; VOTRUBOVÁ, O.; ELIÁSOVÁ, K. Non-destructive stereological method for estimating the length of rigid root systems. **Biologia Plantarum**, Praga, v.40, n.2, p.311-316, Sept. 1997.

AZEVEDO, W.R.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.C. Boro em rabanete cultivado em solos de várzea: produção de matéria seca, níveis críticos nos solos e na planta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.5, p.7-14, Dez. 2000.

BELL, D.L.; SULTAN, S.E. Dynamic phenotypic plasticity for root growth in *Polygonum*: a comparative study. **American Journal of Botany**, Iowa, v.86, n.6, p.807-819, June 1999.

BOHM, W. **Methodsof studying root systems**. New York: Springer-Verlag, 1979. 189p.

BOUMA, T.J.; NIELSON, K.L.; KOUTSTAAL, B.A.S. Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.218, n.1-2, p.185-196, Jan. 2000.

BOUMA, T.J.; NIELSEN, K.L.; VAN HAL, J.; KOUTSTAAL, B. Root system topology and diameter distribution of species from habitats differing in inundation frequency. **Journal Ecology**, Oxford, v.15, n.3, p.360-369, June 2001.

COLMER, T.D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, London, v.91, p.301-309, 2003.

COSTA, C.; DWYER, L.M.; ZHOU, X.; DUTILLEUL, P.; HAMEL, C.; REID, L.M.; SMITH, D.L. Root morphology of contrasting maize genotypes. **Agronomy Journal**, Madison, v.94, n.1, p.96-101, Jan./Feb. 2002.

CRAINE, J.M.; FROEHLE, J.; TILMAN, D.G.; WEDIN, D.A.; CHAPIN, F.S. **Oikos**, Copenhagen, v.93, n.2, p.274-285, May 2001.

CURI, N.; RESENDE, M.; SANTANA, D.P. Solos de várzea de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.13, n.152, p.3-10, 1988.

DELL'AMICO, J.; TORRECILLAS, A.; RODRIGUES, P.; MORALES, D.; SANCHE-BLANCO, M.J. Differences in the effects of flooding the soil early and late in the photoperiod on the water relations of grown tomato plants. **Plant Science**, London, v.160, n.3, p.481-487, Feb. 2001.

DREW, M.C.; JACKSON, M.B. GIFFARD, S. Ethylene-promoted adventitious rooting and development of cortical air spaces (aerenchyma) in roots may be adaptive responses to flooding in *Zea mays* L. **Planta**, Berlin, v.147, n.1, p.83-88, Oct. 1979.

EISSENSTAT, D.M. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.15, n.6-7, p.763-782, 1992.

EISSENSTAT, D.M.; WELLS, C.E.; YANAI, R.D. Building roots in a changing environment: implications for root longevity. **New Phytologist**, Oxford, v.147, n.1, p.33-42, July 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Solos, 1999. 412p.

FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA/DEX, 2000. 66p.

FITTER, A.H. Characteristics and functions of root systems. In: WEISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.). **Plant roots: the hidden half**. 3.ed. New York: M. Dekker, 2002. p.15-32.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Plant responses to hypoxia- is survival a balancing act? **Trends in Plant Science**, London, v.9, n.9, p.439-456, Sept. 2004.

HENSHAW, T.L.; GILBERT, R.A.; SCHOLBERG, J.M.S.; SINCLAIR, T.R. Soya bean (*Glycine max* L. Merr.) genotype response to early-season flooding: I. root and nodule development. **Journal Agronomy & Crop Science**, Lexington, v.193, n.3, p.177-188, 2007.

HIMMELBAUER, M.L.; LOISKANDLL, W.; KASTANEK, F. Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses system. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.206, n.1-2, p.111-120, Mar. 2004.

HOPIKINS, W.G. **Introduction to plant physiology**. New York: J. Wiley, 1995. 464p.

IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Water table depth effects *Populus alba* fine root growth and whole plant biomass. **Functional Ecology**, London, v.22, n.6, p.1018-1026, Dec. 2008.

JACKSON, M.B. Ethylene promoted elongation: na adaptation to submergence stress. **Annals of Botany**, London, v.101, n.2, p.229-248, Jan. 2008.

LYNCH, J.P.; HO, M.D. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.269, n1-2, p.45-56, Feb. 2005.

MAGALHÃES, P.C.; FERRER, J.L.R.; ALVES, J.D.; VASCONSELLOS, C.A.; CANTÃO, F.R.O. Influência do cálcio na tolerância do milho 'saracura' BRS- 4154 ao encharcamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.1, p.40-49, 2007.

MCKEE, K.L. Root proliferation in decaying roots and old root channels: a nutrient conservation mechanism in oligotrophic mangrove forests? **Journal of Ecology**, Oxford, v.89, n.5, p.876-887, Oct. 2001.

NEWMAN, E.I. A method of estimating the total length of root in a sample. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.3, n.1, p.139-145, 1966.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.; LOPES, M.A.; SANTOS, M.X.; GUIMARÃES, P.E.O.; PACHECO, C.A.; SOUZA, I.R.O; MEIRELES, W.; CORREA, L.A. Seleção para tolerância ao encharcamento na variedade de milho CMS54-Saracura. In: REUNION LATINOAMERICANA, 4.; REUNION DELA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EM MAIZE, 17., 1997, Cerete Y Cartagena de Indias. **Memória...** Cerete Y Cartagena de Indias, Colômbia: CORPOICA/CIMMYT, 1997. p. 368-373.

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1649-1656, dez. 2008.

RYSER, P. The mysterious root length. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.286, n.1-2, p.1-6, Aug. 2006.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P.S.; SRIVASTAVA, G.C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.52, n.3, p.401-412, 2008.

SILVA, A.C.; ROSADO, S.C.S.; CALEGARIO, N.; RODRIGUES, E.A.C.; OLIVEIRA, A.N.; VIEIRA, C.T. Variações genéticas na qualidade do sistema radicular de mudas de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.4, p.609-617, July/Aug. 2007.

SILVA, S.D.A.; SERENO, M.J.C.C.M.; SILVA, C.F.L.; OLIVEIRA, A.C.; BARBOSA NETO, J. Capacidade combinatória de genótipos de milho para a tolerância ao encharcamento do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.391-396, Mar./Abr. 2006.

SILVA, S.D.A.; SERENO, M.J.C.C.M.; SILVA, C.F.L.; OLIVEIRA, A.C.; BARBOSA NETO, J.B. Inheritance of tolerance to flooded soils in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.7, n.2, p.165-172, 2007.

SORRELL, B.K. Airspace structure and mathematical modeling of oxygen diffusion, aeration and anoxia in *Eleocharis aphacelata* R. Br. Roots. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Melbourne, v.45, n.8, p.1529-1541, 1994.

- TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v.63, n.3, p.995–1001, 1975.
- TOURNAIRE-ROUX, C.; SUFKA, M.; JAVOT, H.; GOUT, E.; GERBEAU, P.; LUU, D.T.; BLIGNY, R.; MAUREL, C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. **Nature**, London, v.425, p.393-397, 2003.
- VASELLATI, V.; OESTERHELDS, M.; MEDAN, D.; LORETI, J. Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, London, v.88, n.3, p.355-360, Apr. 2001.
- VISSER, E.J.W.; BLOM, C.W.P.M.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding-induced adventitious rooting in *Rumex*, morphology and development in an ecological perspective. **Acta Botânica Neerlandica**, Holanda, v.45, n.1, p.17-28, Mar. 1996.
- VODNIK, D.; STRAJNAR, P.; JEMC, S.; MACEK, I. Respiratory potential of maize (*Zea mays* L.) roots exposed to hypoxia. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.65, n.1, p.107-110, Jan. 2009.
- WAHL, S.; RYSER, P.; EDWARDS, P. J. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. **New Phytologist**, Cambridge, v.148, n.3, p.459-471, 2000.
- ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N. Response of maize (*Zea mays* L.) genotypes to excess soil moisture stress: morpho-physiological effects and basis of tolerance. **European Journal Agronomy**, Amsterdam, v.19, n.3, p.383-399, July 2003.
- ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop stages and identification of tolerant genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.90, n.2-3, p.189-202, Dec. 2004.
- WAHL, S.; RYSER, P.; EDWARDS, P. J. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. **New Phytologist**, Cambridge, v.148, n.3, p.459-471, 2000.

CAPÍTULO 3

MODIFICAÇÕES NA ANATOMIA RADICULAR DOS CICLOS DE SELEÇÃO DO MILHO ‘SARACURA’ SOB ALAGAMENTO INTERMITENTE

O capítulo 3 será transcrito em formato de artigo e encaminhado para submissão ao Periódico Científico **Revista Plant Soil and Environmental**

Thiago Corrêa de Souza^{I*}, Paulo César Magalhães^{II}, Fabrício José Pereira^I,
Evaristo Mauro de Castro^I, Sidney Netto Parentoni^{II}

^I Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Lavras, MG, Brasil, caixa postal 37, CEP 37200-000.

^{II} Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil, caixa postal 151, CEP 35701-970

* Autor para correspondência. Email: thiagonepre@hotmail.com

1 RESUMO

O estresse imposto por alagamento do solo constitui um dos maiores impactos na distribuição e na produtividade de culturas. Aproximadamente 6% da superfície terrestre estão sujeitos ao alagamento temporário. No Brasil, cerca de 33 milhões de hectares, representados pelas várzeas, se encontram nessa condição, estando 12 milhões localizados na região dos Cerrados. A cultura do milho apresenta-se como uma opção válida para o aproveitamento dessas áreas. Este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar as modificações nas estruturas anatômicas radiculares em sucessivos ciclos de seleção do milho 'BRS 4154-Saracura'. Essa variedade possui capacidade de sobreviver e produzir em solos temporariamente alagados e foi desenvolvida, pela Embrapa Milho e Sorgo, por seleção recorrente fenotípica estratificada. Atualmente, encontra-se no décimo oitavo ciclo anual de seleção. O ensaio foi conduzido, em condições de campo, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, iniciando o alagamento do solo no estágio de seis folhas, recebendo uma lâmina de 20 cm de água (inundação de tabuleiro) três vezes por semana. O material genético utilizado foram os ciclos de seleção intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade, BR 107, como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento. No final do pendoamento, amostras de raízes foram retiradas, fixadas e seccionadas para observação em microscópio de luz. Pelas fotomicrografias de secções transversais foi observada, ao longo dos ciclos de seleção, maior quantidade de aerênquima, diminuição do córtex, diminuição da exoderme, aumento na proporção do cilindro vascular, metaxilemas menores e numerosos e aumento na espessura do floema e da epiderme. Estas mudanças anatômicas comprovam a eficiência do melhoramento por meio dos ciclos de seleção.

Palavras-chave: Hipoxia, tolerância ao alagamento, *Zea may* L., aerênquimas.

2 ABSTRACT

Stress imposed by soil flooding is a serious problem for distribution and productivity of crops in general. Approximately 6% of terrestrial surface are subjected to temporary flooding. In Brazil around 33 millions hectares are submitted to this condition, being 12 millions on 'Savana' region. Maize crop can be a valid option for using these flooded areas. The objective of this work was to characterize the root anatomical modifications throughout several selection cycles of maize BRS 4154, known as 'Saracura', a variety with capacity to tolerate and produce in temporary flooded soils. This variety was developed by Embrapa Maize and Sorghum Research Center through mass selection and now present is on the 18⁰ selection cycle. The experiment was carried out at field conditions, at Embrapa Maize and Sorghum Research Center, Sete Lagoas city, MG. The soil flooding was initiated at six leaves completely developed (V6), by receiving 20 cm of water three times a week. The genetic material were the selection cycles alternated: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 and C18, plus a control treatment, the variety BR 107, which is known by its intolerance to soil flooding. At tassel stage (VT), root samples were collected, fixed and sectioned for observation on light microscope. It was observed throughout selection cycles a larger amount of aerenchyma, decrease on cortex and exoderme, increase on stele proportion, shorter and numerous metaxylem, increase on thickness of phloem and epidermis. These anatomical changes proved the breeding efficiency through selection cycles.

Key words: Hypoxia, flooding tolerance, *Zea mays* L., root anatomy, aerenchyma.

3 INTRODUÇÃO

O estresse imposto por alagamento do solo constitui um dos maiores obstáculos no crescimento, na distribuição e na produtividade em plantas. Aproximadamente 6% da superfície terrestre estão sujeitos ao alagamento temporário. No Brasil, cerca de 33 milhões de hectares estão nas várzeas (solos aluviais e hidromórficos) e 12 milhões estão localizados na região dos Cerrados (Santos, 1999). Nessas regiões, grande limitação agrícola é encontrada, pois se cultiva apenas o arroz, cultura mais adaptada a essas condições, mas que também resulta em um custo elevado de implantação, além dos problemas gerados com a monocultura (Silva et al., 2007).

O alagamento é caracterizado pela baixa (hipoxia) ou nenhuma (anoxia) disponibilidade de oxigênio (Bailey-Serres & Voeselek, 2008), pois leva a um preenchimento dos poros do solo pela água, acarretando em uma diminuição na concentração de gases que possuem baixa difusão em água: cerca de 10.000 vezes menor do que no ar (Ram et al., 2002).

Com a falta de oxigênio a fosforilação oxidativa é bloqueada e o metabolismo aeróbico é trocado pelo anaeróbico, tendo um desvio para a rota glicolítica fermentativa, formando apenas 2 ATPs. Com isso, o crescimento vegetal é severamente afetado (Sairam et al., 2008). O aumento da duração ou da frequência do alagamento pode levar a modificações anatômicas, como formação de aerênquimas, alongação da parte aérea, formação de raízes adventícias e alteração na porosidade de raízes (Fukao & Bailey-Serres, 2004). Além disso, as trocas gasosas são alteradas, ocorrendo diminuição da fotossíntese (Chen et al., 2005), transpiração, assimilação de carbono e condutância estomática (Else et al., 2001; Fernández, 2006).

Para se esquivar da falta de oxigênio em áreas alagadas, o milho desenvolve aerênquimas lisígenos (Gunawardena et al., 2001; Pereira et al.,

2008). Estes são tecidos parenquimáticos com grandes espaços intercelulares preenchidos com gases que permitem o transporte do oxigênio do caule para as raízes que estão em condição de hipoxia (Evans, 2004). O oxigênio se move longitudinalmente (do caule para a raiz) e radialmente (do córtex para rizosfera) por difusão (Shiono, 2008).

O milho é uma cultura sensível ao alagamento. Somente no sul da Ásia, 15% das plantações de milho são afetadas por encharcamento e, na Índia, 8,5 mil hectares são afetados (Zaidi et al., 2004). Nesta espécie, entretanto, considerável variabilidade genética para tolerância ao alagamento tem sido encontrada. Alguns autores buscaram, em seus trabalhos, genótipos de milho tolerantes ao encharcamento em várzeas indianas. Estudando comparativamente o milho mexicano e o indiano, esses pesquisadores constataram genótipos indianos bastante eficientes quanto à tolerância (CM-118 e CM-501) (Zaidi et al., 2003). Estudos também mostraram o desempenho de duas variedades venezuelanas frente ao excesso de água. Essas, comparadas às testemunhas, apresentaram melhor desempenho na área foliar, peso seco, crescimento radicular, presença de aerênquimas e raízes adventícias (Lizaso et al., 2001).

Tentativas positivas na busca de genótipos tolerantes por meio de seleção genética têm sido realizadas. Zaidi et al. (2007), utilizando a seleção de linhagens elites de milho com favoráveis alelos para a tolerância ao encharcamento, conseguiram desenvolver híbridos com rendimentos altos e estáveis sob o excesso de água. Silva et al. (2007), por meio do cruzamento de linhagens em milho, observaram nas gerações a presença de heterose.

Preocupados com os danos que o alagamento causa à cultura do milho e procurando inseri-la em áreas ociosas logo após o plantio do arroz nas várzeas, a Embrapa Milho Sorgo desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho chamada ‘Saracura-BRS-4154’, com capacidade de sobreviver, produzir e suportar períodos temporários de

encharcamento do solo (Parentoni et al., 1997). O nome ‘Saracura’ é uma referência à ave comumente encontrada em terrenos alagadiços. Atualmente, esta variedade se encontra no 18º ciclo anual de seleção. Sua capacidade em tolerar períodos intermitentes de alagamento deve-se à presença de diferentes mecanismos bioquímicos e fisiológicos, e também a alterações morfoanatômicas radiculares, como a formação de raízes adventícias e aerênquima aumento da porosidade das raízes, diminuição no diâmetro do xilema e aumento do floema e diminuição da endoderme e da epiderme (Dantas et al., 2001; Vitorino et al., 2001; Pereira et al., 2008).

Apesar de vários estudos básicos com o ‘Saracura’ terem sido realizados, objetivando entender melhor o mecanismo de tolerância das plantas (Vitorino et al., 2001; Ferrer et al., 2004; Pereira et al., 2008), não existe ainda um trabalho de comparação anatômica de todos ciclos de seleção no campo, condição em que todos os fatores bióticos e abióticos limitantes estão presentes. Além disso, é a condição que mais se aproxima da realidade do agricultor.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar as modificações nas estruturas anatômicas radiculares nos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ que contribuíram para uma maior tolerância ao alagamento em condições de campo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008, em condições de campo na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG (clima AW de savana com inverno seco, altitude de 732 m, latitude Sul 19°28’, longitude oeste 44°15’). As temperaturas, máxima e mínima, registradas durante o período de avaliação foram de 30°C e 18°C, respectivamente. A umidade relativa média foi de 64,3% e a precipitação acumulada de 852 mm.

Com a finalidade de facilitar o alagamento, a área foi nivelada e dividida em talhões. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições. As parcelas foram constituídas de quatro fileiras de 5 m de comprimento e espaçadas em 0,9 m. A distância entre as plantas na linha da parcela foi de 0,2 m e a área útil correspondeu a duas fileiras centrais. Para o alagamento foi utilizada a água de um reservatório próximo, que foi conduzida por bombas até o local do experimento. Áreas de bordadura foram colocadas em torno das parcelas (Figura 1).

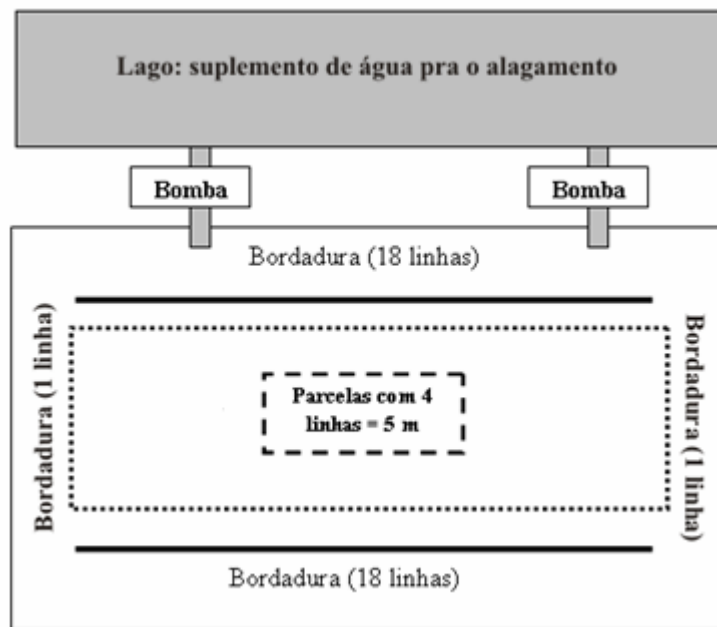


FIGURA 1 Ilustração da área de campo experimental na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, no período de outubro/2007 a janeiro/2008.

A adubação do solo, classificado como Neossolo Flúvico Tb, Eutrófico Típico, textura argilosa, fase relevo plano campos de várzeas (Embrapa, 1999), foi realizada de acordo com a análise química. Aplicou-se adubação básica com

5-20-20 + Zn em doses de 400 kg ha⁻¹, no momento do plantio e, após a germinação das cariopses, realizaram-se duas coberturas com sulfato de amônio, em doses de 20 g m⁻¹ linear, no estágio de seis folhas e a segunda no estágio de oito folhas. Todos os tratamentos fitossanitários necessários à cultura foram aplicados.

O alagamento foi iniciado no estágio de seis folhas (quando o meristema de crescimento das plantas já se encontra acima da superfície do solo) (Magalhães et al., 2007), até a maturidade fisiológica, recebendo uma lâmina de 20 cm de água (inundação de tabuleiro), três vezes por semana. O material genético utilizado constituiu-se dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura - BRS 4154’ intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade BR 107 como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento (Magalhães et al., 2007).

No final do pendoamento, fase de maior susceptibilidade ao estresse por excesso de água (Zaidi et al., 2004), as raízes foram retiradas por meio de escavamento, lavadas com água corrente e cortadas na região do colo. Raízes completas (região apical, de alongamento, pelífera e basal) de duas plantas em cada repetição foram coletadas aleatoriamente e fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (FAA 70) (Johansen, 1940), por 48 horas e, em seguida, preservadas em etanol 70%. Os cortes transversais foram feitos a 4 cm a partir do ápice radicular com micrótomo de mesa (Melo et al., 2007), no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Esses foram clarificados com hipoclorito de sódio 5%, por 10 minutos, reidratados por 10 minutos, corados com astrablau (solução de safranina e azul de astra 7,5:2,5) e montados em lâminas com glicerina 50% (Kraus & Arduim, 1997).

Os cortes foram fotografados em microscópio óptico de luz Olympus BX-60 acoplado a uma câmara digital. As fotomicrografias foram utilizadas para

as medições dos seguintes parâmetros: área total de aerênquima (AAE), proporção ocupada pelo aerênquima no córtex (PA), proporção da área do cilindro vascular em relação à área total da raiz (PCV), proporção da área do córtex em relação à área total da raiz (PC), espessura do córtex (EC), espessura da camada de células suberizadas, presentes na região da hipoderme (exoderme) (CS), diâmetro das células corticais (DCO), espessura da epiderme (EEP), espessura da endoderme (ED), diâmetro das células do metaxilema (DX), número de metaxilema (NX) e espessura do floema no cilindro vascular (FL). A proporção da área ocupada pelo aerênquima no córtex foi calculada pela divisão da área total de aerênquima formado pela área total do córtex.

As medições foram feitas pelo programa de análise de imagens UTHSCSA ImageTool, utilizando-se calibrações feitas com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotomicrografias (Pereira et al., 2008). Para a determinação do dado final, realizou-se uma média das raízes de duas plantas de cada repetição, tendo, em cada raiz, sido feitas cinco medições de cada característica anatômica. Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedacidade, pelo teste de Lavene, apresentando distribuição normal e variâncias homogêneas. Para análise estatística dos resultados, utilizaram-se a análise de variância e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 5% de probabilidade, no programa Sisvar versão 4.3 (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram diferenças anatômicas no córtex ao longo dos ciclos de seleção. Quanto à presença de aerênquimas (AAE), ficou distinguível a superioridade dos últimos ciclos em relação aos iniciais e à testemunha (Tabela 1). O ciclo 18, seguido do ciclo 17, apresentou maior AAE do que os demais

tratamentos e ambos foram estatisticamente semelhantes entre si. Esses ciclos tiveram 98,3% e 98,1%, respectivamente, mais aerênquima do que a testemunha. Com isso, nota-se a pequena adaptabilidade da variedade BR 107 frente ao alagamento. O C3, seguido do C1, apresentou a menor AAE entre os ciclos, cerca de 19% e 21,8%, respectivamente, da área do C18 e foram, juntamente com C5, C7 e C9, estatisticamente iguais. Os ciclos 11, 13 e 15 apresentaram um aumento de AAE e foram estatisticamente semelhantes entre si. Ao longo dos ciclos, pode-se observar um aumento da área do tecido aerênquimático e, conseqüentemente, da proporção de aerênquima no córtex (PA) (Figura 1). Por sinal, a testemunha resultou em apenas 1,6% de proporção de aerênquima no córtex, tendo o C18 correspondido a 42,4%.

TABELA 1 Valores das características relacionadas ao córtex e ao cilindro vascular, no sistema radicular do milho ‘Saracura’, ao longo dos sucessivos ciclos de seleção (alternados) e da variedade BR107, em condições de alagamento intermitente *.

Tratamentos	AAE mm ²	PA (%)	PCV (%)	PC (%)	EC µm	CS µm
BR107	0,03d*	1,63f	0,20b	0,80a	647,39a	116,04a
C1	0,38c	11,74e	0,21b	0,77b	604,48a	94,89b
C3	0,33c	19,28d	0,20b	0,80a	565,29a	90,36b
C5	0,43c	13,53e	0,15b	0,85a	617,20a	84,70b
C7	0,51c	25,16c	0,19b	0,81a	499,93b	87,45b
C9	0,53c	20,12d	0,25a	0,75b	514,44b	85,96b
C11	0,81b	30,40c	0,27a	0,73b	469,10b	77,94b
C13	0,95b	35,09b	0,25a	0,75b	438,04b	60,99c
C15	0,99b	29,34c	0,23a	0,77b	457,87b	55,34c
C17	1,58a	42,17a	0,26a	0,74b	482,89b	68,21c
C18	1,74a	42,41a	0,25a	0,75b	422,51b	54,94c
CV(%)	15,98	15,95	13,42	4,01	9,81	16,55

* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; AAE: área de aerênquima encontrada no córtex; PA: proporção de aerênquima encontrado no córtex; PCV: proporção do cilindro vascular, em relação à área total da raiz; PC: proporção do córtex em relação à área total da raiz; EC: espessura do córtex e CS: espessura da camada de células suberizadas, presentes na região da hipoderme.

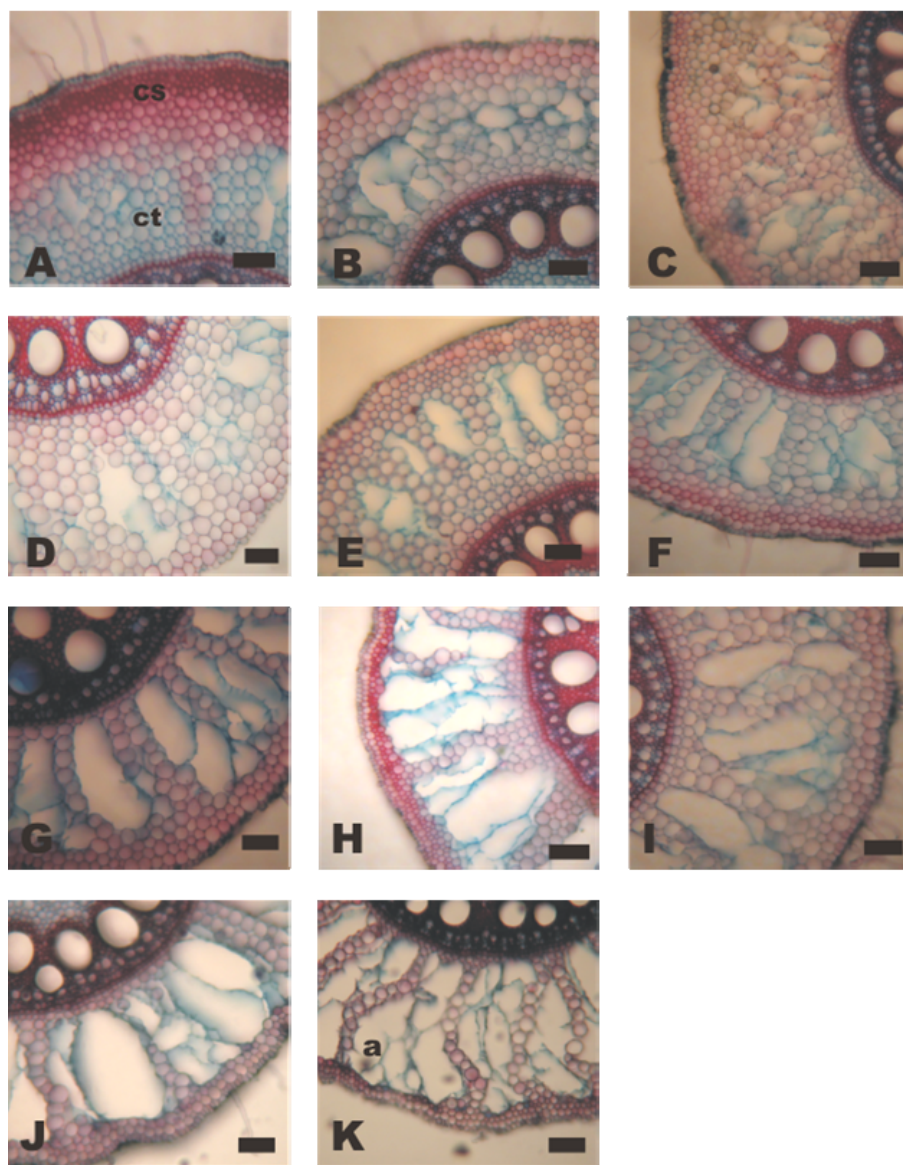


FIGURA 1 Fotomicrografias de secções transversais radiculares do milho 'Saracura' ao longo dos sucessivos ciclos de seleção (alternados) e da testemunha sob alagamento intermitente. Ct = cótex; a = aerênquimas; CS = camada de células suberizadas (Exoderme). A = BR 107; B = C1; C = C3; D = C5; E = C7, F = C9; G = C11; H = C13; I= C15; J = C17; K = C18. A barra corresponde a 100 μ m.

Observa-se, no entanto, que alguns ciclos tiveram maiores médias do que em outros ciclos mais avançados. Isso pode ter ocorrido devido à natureza do procedimento de seleção, pois o método de seleção utilizado no milho ‘Saracura’ foi o recorrente: uma mistura balanceada de sementes do ciclo atual com o ciclo anterior é plantada em uma área de tabuleiro e submetida a encharcamento para a obtenção do novo ciclo. Portanto, nem sempre ocorrem ganhos lineares nas características.

O alagamento também causa a formação de aerênquimas em outras espécies, como *Paspalum dilatatum* (gramínea), em que a proporção de aerênquima aumentou significativamente em 40% (Grimoldi et al., 2005). Em espécies de mangue (*Acanthus ilicifolius*), observou-se uma proporção no córtex de 57,5% de aerênquima (Pi et al., 2008). Em outras plantas cultivadas, como soja (Thomas et al., 2005), trigo, cevada e aveia (Setter & Waters, 2003), também foi relatada a presença de aerênquimas nessas condições. Uma intensa produção de aerênquima foi observada em outras cultivares de milho, como cv. Seneca Horizon (Enstone & Peterson, 2005) e cv. Single Cross 704 (Pourabdall et al., 2008).

Lizaso et al. (2001) constataram uma produção de aerênquima de 30% a mais em uma variedade de milho venezuelana tolerante ao alagamento do solo em comparação a uma variedade sensível. Esta estrutura, portanto, é uma resposta adaptativa comum de plantas em ambientes alagados. Outros trabalhos também relatam a superioridade de plantas frente ao alagamento (Zaidi et al., 2007; Silva et al., 2007; Benz et al., 2007; Johnston et al., 2004), porém, há raros trabalhos sobre a seleção clássica por recombinação de genótipos e o aumento quantitativo de aerênquimas. No presente trabalho a alta capacidade de formação

de aerênquima ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ em condições de campo foi comparável à encontrado por Pereira et al. (2008), em casa de vegetação (Tabela 1).

O aumento da porosidade das raízes pela formação de grandes quantidades de aerênquima no córtex do ciclo 18 sob hipoxia ajuda a manter a respiração aeróbica, pois estas estruturas aumentam o fluxo longitudinal de oxigênio da parte aérea a radicular (Colmer, 2003b). Além disso, elas são responsáveis pela ventilação (raiz-atmosfera) de gases em excesso que podem trazer prejuízos, como etileno, metano e gás carbônico. Com a presença de aerênquimas também decresce o custo metabólico, devido à diminuição da presença de células em respiração (Lynch & Ho, 2005). Toda essa característica atribuída à presença de aerênquima faz com que o milho ‘Saracura’ representado pelo ciclo 18 tenha um maior sucesso em solos encharcados.

Percebe-se que os valores de PCV aumentaram a partir do nono ciclo de seleção (Tabela 1). A variedade BR 107 apresentou valores estatisticamente semelhantes aos ciclos 1, 3, 5 e 7. O C11 apresentou maior média (0,27%), mas foi estatisticamente semelhante aos ciclos 9, 13, 15, 17 e 18.

Os mesmos perfis estatísticos foram observados na PC, porém, os últimos ciclos resultaram em menores valores do que os primeiros, juntamente com a testemunha. Já a EC também diminuiu ao longo dos ciclos. O ciclo 18 apresentou redução de 35% da EC em relação à testemunha, 31,5% e 30,1% em relação aos dois ciclos iniciais (C5 e C1, respectivamente, Tabela 1).

Os resultados obtidos neste trabalho foram diferentes daqueles encontrados por Pereira et al. (2008), que não relataram aumento da PCV e nem tampouco diminuição da PC. Em condições de casa de vegetação, estes autores observaram um menor córtex, aproximadamente 7% a menos, em relação à testemunha e ao C1. Em condições de campo, no presente trabalho mostrou-se a

diminuição da proporção do córtex dos últimos que, possivelmente, ocorreu devido à diminuição da EC.

Com a presença de aerênquima ocorre diminuição da condutividade hidráulica e uma menor EC ocorrida nos últimos ciclos de seleção (Tabela 1) pode resultar em uma maior condutividade, pois menor será a distância necessária para a água chegar ao cilindro vascular (Pereira et al., 2008), aumentando assim a capacidade da planta suportar o estresse. Uma diminuição na espessura do córtex de *Chorisia speciosa* A. St sob alagamento também foi observada por Bianchini et al. (2000).

Muitos trabalhos têm focado mudanças no cilindro vascular frente a estresses ambientais. Modelos têm relatado a importância de se ter cilindros menores para evitar danos em raízes com baixa porosidade e difusão de oxigênio (Colmer, 2003b). Um menor cilindro vascular levaria maiores chances de transporte de oxigênio, água e fotoassimilados, em plantas com raiz em condições de hipóxia. Isso foi observado no presente trabalho, no qual os primeiros ciclos e a testemunha resultaram em cilindros menores, porém, nos ciclos 9, 11, 13, 15, 17 e 18 houve aumento significativo do cilindro e, provavelmente, maior condução sob alagamento (Tabela 1). Um maior investimento em cilindro vascular é possível nestes ciclos, pois alta porosidade e alta difusão de oxigênio são encontradas nos respectivos córtex.

A camada de células suberizadas (CS) presentes na região da hipoderme (exoderme) diminuiu ao longo dos ciclos (Tabela 1). O ciclo 18 correspondeu à menor espessura e a testemunha, seguida dos ciclos iniciais, foi a maior (Tabela 1 e Figura 1). O C18 apresentou redução de 53,2% em relação à variedade BR 107 e 42,1% em relação ao C1. Semelhantes barreiras também foram encontradas em arroz (Colmer, 2003a), gramíneas (*Glyceria maxima* e *Phragmites australis*) (Soukup et al., 2007) e outras espécies de ambientes encharcados, como *Rumex palustris* e *Corex acuta* (Visser et al., 2000).

A presença de uma barreira espessa nas células da hipoderme da variedade BR 107 e dos primeiros ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ evita a perda radial de oxigênio para a rizosfera e aumenta a difusão longitudinal no aerênquima (Colmer, 2003b), já que essa especialização é escassa nesses genótipos. Além disso, estas camadas suberizadas evitam a absorção parcial de fitotoxinas (Soukup et al., 2002). Entretanto, há consequências negativas com relação à presença desta barreira, pois ela pode diminuir a saída de etileno e metano presentes em excesso e diminuir a entrada de água e nutrientes.

Uma exoderme fina permite um livre movimento radial de oxigênio e cria condições aeradas na rizosfera, protegendo as raízes da presença de fitotoxinas e permitindo maior área superficial (Armstrong, 1979; Armstrong et al., 2000). O ciclo 18 do milho ‘Saracura’ mostrou-se mais adaptado ao alagamento, pois possui uma fina camada suberizada na hipoderme (CS), fornecendo alta difusão radial de oxigênio que cria uma rizosfera aeróbica sem perdas prejudiciais ao córtex devido a elevadas proporções de aerênquima que dão uma maior capacidade de suprimento de oxigênio. Pi et al. (2008), estudando oito espécies de locais encharcados, também observaram maior adaptação da *A. Ilcifolius* e *A. marina* devido à presença de altas proporções de aerênquimas e uma fina exoderme.

Com relação ao diâmetro das células corticais (DCO), houve aumento ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 2 e Figura 1). As células corticais do C18 tiveram um aumento de 40,9% em relação à testemunha e de 38,6% em relação ao C1. O aumento do diâmetro das células corticais está relacionado com a diminuição do número de camadas celulares do córtex e ao aumento de espaços intercelulares (Pereira et al., 2008). Da mesma forma que o aerênquima, células corticais maiores podem diminuir o gasto energético pela diminuição do *pool* de células em respiração no córtex. Batista et al. (2008) relataram um aumento nas células corticais em *Cecropia pachystachya* sob alagamento.

TABELA 2 Dimensões de células e tecidos no sistema radicular do milho ‘Saracura’, ao longo dos sucessivos ciclos de seleção(alternados) e da variedade BR107, em condições de alagamento intermitente*.

Tratamentos	DCO µm	EEP µm	EN µm	DX µm	NX	FL µm
BR107	33,88e*	21,95c	7,98a	131,45a	09,00b	63,01f
C1	35,21e	23,87c	6,80a	119,40b	12,00b	65,44f
C3	37,67d	24,45c	7,78a	108,55c	12,83b	83,14e
C5	35,08e	23,02c	8,24a	098,62d	13,83b	82,45e
C7	39,27d	27,86c	8,10a	099,49d	12,33b	86,77d
C9	40,84d	28,84b	7,88a	101,34d	16,33b	96,74c
C11	48,75b	28,26b	8,22a	100,97d	14,50b	87,35d
C13	45,25c	28,39b	8,65a	96,59d	15,66b	98,77c
C15	49,83b	29,01b	8,66a	96,04d	19,83a	104,52b
C17	50,29b	32,19a	8,89a	87,21e	20,00a	119,94a
C18	57,31a	33,75a	9,16a	69,08f	22,33a	121,67a
CV(%)	5,190	7,250	6,750	2,740	15,69	2,850

* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; DCO: diâmetro das células corticais; EEP: espessura da epiderme; EM: espessura da endoderme; DX: diâmetro das células do metaxilema; NX: número de metaxilema e FL: espessura do floema no cilindro vascular.

A EEP foi maior nos ciclos 17 e 18 e menor na testemunha e ciclos iniciais. O aumento da epiderme do C18 foi de, aproximadamente, 35% em relação à variedade BR 107 e de 29,2% em relação ao ciclo 1 (Tabela 2). O aumento da epiderme em condições de hipoxia por alagamento foi observado em *Carex acuta* e *Juncus effusus* (Visser et al., 2000) e esta característica na epiderme dos últimos ciclos do milho ‘Saracura’ pode estabelecer uma maior dificuldade na entrada de patógenos e substâncias tóxicas pela raiz (Pereira et al., 2008).

Não houve diferença significativa na EN (Tabela 2). Esse resultado contrasta com o trabalho de Pereira et al. (2008) em casa de vegetação, em que foi observado um aumento significativo da endoderme ao longo dos ciclos de

seleção do milho 'Saracura'. Esta barreira poderia estar protegendo contra a entrada de patógenos e contra o refluxo de água e gases. Porém, Enstone & Peterson (2005) relatam uma diminuição na espessura da endoderme do milho cv. Seneca Horizon que poderia facilitar a difusão de oxigênio no cilindro vascular.

Observaram-se diminuição no diâmetro das células do metaxilema (DX) e aumento no número de vasos (NX) ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 2 e Figura 2). O C18, em relação à testemunha, apresentou redução de 47,4% no diâmetro e aumento de 59,7% no número de vasos de metaxilema (NX). Já com relação ao ciclo 1, o ciclo 18 apresentou redução de 42,1% no diâmetro e aumento de 46,3% no número de vasos. O C1 apresentou o menor valor e significativamente distinto de DX em relação aos ciclos. No NX houve a formação de dois grupos estatisticamente distintos, C1 ao C13 e C15 ao C18.

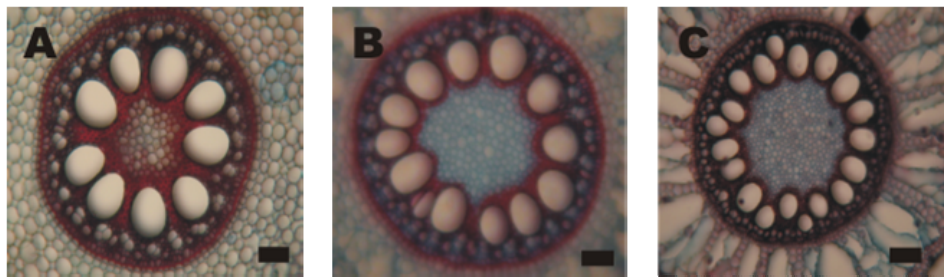


FIGURA 2 Fotomicrografias de seções transversais radiculares da variedade BR 107 e ciclos 1 e 18 do milho 'Saracura' sob alagamento intermitente. A = BR 107; B = C1; C = C18. A barra corresponde a 100 μ m.

Um maior número de vasos de xilema com menor diâmetro encontrado nos últimos ciclos de seleção do milho 'Saracura' pode estar relacionado com a garantia de manutenção do fluxo de água. Todavia, em ambientes alagados, por

causa da falta de oxigênio, a habilidade das raízes em absorver água é afetada (Dell'Amico et al., 2001; Tournaire-Roux et al., 2003).

Wahl et al. (2000), estudando o papel ecológico das características anatômicas em gramíneas, observaram que, em raízes de espécies de crescimento lento, ocorrem menores, porém, em maior número, vasos de xilema, indicando alta resistência à cavitação e proteção contra embolismo. Kolb et al. (1998) e Vasellati et al. (2001) também citaram diminuição do xilema em *Sebastiania commersoniana* e *Paspalum dilatatum*, respectivamente, em condições hipóxicas.

Os maiores valores na FL foram encontrados nos ciclos 17 e 18 e os menores na variedade BR 107 e no C1 (Tabela 2). O C18 apresentou um aumento na espessura do floema de 48,2% em relação à variedade BR 107 e 46,2% em relação ao C1. Em plantas sob alagamento ocorre inibição do transporte de fotossintatos para a raiz (Chen et al., 2005). Um tecido floemático mais espesso na raiz pode estar favorecendo a tolerância dos últimos ciclos de seleção do milho 'Saracura', pois contribui para um aumento do transporte do floema da parte aérea para as raízes, órgão com déficit de energia devido à troca para o metabolismo anaeróbico. O aumento da espessura do floema e do diâmetro do metaxilema foi também observado ao longo dos ciclos de seleção do 'Saracura' em casa de vegetação (Pereira et al., 2008).

6 CONCLUSÕES

Ao longo dos ciclos de seleção do milho 'Saracura' foram detectadas alterações anatômicas nas raízes, as quais confirmam a eficácia na seleção dos ciclos, assim como explicam sua maior tolerância ao alagamento intermitente do solo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMSTRONG W. Aeration in higher plants. **Advances in Botanical Research**, San Diego, v.7, p.225-332, 1979.

ARMSTRONG, W.; COUSINS, D.; ARMSTRONG, J.; TURNER, D. W.; BECKETT, P.M. Oxygen distribution in wetland plant roots and permeability barriers to gas-exchange with the rizosphere: a microelectrode and modeling study with *Phragmites australis*. **Annals of Botany**, London, v.86, p.687-703, 2000.

BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annals of Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.59, p.313-339, 2008.

BATISTA, C.U.N.; MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; MEDRI, C.; PIMENTA, J.A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.1, p.91-98, 2008.

BENZ, B.R.; RHODE, J.M.; CRUZAN, M.B. Aerenchyma development and elevated alcohol dehydrogenase activity as alternative responses to hypoxic soils in the *Piriqueta caroliniana* complex. **American Journal of Botany**, St. Louis, v.94, n.4, p.542-550, 2007.

BIANCHINI, E.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A.; GILONI, P.C.; KOLB, R.M.; CORREA, G.T. Anatomical alterations in plants of *Chorisia speciosa* A. St. – Hill. submitted to flooding. **Interciência**, Caracas, v.25, n.9, p.436-441, 2000.

CHEN, H.; QUALLS, R.G.; BALK, R.R. Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.82, p.250-268, June 2005.

COLMER, T.D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, London, v.91, p.301-309, 2003a.

COLMER, T.D. Long-distance transport of gases in plants a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.26, n.1, p.17-36, Jan. 2003b.

DANTAS, B.F.; ARAGÃO, C.A.; ALVES, J.D. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividade de celulase em plântulas de milho submetidas a hipoxia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.2, p. 251-257, abr./jun. 2001.

DELL'AMICO, J.; TORRECILLAS, A.; RODRIGUES, P.; MORALES, D.; SANCHE-BLANCO, M.J. Differences in the effects of flooding the soil early and late in the photoperiod on the water relations of grown tomato plants. **Plant Science**, London, v.160, n.3, p.481-487, Feb. 2001.

ELSE, M.A.; COUPLAND, D.; DUTTON, L.; JACKSON, M.B. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis*) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. **Physiology Plant**, Copenhagen, v.111, n.1, p.46-54, Jan. 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Solos, 1999. 412p.

ENSTONE, D.E.; PETERSON, C.A. Suberin lamella development in maize seedling roots grown in aerated and stagnant conditions. **Plant, Cell and Environmental**, Oxford, v.28, n.4, p.444-455, 2005.

EVANS, D.E. Aerenchyma formation. **New Physiologist**, Cambridge, v.161, n.1, p.35-39, Jan. 2004.

FERNÁNDES, M.D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica**, Prague, v.44, n.1, p.32-38, Mar. 2006.

FERRER, J.L.R.; CASTRO, E.M.; ALVES, J.D.; ALENCAR, M.A.; SILVA, S.; VIEIRA, C.V.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do cálcio sobre as características anatômicas de raízes de milho (*Zea mays* L.) "Saracura" BRS-4154 submetido ao alagamento em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.172-181, 2004.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Plant responses to hypoxia- is survival a balancing act? **Trends in Plant Science**, London, v.9, n.9, p.439-456, Sept. 2004.

GRIMOLDI, A.A.; INSAUSTI, P.; VASELLATI, V.; STRIKER, G.G. Constitutive and plastic root traits and their role in differential tolerance to soil flooding among coexisting species of a lowland grassland. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.166, n.5, p.805-813, 2005.

GUNAWARDENA, A.; PERCE, D.M.; JACKSON, M.B.; HAWES, C.R.; EVANS, D.E. Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.). **Planta**, v.212, n.2, p.205-214, 2001.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 2.ed. New York: Mc Graw-Hill, 1940. 300 p.

JOHNSTON, J.A.; DONOVAN, L.A.; ARNOLD, M.L. Novel phenotypes among early generation hybrids of two Louisiana iris species: flooding experiments. **Journal of Ecology**, Oxford, v.92, n.6, p.967-976, 2004.

KOLB, R.M.; MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; GILONI, P.C.; CORREA, G.T. Anatomia ecológica de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae) submetida ao alagamento. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.21, n.3, p.1-15, Dec. 1998.

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

LIZASO, J.L.; MELENDEZ, L.M.; RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I Shoot and root growth. **Journal of Plant Nutrients**, New York, v.24, n.7, p.979-995, June 2001.

LYNCH, J.P.; HO, M.D. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.269, n.1-2, p.45-56, Feb. 2005.

MAGALHÃES, P.C.; FERRER, J.L.R.; ALVES, J.D.; VASCONSELLOS, C.A.; CANTÃO, F.R.O. Influência do cálcio na tolerância do milho 'saracura' BRS- 4154 ao encharcamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.1, p.40-49, 2007.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; MELO, L.A.; ALVES, J.D. 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, June 2007.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.; LOPES, M.A.; SANTOS, M.X.; GUIMARÃES P.E.O.; PACHECO, C.A.; SOUZA, I.R.O; MEIRELES, W.; CORREA, L.A. Seleção pata tolerância ao encharcamento na variedade de milho CMS54-Saracura. In: REUNION LATINOAMERICANA, 4.; REUNION DELA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EM MAIZE, 17.,1997, Cerete Y Cartagena de Ludias. **Memória...** Cerete Y Cartagena de Ludias, Colômbia: CORPOICA/CIMMYT, 1997. p.368-373.

PI, N.; TAM, N.F.Y.; WU, Y.; WONG, M.H. Root anatomy and spatial pattern of radial oxygen loss of eight true mangrove species. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.25,p.222-230, 2008.

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho ‘Saracura’ em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1649-1656, Dez. 2008.

POURABDAL, I.; HEIDARY, R.; FARBOODNIA, T. Effects of three different flooding periods on some anatomical, morphological and biochemical changings in maize (*Zea mays* L.) seedlings. **Asian Journal of Plant Sciences**, Islamabad, v.7, n.1, p.90-94, 2008.

RAM, P.C.; SINGH, B.B.; SINGH, A.K.; RAM, P.; SING, P.N.; SINGH, H.P.; BOAMFA, J.; HARREN, F.; SANTOSA, E.; JACKSON, M.B.; SETTER, T.I.; REUSS, J.; WADE, I.J.; SINGH, V.P.; SINGH R.K. Submergence tolerance in rainfed lowland rice: physiological basis and prospects for cultivar improvement through marker aided breeding: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.76, n.2-3, p.131-152, 2002.

SANTOS, A.B. dos. Aproveitamento da soca. In: VIEIRA, N.R. de A.; SANTOS, A.B. dos; SANT’ANA, E.P. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p.463-492.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P.S.; SRIVASTAVA, G.C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.52, n.3, p.401-412, 2008.

SETTER, T.L.; WATERS, I. Review of prospects for germplasm for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.253, n.1, p.1-34, June 2003.

SHIONO, K.I.I.; COLMER, T.D.; NAKAZONO, M. Role of ethylene in acclimations to promote oxygen transport in roots of plants in waterlogged soils. **Plant Science**, Ottawa, v.175, n.1-2, p.52-58, 2008.

SILVA, S.D.A.; SERENO, M.J.C.C.M.; SILVA, C.F.L.; OLIVEIRA, A.C.; BARBOSA, NETO, J. Inheritance of tolerance to flooded soils in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.7, n.2, p.165-172, 2007.

SOUKUP, A.; ARMSTRONG, W.; SCHREIBER, L.; FRANKE, R.; VOTRUBOVÁ, O. Apoplastic barriers to radial oxygens loss and solute penetration: a chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. **New Phytologist**, Cambridge, v.173, n.2, p.264-278, Jan. 2007.

SOUKUP, A.; VOTRUBOVA, O.; CISKOVA, I.I. Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. **New Phytologist**, Cambridge, v.153, n.2, p.277-287, 2002.

THOMAS, A.L.; GUERREIRO, S.M.C.; SODEK, L. Aerenchyma formation and recovery from hypoxia of the flooded root system of nodulated soybean. **Annals of Botany**, London, v.96, n.7, p.1191-1198, 2005.

TOURNAIRE-ROUX, C.; SUFKA, M.; JAVOT, H.; GOUT, E.; GERBEAU, P.; LUU, D.T.; BLIGNY, R.; MAUREL, C. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. **Nature**, v.425, p.393-397, 2003.

VASELLATI, V.; OESTERHELDS, M.; MEDAN, D.; LORETI, J. Effects of flooding and drought on the Anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, London, v.88, n.3, p.355-360, Apr. 2001.

VISSER, E.J.W.; COLMER, T.D.; BLOM, C.W.P.M.; VOESENEK, L.A.C.J. Changes in growth, porosity, and radial oxygen loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. **Plant, Cell and Environmental**, Oxford, v.23, n.11, p.1237-1245, 2000.

VITORINO, P.G.; ALVES, J.D.; MAGALHÃES, P.C.; MAGALHÃES, M.M.; LIMA, L.C.O.; OLIVEIRA, L.E.M. Flooding tolerance and cell wall alterations in maize mesocotyl during hypoxia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.8, p.1027-1035, ago. 2001.

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

ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop stages and identification of tolerant genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.90, n.2-3, p.189-202, Dec. 2004.

ZAIDI, P.H.; SELVAN, P.M.; SULTANA, R.; SRIVASTAVA, A.; SINGH, A.K.; SRINIVASAN, G.; SINGH, R.P.; SINGH, P.P. Association between line *per se* and hybrid performance under excessive soil moisture stress in tropical maize (*Zea mays* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v.101, n.1, p.117-126, Feb. 2007.

WAHL, S.; RYSER, P.; EDWARDS, P. JR. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. **New Phytologist**, Cambridge, v.148, n.3, p.459-471, 2000.

CAPÍTULO 4

PLASTICIDADE FOLIAR NOS SUCESSIVOS CICLOS DE SELEÇÃO DO MILHO ‘SARACURA’ EM RESPOSTA AO ALAGAMENTO INTERMITENTE DO SOLO

O capítulo 4 será transcrito em formato de artigo e encaminhado para submissão ao Periódico Científico **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**

Thiago Corrêa de Souza^{I*}, Paulo César Magalhães^{II}, Fabrício José Pereira^I,
Evaristo Mauro de Castro^I, Jessé Marques da Silva Junior^I, Sidney Netto
Parentoni^{II}

^I Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Lavras, MG, Brasil, caixa postal 37, CEP 37200-000.

^{II} Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil, caixa postal 151, CEP 35701-970

* Autor para correspondência. Email: thiagonepre@hotmail.com

1 RESUMO

O alagamento do solo é uma condição ambiental estressante ao desenvolvimento do milho e de outras culturas. No Brasil, grandes limitações agrícolas pelo alagamento são encontradas nas planícies de inundação ou áreas de várzeas. Por esse motivo, a Embrapa Milho e Sorgo desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho conhecida como ‘Saracura-BRS 4154’, com capacidade de sobreviver, produzir e suportar períodos temporários de encharcamento do solo. Este milho continua sendo selecionado e, atualmente, se encontra no 18^o ciclo de seleção. Este trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer a plasticidade foliar adquirida pelo efeito dos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ em condições de campo, por meio da caracterização anatômica foliar. O ensaio foi conduzido na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, iniciando o alagamento do solo no estádio de seis folhas recebendo uma lâmina de 20 cm de água (inundação de tabuleiro) três vezes por semana. O material genético utilizado foram os ciclos de seleção intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade BR 107 como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento. No final do florescimento, foi coletada uma amostra na região do terço médio de uma folha totalmente expandida abaixo da folha bandeira de duas plantas em cada repetição. As amostras foram fixadas e foram realizados cortes paradermicos e transversais (nervura central e mesofilo). Foram observados, ao longo dos ciclos de seleção, modificações no número e tamanho dos estômatos, maior quantidade de feixes vasculares, metaxilema menores, diminuição da cutícula e da epiderme, diminuição no número e tamanho das células buliformes, aumento da espessura do floema e menor área de esclerênquima. Os sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, portanto, levaram a mudanças na plasticidade foliar que favorecem sua tolerância ao alagamento intermitente do solo.

Palavras-chave: Hipoxia, plasticidade foliar, tolerância ao alagamento, *Zea may* L., anatomia foliar, milho saracura.

2 ABSTRACT

Soil flooding is a stressing condition to maize growth and development and others crops as well. In Brazil this limitation is found in plan areas or in low land areas, where usually farmers grow only rice, which limits the agronomic use of these areas. Embrapa Maize and Sorghum Research Center developed a variety, through phenotypic mass selection, called “Saracura” BRS-4154, with capacity to tolerate, survive and produce in intermittent periods of soil flooding. This variety still being selected and nowadays is on 18^o selection cycle. The objective of this work was to know the leaf plasticity acquired by the effect of each selection cycle, at the field under flooding. The experiment was carried out at Embrapa Maize and Sorghum Research Center, Sete Lagoas city, MG, by initiating soil flooding at V6 growth stage applying 20 cm of water three times a week. The genetic material used were the alternated selection cycles (C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 and C18), besides a check variety, the BR 107 known by the susceptibility to flooding. At the end of flowering stage, a sample was collected at the leaf right below flag leaf. Two samples were collected in each replication, they were fixed and paradermal and transversal cuts were accomplished. It was observed modifications throughout selection cycles, on the stomatal number and size, greater amount of vascular bundles, shorter metaxylem, decrease on cuticle and epidermis, decrease on number and size of bulliform cells, increase of phloem thickness and shorter sclerenchyma area. Therefore, maize “Saracura” selection cycles resulted in changes on leaf plasticity which probably favors the tolerance to soil flooding.

Key words: Hypoxia, leaf plasticity, flooding tolerance, *Zea mays* L., leaf anatomy, Saracura maize.

3 INTRODUÇÃO

O alagamento é um dos estresses abióticos de maior impacto na sobrevivência de plantas em muitas regiões do mundo e, com as previsões do efeito estufa (que resultará em tempos mais irregulares mais adiante), o problema se agrava ainda mais (Qiu et al., 2007). Além de fatores naturais, como excesso de precipitação, águas marginais de cursos de rios e má drenagem, existem fatores antrópicos que influenciam o aumento de áreas alagadas, como urbanização excessiva, criação de hidrelétricas, remoção de vegetação, construção de canais, rodovias e irrigação inadequada (Dat et al., 2004).

O alagamento leva a uma diminuição do oxigênio do solo (hipoxia) que, dependendo da duração, pode chegar a nulas concentrações deste gás (anoxia) (Date et al., 2004). Com isso, o ciclo dos ácidos tricarbóxicos é interrompido pela falta de poder redutor e o metabolismo anaeróbico é ativado (Sairam et al., 2008).

Com relação ao alagamento do solo, estudam-se mais os mecanismos adaptativos das raízes do que das folhas (Bragina et al., 2004). Poucos estudos até agora mostram alterações anatômicas na folha devido a solos alagados, porém, alterações morfológicas, como variações no mesófilo, área foliar total, área foliar específica e comprimento do pecíolo são bem relatados (Huber et al., 2009). Alguns autores ainda observaram, sob alagamento, presença de aerênquima na bainha de *Paspalum dilatatum* (Vasellati et al., 2001), alterações no tamanho dos estômatos de cevada (Yordanova et al., 2005) e alterações na epiderme do milho Knezha 611 (Stoyanova et al., 2002). No milho 'Saracura', sob alagamento em casa de vegetação, também foram observadas variações na espessura do mesófilo, no diâmetro dos vasos condutores, no tamanho e na quantidade de estômatos e na espessura da cutícula (Melo et al., 2004; Pereira, 2008).

Folhas de plantas com estresse anaeróbico radicular possuem limitação nas trocas gasosas pelo fechamento estomático. A baixa disponibilidade de oxigênio pode afetar a condutância estomática, diminuindo a perda de água pela transpiração, a assimilação de carbono, além da eficiência do fotossistema II (Else et al., 2001; Fernández, 2006). As plantas sensíveis ao alagamento apresentam diminuição na fotossíntese (Chen et al., 2005) devido a fatores não-estomáticos (bioquímicos) (Yordanova et al., 2005) e estomáticos (Liao & Lin, 2001). Já as plantas tolerantes conseguem manter sua atividade fotossintética constante maior, mesmo em ambientes hipóxicos (Li et al., 2004). Comparativamente, evidências de plasticidade foliar estão sendo mais conhecidas em plantas completamente alagadas. Tanto alterações fisiológicas quanto anatômicas têm sido observadas nessas plantas, também chamadas de anfíbias (Mommer et al., 2005; Voesenek et al., 2006; Mommer et al., 2007).

Plasticidade pode ser definida como a habilidade de uma planta ajustar seu desempenho pela modificação morfológica ou fisiológica, em resposta à variação ambiental (Navas & Garnier, 2002). O milho (*Zea mays* L.), apesar de ser sensível ao alagamento, possui considerável variabilidade genética para a tolerância (Zaidi et al., 2004), podendo responder expressivamente com a plasticidade de seus órgãos nessas condições.

A inabilidade da cultura do milho para baixa disponibilidade de oxigênio na rizosfera, causada pelo alagamento radicular, resulta em substanciais perdas na produtividade (Zaidi et al., 2007a). Na Ásia, por exemplo, cerca de 15% das plantações de milho são afetadas pelo alagamento (Zaidi et al., 2004) e, na China, as perdas chegam a, aproximadamente, 30% (Qiu et al., 2007). No Brasil, grandes limitações agrícolas pelo alagamento são encontradas nas planícies de inundação ou áreas de várzeas (solos aluviais e hidromórficos), em que inundações temporárias restringem a agricultura somente para o arroz (cultura

mais adaptada) em mais de 33 milhões de hectares (Santos, 1999; Silva et al., 2007).

Tentativas positivas na busca de genótipos tolerantes por meio de seleção genética têm sido encontradas (Lizaso et al., 2001; Zaidi et al., 2007b, Silva et al., 2007). Milho tolerante ao alagamento pode ser uma boa opção para a cultura em várzeas brasileiras. A Embrapa Milho e Sorgo, com essa intenção, desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho conhecida como ‘Saracura-BRS 4154’ com capacidade de sobreviver, produzir e suportar períodos temporários de encharcamento do solo (Parentoni et al., 1997). Atualmente, esta variedade se encontra no 18º ciclo anual de seleção e seu nome, milho ‘Saracura’, é uma referência à ave comumente encontrada em terrenos alagadiços. Sua capacidade de tolerar períodos intermitentes de alagamento deve-se à presença de diferentes mecanismos bioquímicos e fisiológicos, e também a alterações morfoanatômicas radiculares, como a formação de raízes adventícias e aerênquima (Vitorino et al., 2001; Pereira et al., 2008).

Sabendo-se que espécies utilizam adaptações anatômicas para sobreviverem a ambientes alagados, objetivou-se conhecer a plasticidade foliar adquirida pelo efeito dos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ em condições de campo por meio da caracterização anatômica foliar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008, em condições de campo, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG (clima AW de savana com inverno seco, altitude de 732 m, latitude Sul 19º28’, longitude oeste 44º15’). As temperaturas, máxima e mínima, registradas

durante o período de avaliação foram de 30°C e 18°C, respectivamente. A umidade relativa média foi de 64,3% e a precipitação acumulada foi de 852 mm.

Com a finalidade de facilitar o alagamento, a área foi nivelada e dividida em talhões e o delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. As parcelas foram constituídas de quatro fileiras de 5 m de comprimento e espaçadas em 0,9 m. A distância entre as plantas na linha da parcela foi de 0,2 m e a área útil correspondeu a duas fileiras centrais. Para o alagamento, foi utilizada a água de um reservatório próximo, que foi conduzida por bombas até o local do experimento. Áreas de bordadura foram colocadas em torno das parcelas.

A adubação do solo, classificado como Neossolo Flúvico Tb, Eutrófico Típico, textura argilosa, fase relevo plano, campos de várzeas (Embrapa, 1999), foi feita de acordo com a análise química. Aplicou-se adubação básica com 5-20-20 + Zn, em doses de 400 kg ha⁻¹, no momento do plantio e, após a germinação das cariopses, procederam-se duas coberturas com sulfato de amônio em doses de 20 g m⁻¹ linear, sendo a primeira no estágio de seis folhas e a segunda no estágio de oito folhas.

O alagamento foi iniciado no estágio de seis folhas (quando o meristema de crescimento das plantas já se encontra acima da superfície do solo) (Magalhães et al., 2007) e encerrado na maturidade fisiológica, recebendo uma lâmina de 20 cm de água (inundação de tabuleiro), três vezes por semana. O material genético utilizado foram os ciclos de seleção do milho ‘Saracura-BRS 4154’ intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade, BR 107, como testemunha, conhecida pela suscetibilidade ao encharcamento (Magalhães et al., 2007).

No final do florescimento, foi coletada, em duas plantas em cada repetição, uma amostra na região do terço médio de uma folha totalmente expandida abaixo da folha bandeira de duas plantas em cada repetição. As

amostras foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (FAA 70) (Johansen, 1940), por 48 horas e, em seguida, preservadas em etanol 70%. Cortes transversais do mesófilo e da nervura foram feitos com micrótomo de mesa e os cortes paradérmicos realizados manualmente nas faces adaxial e abaxial (Melo et al., 2007), no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Os cortes transversais foram clarificados com hipoclorito de sódio 5%, por 10 minutos, reidratados por 10 minutos, corados com astrablau (solução de safranina e azul de astra 7,5:2,5) e montados em lâminas com glicerina 50% (Kraus & Arduim, 1997). Os paradérmicos foram corados com safranina 2% e montados em lâminas com glicerina 50%.

Os cortes foram fotografados em microscópio óptico de luz Olympus BX-60 acoplado a uma câmara digital. Os parâmetros medidos nos cortes paradérmicos nas faces adaxial e abaxial foram: densidade estomática (DE), índice estomático (IE) [(número de estômatos/mm²)/número de células epidérmicas], funcionalidade estomática (FUN) (diâmetro polar/diâmetro equatorial) e diâmetro polar dos estômatos (POL). Os parâmetros avaliados para a nervura central foram: números de feixes vasculares (NF), soma do número de vasos de xilema nos feixes (SV), diâmetro dos vasos de metaxilema (DV), índice de vulnerabilidade de Carlquist (IVC) (DV/NV), espessura do floema nos feixes vasculares (FL), diâmetro das células parenquimáticas (CP) e área de esclerênquima (EC). Para o limbo foliar foram medidos: espessura da epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB), espessura do mesófilo (MF), espessura da cutícula da face adaxial (CUT), espessura do floema nos feixes vasculares (FL), diâmetro dos vasos do xilema (DV), número de células buliformes a cada 2 mm (NCB) e diâmetro polar das células buliformes (DB). As avaliações na lâmina foliar foram realizadas após quatro feixes vasculares de maior calibre, partindo da região da nervura mediana em direção à borda foliar, onde havia uma maior uniformidade da espessura da lâmina foliar. Como padrões para as avaliações

nos feixes, utilizaram-se aqueles presentes na nervura central de maior calibre e, no mesofilo, o quarto feixe de maior calibre após a nervura.

As medições foram feitas pelo programa de análise de imagens UTHSCSA ImageTool, utilizando-se calibrações feitas com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotomicrografias (Pereira et al., 2008). Para a determinação do dado final, realizou-se uma média das folhas de duas plantas de cada repetição, tendo, em cada folha, sido feitas cinco medições de cada característica anatômica. Os dados foram testados, quanto à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk e, quanto à homocedacidade, pelo teste de Lavene e apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. Para análise estatística dos resultados, foram utilizados a análise de variância e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 5% de probabilidade, no programa Sisvar versão 4.3 (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas alterações nas secções paradérmicas, tanto na face adaxial quanto na abaxial da folha. A DE na face adaxial foi estatisticamente maior nos ciclos 17 e 18, em relação aos demais ciclos e à testemunha (Tabela 1 e Figura 1). O ciclo 18 apresentou aumento de 45,2% e 41,9% em relação à variedade BR107 e ao C1, respectivamente. O IE, nessa mesma face, também foi maior nos últimos ciclos e menor na testemunha, tendo o C18 apresentado um aumento de 42,76% em relação à testemunha e 30,4% em relação ao primeiro ciclo (Tabela 1 e Figura 1). A FUN adaxial foi maior no C15, C17 e C18, em relação aos demais ciclos e a testemunha, os quais não apresentaram diferenças entre si. O C18 apresentou 29,4% mais funcionabilidade que a testemunha e 25,4% que o C1. O diâmetro polar dos estômatos da face adaxial foi maior nos ciclos 13, 15, 17 e 18, em relação aos ciclos iniciais e à testemunha (Tabela 1).

Na face abaxial, apesar da densidade estomática resultar em maiores valores do que na face adaxial, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

TABELA 1 Características medidas nas secções paradérmicas nas faces adaxial e abaxial das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ submetido a alagamento intermitente.

Tratamentos	Face Adaxial				Face Abaxial			
	DE	IE	FUN	POL (μm)	DE	IE	FUN	POL
BR107	59,81b*	9,72c	1,25b	43,18b	77,41a	10,61b	1,18a	41,83b
C1	63,33b	11,81c	1,32b	42,94b	84,44a	13,04b	1,45a	42,32b
C3	63,30b	11,53c	1,30b	44,28b	91,48a	13,70b	1,53a	44,56a
C5	63,33b	11,81c	1,42b	44,57b	84,44a	13,04b	1,51a	45,83a
C7	70,37b	13,80b	1,38b	45,01b	87,96a	13,62b	1,60a	45,76a
C9	63,33b	12,13c	1,42b	44,22b	105,55a	17,73a	1,42a	46,07a
C11	66,85b	12,71c	1,50b	45,78b	109,07a	16,13a	1,55a	46,44a
C13	77,41b	14,58b	1,45b	46,66a	095,00a	12,68b	1,49a	46,63a
C15	77,41b	13,95b	1,74a	48,02a	095,00a	14,87a	1,58a	46,52a
C17	98,52a	17,51a	1,74a	48,55a	098,54a	17,18a	1,56a	46,12a
C18	109,07a	16,98a	1,77a	48,26a	110,55a	15,96a	1,65a	47,57a
CV(%)	18,15	12,69	14,91	4,18	15,81	13,67	9,78	3,96

* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; DE = densidade estomática (número de estômato/ mm^2); IE = índice estomático; FUN = funcionalidade estomática; POL = diâmetro polar dos estômatos.

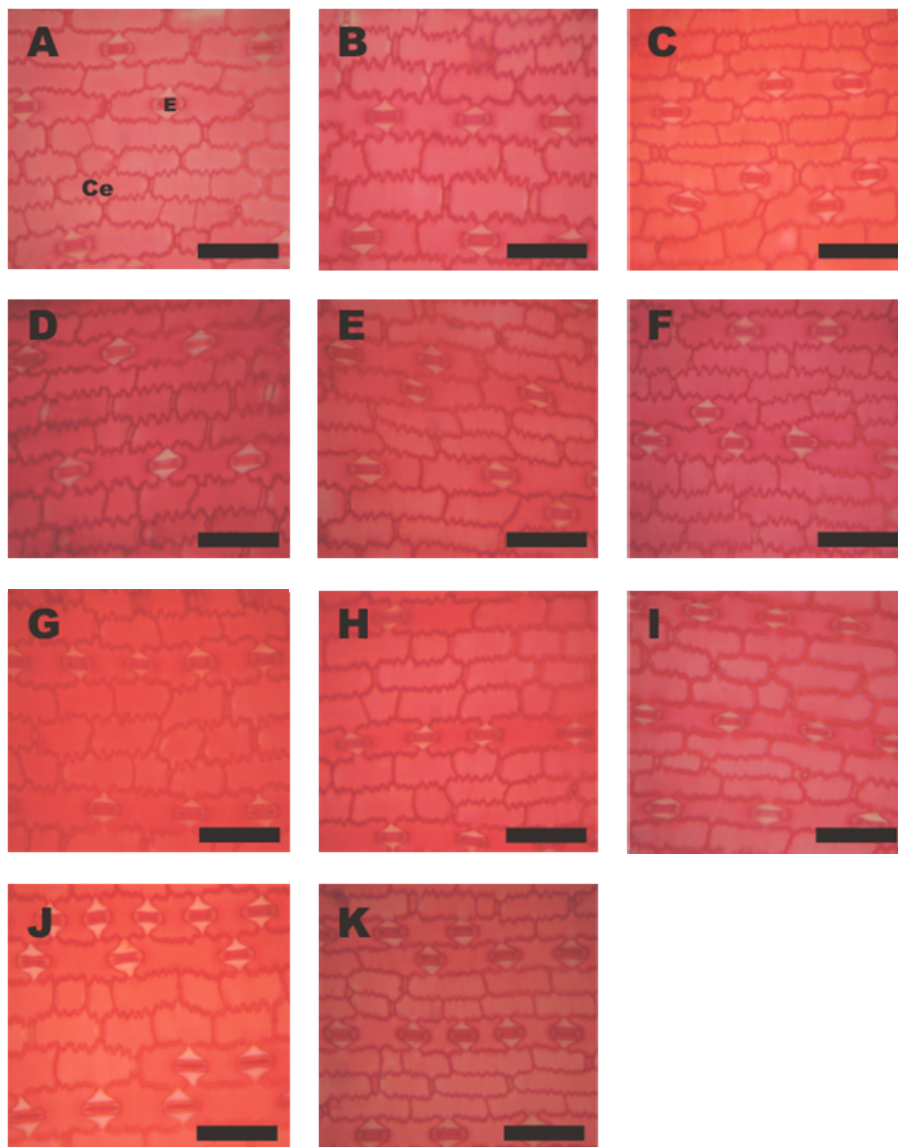


FIGURA 1 Presença de estômatos na folha adaxial, ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ submetido ao alagamento intermitente. CE = célula epidérmica; E = estômato; A = BR 107; B = C1; C = C3; D = C5; E = C7, F = C9; G = C11; H = C13; I = C15; J = C17; K = C18. A barra corresponde a 100 μ m.

Já o índice estomático dessa mesma face apresentou diferença e maiores valores nos ciclos 9, 11, 15, 17 e 18.

O ciclo de maior média (C9) apresentou um IE de 59,9% a mais que a testemunha e 26,4% que o C1. Não houve diferença significativa na funcionabilidade da face abaxial, porém, no diâmetro polar, a testemunha, juntamente com o C1, foi significativamente menor que os demais ciclos de seleção.

A densidade de estômatos pode variar também em outros tipos de estresse abióticos, como a seca, em que ocorre diminuição na densidade estomática (Bergmann, 2004). Plantas resistentes a esses ambientes, entretanto, tendem a apresentar maior densidade de estômatos com menor tamanho, o que favorece a eficiência no uso da água (Chaerle et al., 2005). O fechamento estomático é uma das mais proeminentes respostas ao alagamento, levando à diminuição das trocas gasosas (Nicolas et al., 2005) e, conseqüentemente, da fotossíntese e da condutância estomática. Porém, maior otimização pelo aumento do número de estômatos pode favorecer maior entrada gás carbônico, diminuindo as resistências estomáticas e facilitando o processo de assimilação do carbono. Isto foi observado no milho ‘Saracura’, pois houve um aumento de estômatos, tanto por área quanto por número de células epidérmicas nos últimos ciclos de seleção, podendo, portanto, beneficiar as trocas gasosas. Alguns autores não observaram mudanças na quantidade de estômatos em legumes de regiões alagadas (*Lotus corniculatus* L. e *Lotus glaber* Mill) (Striker et al., 2005).

Maior funcionabilidade nos últimos ciclos pode favorecer maior eficiência no uso da água, pois esses podem conseguir obter gás carbônico com uma área de abertura estomática menor, evitando maiores perdas de água (Pereira, 2008). O mesmo pode ser observado pelo aumento do diâmetro polar nos últimos ciclos que estão diretamente relacionados com a funcionabilidade estomática.

Todas essas características podem favorecer uma maior absorção de CO₂, fator importante e que pode aumentar a quantidade de carbono interno, predispondo uma maior produção de energia para a sobrevivência e o crescimento da cultura em áreas alagadas. Estudos ecofisiológicos e bioquímicos, contudo, devem ser feitos para comprovar tais sugestões, pois, em algumas espécies (inclusive o milho), em ambiente alagado, pode ocorrer uma inibição na carboxilação (Ashraf & Habib, 1999; Yordanova et al., 2005). Resultados semelhantes quanto ao número, ao tamanho e à funcionabilidade de estômatos também foram observados ao longo dos ciclos de seleção em casa de vegetação (Pereira, 2008).

Observa-se, na Tabela 2, que o número de feixes vasculares (NF) exibiu um aumento ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 2). O C3 e a testemunha apresentaram as menores médias e C15 e C18, as maiores. Houve um aumento de 31,5% no ciclo 18 em relação à testemunha e de 37% em relação ao C3. A SV também aumentou ao longo dos ciclos (Tabela 2), tendo C1, C3 e a testemunha sido estatisticamente semelhantes, com as menores médias e os ciclos 13, 15, 17 e 18 foram aqueles que resultaram nas maiores somas do número de vasos de xilema nos feixes (SV). A SV do C1 correspondeu a 42% da soma do C18. Com relação ao diâmetro dos vasos de metaxilema (DV), pode-se observar que C1, C3, C5 e a testemunha apresentaram as menores médias e C13, C15, C17 e C18, as maiores (Tabela 2). O diâmetro dos vasos do metaxilema do C18 diminuíram 37,9% em relação ao C1 (Figura 2, 1A, 2B, 3C). O maior valor do IVC foi encontrado na testemunha e os ciclos 13, 15, 17 e 18 corresponderam aos menores índices, sendo estatisticamente semelhantes entre si (Tabela 2). Ainda sobre os feixes vasculares da nervura, observou-se um aumento na espessura do floema (FL) a partir do quinto ciclo (Tabela 2). O C18 teve um aumento de 26,1% em relação à testemunha e de 24,3% em relação ao C1.

TABELA 2 Característica anatômica da nervura central das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho 'Saracura' submetido a alagamento intermitente.

Tratamento	NF	SV	DV μm	IVC	FL μm	CP μm	EC μm ²
BR107	12,33d*	7,17c	74,55a	10,67a	53,62b	75,90a	35027,67a
C1	13,50c	7,50c	66,85a	9,00b	54,91b	95,03a	33977,50a
C3	11,33d	7,67c	68,22a	9,00b	60,78b	75,72a	29179,10b
C5	13,50c	9,33b	65,83a	7,33c	65,09a	90,47a	29988,61b
C7	13,17c	10,33b	56,72b	5,67d	64,60a	93,99a	27496,26c
C9	14,50b	11,00b	53,88b	5,00d	65,67a	99,10a	26759,92c
C11	15,17b	11,17b	52,82b	4,67d	67,65a	104,03a	25268,84c
C13	15,33b	14,00a	47,24c	3,33e	66,75a	102,91a	26113,09c
C15	16,67a	15,17a	44,00c	2,67e	65,81a	94,02a	24380,54c
C17	16,00b	15,17a	46,24c	3,00e	67,00a	93,80a	24253,33c
C18	18,00a	17,83a	41,52c	2,33e	72,57a	95,71a	23845,13c
CV(%)	6,48	16,16	7,79	16,93	7,33	18,49	08,43

* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; NF = números de feixes vasculares; SV = soma do número de vasos de xilema nos feixes; DV = diâmetros dos vasos de metaxilema; IVC = índice de vulnerabilidade de Carlquist; FL = espessura do floema nos feixes vasculares; CP = diâmetro das células parenquimáticas e EC = área de esclerênquima.

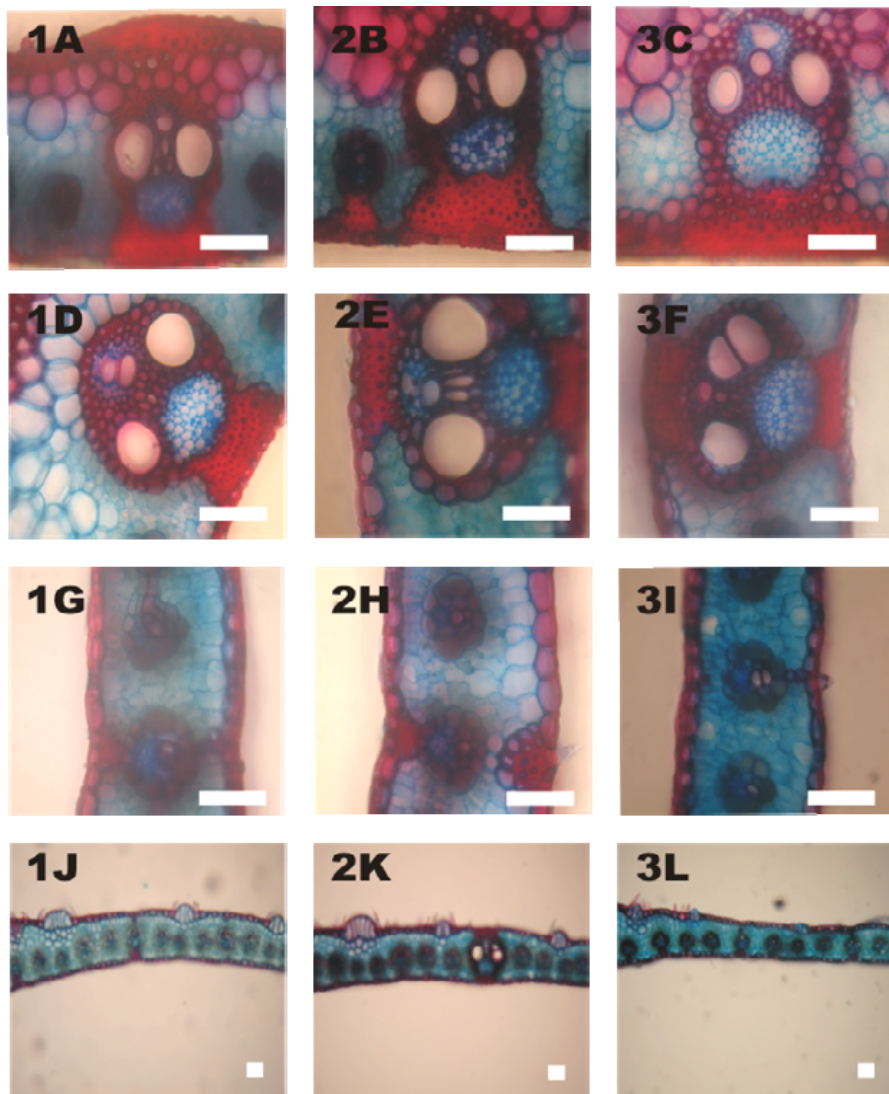


FIGURA 2 Características anatômicas dos cortes transversais da nervura e limbo foliar. 1 = testemunha; 2 = C1; 3 = C18; (A, B, C) = secção transversal da nervura central com detalhe no feixe vascular; (D, E, F) = secção transversal do limbo foliar com detalhe no feixe vascular; (G, H, I) = secção transversal do limbo foliar evidenciando epiderme e cutícula; (J, K, L) = secção transversal do limbo foliar evidenciando as células buliformes. A barra corresponde a 100 μ m.

(Figura 2, 1a, 2B, 3C). Não houve diferença entre o diâmetro das células parenquimáticas (CP) (Tabela 2). Já em relação à área do esclerênquima na nervura (EC) ocorreu diminuição ao longo dos ciclos. As maiores espessuras foram encontradas na testemunha e em C1. Do ciclo 7 ao 18, não foram detectadas diferenças estatísticas. A área de esclerênquima do C18 correspondeu a 68% da área da testemunha e 70,1% da área do ciclo 1.

Na literatura é relatado que, pela falta de oxigênio em solos alagados, ocorre um decréscimo da condutividade hidráulica em plantas (Dell'Amico et al., 2001). A baixa condutividade leva à cavitação processo, que pode diminuir a capacidade da planta em transportar água e fixar carbono (Mostajeran & Rahimi-Eichi, 2008). Quando as espécies possuem maior quantidade de vasos, há um maior fluxo de água e maiores chances de esquivar-se da cavitação (Zimmermann, 1983). O diâmetro dos vasos de xilema também é um importante fator no fluxo de água, pois vasos com calibre maior são mais propensos à cavitação do que os de calibre menor (Vasellati et al., 2001). Portanto, o aumento do número de feixes e de vasos de xilema, nos últimos ciclos de seleção do milho 'Saracura', poderia estar protegendo o sistema hidráulico e, possivelmente, favorecendo a absorção de água na raiz, o fluxo e a distribuição de água nas folhas. Essa proteção no sistema condutor é mostrada pelo menor valor do IVC nos ciclos 13, 15, 17 e 18 (Tabela 2).

Um aumento no número e na espessura dos vasos de floema pode ser uma importante adaptação para as plantas submetidas ao alagamento. Com a hipoxia, o transporte de fotossintatos para a raiz é inibido e, concomitantemente, ocorre menor produção de energia, devido ao bloqueio do ciclo do ácido tricarbóxico. Além disso, a diminuição do fluxo de fotossintatos para a raiz pode acarretar um acúmulo de carboidratos nos cloroplastos, o que leva a uma inibição da fotossíntese. As raízes, em resposta à falta de açúcares, esgotam suas reservas de carboidratos, necessitando, ainda, de uma maior entrada de

fotossintatos (Liao & Lin, 2001). O aumento de NV e de FL nos últimos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ poderia aumentar o transporte de fotossintatos da folha para o restante da planta, além de evitar inibição da fotossíntese.

O diâmetro das células parenquimáticas pode influenciar o espaço intercelular, aumentando a área de gases, como oxigênio. Além disso, a morte de células maiores na formação de aerênquimas poderia originar espaços maiores, porém, não foi verificado um aumento do diâmetro destas células e nem formação de aerênquima.

Menor investimento em área de esclerênquima ocorreu a partir do ciclo 7. De acordo com Pereira (2008), a redução de esclerênquima pode levar à produção de outros tecidos mais importantes, como o floema, facilitando a sobrevivência dos ciclos do milho ‘Saracura’ no ambiente encharcado. As mesmas alterações ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, quanto aos feixes vasculares (floema e xilema) e esclerênquima, foram observadas por este mesmo autor, em casa de vegetação.

A espessura da epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB) diminuiu significativamente ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 3). No mesofilo do C18 houve redução da epiderme adaxial de 28,7% em relação à testemunha e de 20,1% em relação ao C1 (Figura 2, 1G, 2H, 3I). Já a epiderme abaxial do C18 diminuiu 24,4% em relação à testemunha e de 15,9% em relação ao C1. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para a espessura do mesofilo (MF) (Tabela 3). Com relação à cutícula (CUT), a partir do quinto ciclo ocorreu diminuição significativa, sendo os ciclos 7, 9, 11, 13, 15, 17 e 18 semelhantes entre si (Tabela 3). A cutícula do ciclo 18 diminuiu aproximadamente 34,5% em relação à testemunha e ao ciclo 1 (Figura 2, 1G, 2H, 3I). Já a espessura do floema (FL) apresentou valores estatisticamente maiores do ciclo 11 até o 18. O último ciclo resultou num aumento de 25,72% em

TABELA 3 Característica anatômica do limbo foliar das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ submetido a alagamento intermitente.

Tratamento	EAD μm	EAB μm	MF μm	CUT μm	FL μm	DV μm	NCB μm	DB μm
BR107	26,96a*	24,15a	181,45a	14,57a	48,94b	66,50a	8,50a	68,95a
C1	24,57a	22,86a	182,28a	14,55a	52,93b	65,95a	8,33a	73,35a
C3	27,28a	22,55a	177,73a	14,12a	43,74b	64,83a	8,50a	66,90a
C5	27,02a	24,30a	178,29a	11,44b	50,79b	66,28a	8,33a	55,85b
C7	27,26a	22,00a	164,77a	11,64b	49,36b	70,11a	6,67b	61,70a
C9	23,82a	22,84a	174,15a	11,95b	49,73b	61,85b	7,33b	61,47a
C11	23,61a	20,76b	167,66a	10,78b	55,92a	59,67b	7,33b	53,36b
C13	20,69b	20,28b	170,18a	10,75b	57,35a	62,43b	5,67b	52,41b
C15	20,82b	21,42b	171,37a	10,66b	61,65a	59,89b	6,33b	49,72b
C17	20,77b	19,69b	175,26a	10,24b	66,20a	56,80b	6,17b	57,66b
C18	19,62b	19,22b	156,61a	9,53b	65,89a	54,05b	5,83b	49,68b
CV(%)	9,18	7,96	4,52	9,69	12,27	06,38	14,38	10,31

* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; EAD = espessura da epiderme adaxial; EAB = espessura da epiderme abaxial; MF = espessura do mesofilo; CUT = espessura da cutícula da face adaxial; FL = espessura do floema nos feixes vasculares; DV = diâmetro dos vasos do xilema; NCB = número de células buliformes a cada 2 mm e DB = diâmetro polar das células buliformes.

relação à testemunha e de 19,67% em relação ao C1 (Figura 2, 1D, 2E, 3F). Observou-se diminuição do diâmetro do xilema (DV) ao longo dos ciclos de seleção (Figura 2, 1D, 2 E, 3 F). O maior diâmetro de xilema foi encontrado na testemunha (66,50), o qual foi estatisticamente semelhante aos ciclos 1, 3, 5 e 7. (Tabela 3). O C18, juntamente com os ciclos 9, 11, 13, 15, e 17, resultou no menor diâmetro (Tabela 3). O número de células buliformes (NCB) da testemunha foi estatisticamente semelhante ao dos ciclos 1, 3 e 5. A partir do C7 até o C18, as médias foram iguais e com menores valores. O C18 teve diminuição de 31,4% em relação à testemunha e de 30% em relação ao ciclo 1 (Figura 2, 1J, 2K, 3L).

Os diâmetros das células buliformes também diminuíram ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 3 e Figura 2, 1J, 2K, 3L). A testemunha e os ciclos 1, 3, 7 e 9 foram estatisticamente semelhantes entre si e corresponderam às maiores médias.

As folhas dos últimos ciclos apresentaram limbo foliar com características anatômicas semelhantes às de espécies completamente alagadas. Nestas plantas, observa-se uma fina camada de epiderme e de cutícula que leva a um decréscimo da resistência difusiva de gases, favorecendo a entrada de gás carbônico na folha (Voosenek et al., 2006; Mommer et al., 2007).

Stoyanova et al. (2002) também não encontraram diferenças no mesofilo do cultivar de milho Knezha 6112L submetido a alagamento. Apesar de, no presente trabalho, não terem ocorrido diferenças significativas no mesofilo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, Pereira (2008) encontrou diferenças trabalhando em casa de vegetação com os mesmos ciclos e a testemunha.

O aumento na espessura do floema e a diminuição do diâmetro do xilema ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, como já discutido para a nervura central, aumentam a capacidade de transporte de fotossintatos e

protege contra a cavitação, respectivamente (Vassellati et al., 2001; Liao & Lin, 2001).

Um maior número de células buliformes com diâmetro polar maior nos ciclos iniciais possivelmente está relacionado ao enrolamento foliar que, de acordo com Melo et al. (2007), proporciona uma redução na área de superfície de transpiração, sendo estes ciclos mais sensíveis ao alagamento. Os últimos ciclos de seleção, entretanto, possivelmente, estão mais adaptados fisiologicamente ao alagamento intermitente, permitindo um desenrolamento foliar com aumento da superfície fotossintética sem acréscimo na transpiração. Pereira (2008), em casa de vegetação, também observou, ao longo dos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’, um menor número de células buliformes com menor diâmetro.

6 CONCLUSÕES

Os sucessivos ciclos de seleção do milho ‘Saracura’ apresentaram modificações na plasticidade foliar que, provavelmente, estão favorecendo sua tolerância ao alagamento intermitente do solo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHRAF, M.; HABIB-UR-REHMAN. Interactive effects of nitrate and long-term waterlogging on growth, water relations, and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* L.). **Plant Science**, London, v.144, n.1, p.33-43, 1999.

BERGMANN, D.C. Integrating signals in stomatal development: **Current opinion Plant Biology**, London, v.1, p.26-32, 2004.

BRAGINA, T.V.; PONOMAREVA, Y.V.; DROZDOVA, L.S.; GRINIEVA, G.M. Photosynthesis and dark respiration in leaves of different ages of partly flooded maize seedlings. **Russian Journal of Plant**, v.51, n.3, p.342-347, 2004.

CHAERLE, L.; SAIBO, N.; VAN DER STRAETEN, D. Tuning the pores: towards engineering plants for improved water use efficiency. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v.23, n.6, p.308-315, 2005.

CHEN, H.; QUALLS, R.G.; BALK, R.R. Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.82, p.250-268, June 2005.

DAT, J.F.; CAPELLI, N.; FLOZER, H.; BOURGEADE, P.; BADOT, M. Sensing and signaling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.42, n.4, p.273-282, Apr. 2004.

DELL'AMICO, J.; TORRECILLAS, A.; RODRIGUES, P.; MORALES, D.; SANCHE-BLANCO, M.J. Differences in the effects of flooding the soil early and late in the photoperiod on the water relations of grown tomato plants. **Plant Science**, London, v.160, n.3, p.481-487, Feb. 2001.

ELSE, M.A.; COUPLAND, D.; DUTTON, L.; JACKSON, M.B. Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis*) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. **Physiology Plant**, Copenhagen, v.111, n.1, p.46-54, Jan. 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Solos, 1999. 412p.

FERNÁNDEZ, M.D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica**, Prague, v.44, n.1, p.32-38, Mar. 2006.

FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA/DEX, 2000. 66p.

HUBER, H.; JACOBS, E.; VISSER, J.W. Variation in flooding-induced morphological traits in natural populations of white clover (*Trifolium repens*) and their effects on plant performance during soil flooding. **Annals of Botany**, London, v.103, p.377-386, 2009.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 2.ed. New York: Mc Graw-Hill, 1940. 300p.

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

LI, S.W.; PEZESHKI, S.R.; GOODWIN, S. Effects of soil moisture regimes on photosynthesis and growth in cattail (*Typha latifolia*). **Acta Oecologica**, Berlin, v.25, n.1-2, p.17-22, Mar. 2004.

LIAO, C.T.; LIN C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of National Science Council**, Beijing, v.25, n.3, p.148-157, Apr. 2001.

LIZASO, J.L.; MELENDEZ, L.M.; RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I Shoot and root growth. **Journal of Plant Nutrients**, New York, v.24, n.7, p.979-995, June 2001.

MAGALHÃES, P.C.; FERRER, J.L.R.; ALVES, J.D.; VASCONSELLOS, C.A.; CANTÃO, F.R.O. Influência do cálcio na tolerância do milho ‘saracura’ BRS- 4154 ao encharcamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.1, p.40-49, 2007.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; ROMERO, J.L.; ALVES, J.D. FRIES, D.D.; MELO, L.A.; MAGALHÃES, P.C. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.3, p.333-342, 2004.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; MELO, L.A.; ALVES, J.D. 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, June 2007.

MOMMER, L.; PONS, T.L.; WOLTERS-AETS, M.; VENEMA, J.H.; VISSER, E.J.W. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affect gas diffusion resistance and photosynthetic performance. **New Physiology**, v.139, p.497-508, 2005.

MOMMER, L.; WOLTERS-ARTS, M.; ANDERSEN, C.; VISSER, E.J.W.; PEDERSON, O. Submergence-induced leaf acclimation in terrestrial species varying in flooding tolerance. **New Physiologist**, Cambridge, v.176, p.337-345, 2007.

MOSTAJERAN, A.; RAHIMI-EICHI, V. Drought stress effects on root anatomical characteristics of rice cultivars (*Oryza sativa* L.). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.11, n.18, p.2173-2183, 2008.

NAVAS, M.L.; GARNIER, E. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia perigrina* in response to light, nutrient and water availability. **Acta Oecologica**, Berlim, v.23, p.375-386, 2002.

NICOLAS, E. TORRECILLAS, A.; DELL'AMICO, J. The effect of short-term flooding on the sap flow, gas exchange and hydraulic conductivity of young apricot trees. **Trees**, Berlin v.19, p.51-57, 2005.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.; LOPES, M.A.; SANTOS, M.X.; GUIMARÃES P.E.O.; PACHECO, C.A.; SOUZA, I.R.O.; MEIRELES, W.; CORREA, L.A. Seleção para tolerância ao encharcamento na variedade de milho CMS54-Saracura. In: REUNION LATINOAMERICANA, 4.; REUNION DELA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EM MAIZE, 17., 1997, Cerete Y Cartagena de Indias. **Memória...** Cerete Y Cartagena de Indias, Colômbia: CORPOICA/CIMMYT, 1997. p.368-373.

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

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.43, n.12, p.1649-1656, dez. 2008.

QIU, F.; ZHENG, Y.; ZHANG, Z.; XU, S. Mapping of QTL associated with waterlogging tolerance during the seedling stage in maize. **Annals of Botany**, London, v.99, p.1067-1081, 2007.

SAIRAM, R.K.; KUMUTHA, D.; EZHILMATHI, K.; DESHMUKH, P.S.; SRIVASTAVA, G.C. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.52, n.3, p.401-412, 2008.

SANTOS, A.B. dos. Aproveitamento da soca. In: VIEIRA, N.R. de A.; SANTOS, A.B. dos; SANT'ANA, E.P. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p.463-492.

SILVA, S.D.A.; SERENO, M.J.C.C. M; SILVA, C.F.L.; OLIVEIRA, A.C.; BARBOSA. NETO, J. Inheritance of tolerance to flooded soils in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.7, n.2, p. 165-172, 2007.

STOYANOVA, D.; TCHAKALOVA, E.; YORDANOV, L. Influence of different soil moisture on anatomy of maize leaves and ultrastructure of chloroplasts. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, v.28, n.1-2, p.11-20, 2002.

STRIKER, G.G.; INSAUSTI, P.; GRIMOLDI, A.A.; PLOCHUK, E.E.; VASELLATI, V. Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.276, p.301-311, 2005.

VASELLATI, V.; OESTERHELDS, M.; MEDAN, D.; LORETI, J. Effects of flooding and drought on the Anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Annals of Botany**, London, v.88, n.3, p.355-360, Apr. 2001.

VITORINO, P.G.; ALVES, J.D.;MAGALHÃES, P.C.;MAGALHÃES, M.M.; LIMA, L.C.O.; OLIVEIRA, L.E.M. Flooding tolerance and cell wall alterations in maize mesocotyl during hypoxia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.8, p.1027-1035, ago. 2001.

VOESENEK, J.A.C.; COLEMAN, T.D.; PIETLIK, R.; MILLENAAR, F.F.; PEETERS, A.J.M. How plants cope with complete submergence. **New Phytologist**, Cambridge, v.170, n.2, p.213-226, Apr. 2006.

ZAIDI, P.H.; MANISELVAN, P.; YADAV, P.; SINGH, A.K.; SULTANA, R.; DUREJA, P.; SINGH, R.P.; SRINIVASAN, G. Stress-adaptive changes in tropical maize (*Zea mays* L.) under excessive soil moisture stress. **Maydica**, Bergamo, v.52, p.159-171, 2007a.

ZAIDI, P.H.; RAFIQUE, S.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop stages and identification of tolerant genotypes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.90, n.2-3, p.189-202, Dec. 2004.

ZAIDI, P.H.; SELVAN, P.M.; SULTANA, R.; SRIVASTAVA, A.; SINGH, A.K.; SRINAVASAN, G.; SINGH R, P.; SINGH, P.P. Association between line *per se* and hybrid performance under excessive soil moisture stress in tropical maize (*Zea mays* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v.101, n.1, p.117-126, Feb. 2007b.

ZIMMEMANN, M.H. **Xylem structure and the ascent of sap**. Berlin Heidelberg: Springer, 1983.

YORDANOVA, R.Y.; UZUNOVA, A.; POPOVA, L.P. Effects of short-term soil flooding on stomata behaviour and leaf gas exchange in barley plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v.49, n.2, p.317-319, June 2005.