



DANIELLE REZENDE VILELA

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E EXPRESSÃO DE
ENZIMAS RELACIONADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT
HÍDRICO EM LINHAGENS DE MILHO**

**LAVRAS-MG
2019**

DANIELLE REZENDE VILELA

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E EXPRESSÃO DE ENZIMAS
RELACIONADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM LINHAGENS DE
MILHO**

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

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
Orientadora

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho
Coorientador

**LAVRAS-MG
2019**

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

Vilela, Danielle Rezende.

Características agronômicas e expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico em linhagens de milho / Danielle Rezende Vilela. - 2019.

53 p. : il.

Orientador(a): Édila Vilela de Resende Von Pinho.

Coorientador(a): Renzo Garcia Von Pinho.

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

Bibliografia.

1. Zea mays. 2. População de plantas. 3. Estresse abiótico. I. Von Pinho, Édila Vilela de Resende. II. Von Pinho, Renzo Garcia. III. Título.

O conteúdo desta obra é de responsabilidade do(a) autor(a) e de seu orientador(a).

DANIELLE REZENDE VILELA

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E EXPRESSÃO DE ENZIMAS
RELACIONADAS À TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM LINHAGENS DE
MILHO**

**AGRONOMIC CHARACTERISTICS AND EXPRESSION OF ENZYMES RELATED
TO WATER DEFICIT TOLERANCE IN CORN LINES**

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

APROVADA em 18 de fevereiro de 2019.

Dr. Adriano Delly Veiga

EMBRAPA

Dra. Heloisa Oliveira dos Santos

UFLA

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
Orientadora

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho
Coorientador

**LAVRAS-MG
2019**

Aos meus pais, Eila e Rogério, pelo carinho e apoio em todas as etapas da minha vida.

Ao meu irmão Igor, pelo incentivo e amizade, em todos os momentos.

Aos meus avós, por serem exemplo de vida, e por todas as orações.

Com todo amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me abençoar em toda a minha caminhada, e pela sabedoria para tomar as decisões corretas.

Aos meus pais, Eila e Rogério, pelo amor incondicional, incentivo, apoio e carinho, e por estarem presentes em todos os momentos da minha vida.

Ao meu irmão Igor, pela amizade, carinho e amor.

À minha avó Mércia, por todos os conselhos, orações, e estar sempre ao meu lado. Ao meu avô Custódio, meu grande exemplo, que onde quer que esteja está muito orgulhoso de mim, pois me ensinou que abençoados são aqueles que enxergam no campo e nos animais a mão de Deus, e cuidam de tudo com amor para devolver a Deus em dobro tudo o que receberam inicialmente.

Aos meus avós Maria Aparecida e Maurício, por serem apoio, e pelos conselhos sábios, amor e orações.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

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

À minha orientadora, Prof. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho, por ter me acolhido, pelos conhecimentos transmitidos, dedicação, incentivo, paciência e amizade, e por ter confiado em meu trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Renzo Garcia Von Pinho, por toda ajuda e ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho, Dr. Renzo Garcia Von Pinho, Dr Adriano Delly Veiga e Dra Heloisa Oliveira dos Santos, por terem aceitado o convite.

A todos os professores do Setor de Sementes, por toda a contribuição e auxílio.

Aos pós-doutorandos, Dr. Renato Coelho de C. Vasconcellos, Dra. Elise de Matos Pereira e Dr. Vander Fillipe de Souza e à Prof. Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires, pela ajuda e disposição sempre que precisei.

A todos os amigos, estagiários, bolsistas dos grupos de pesquisa das professoras Édila e Heloisa, por toda a ajuda e empenho na realização dos experimentos, por todos os momentos de alegria e emoção e, principalmente, pela amizade.

Aos amigos do Setor de Sementes e colegas da Pós-Graduação e, em especial, Cids, Flavinha, Rafa, Inara, Rodolfo, Ewerton, Maiara, Victor, Vinicinho e Reberth, pela paciência, amizade, companheirismo, honestidade, incentivos e bons momentos.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes, Jaqueline e Geraldo, pela disponibilidade e auxílio na execução dos experimentos.

Aos amigos do NEsem, por todos os conhecimentos compartilhados e momentos que passamos juntos.

E a todos que de alguma forma ajudaram na realização desse trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O estresse pela baixa disponibilidade hídrica é um dos fatores que mais limitam o desenvolvimento da cultura do milho. Deste modo, busca-se por meio de programas de melhoramento genético, a seleção de genótipos com tolerância ao déficit hídrico. A utilização de caracteres indiretos relacionados à tolerância ao déficit hídrico, pode auxiliar em programas de melhoramento, visando a seleção de cultivares. Também a avaliação da expressão de enzimas associadas à tolerância aos estresses abióticos, pode ser uma ferramenta visando o desenvolvimento de cultivares com tolerância ao déficit hídrico. O objetivo dessa pesquisa, foi avaliar as características agrônômicas e a expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico em linhagens de milho. Foram utilizadas quatro linhagens contrastantes, sendo duas linhagens classificadas como tolerantes (T), L91-T e L63-T, e duas não tolerantes (NT), L57-NT e L24-NT, ao déficit hídrico. Foi instalado um experimento utilizando-se duas populações de plantas, 60 e 120 mil plantas ha⁻¹ na área experimental da Universidade Federal de Lavras. Nessas condições, foram avaliados os seguintes caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca: florescimentos feminino e masculino, intervalo entre os florescimentos masculino e feminino, prolificidade, altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga, altura do pendão, número de fileiras de grãos na espiga, produtividade de grãos e peso de 100 grãos. Foi avaliada ainda, a atividade enzimática das enzimas catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase, em folhas, raízes adventícias e ponta da espiga. Maiores alturas de plantas, inserção da primeira espiga e pendão e maiores produtividades foram observadas quando se utilizou a população de 120 mil plantas ha⁻¹. Maior produtividade de grãos foi observada para a linhagem 24, na qual também se observou maior número de fileiras de grãos. Maiores intervalos de florescimento masculino e feminino foram observados em plantas das linhagens 57 e 24, quando se utilizou a maior densidade populacional. Maior atividade da enzima ascorbato peroxidase foi observada em folhas e ponta da espiga quando se aumentou a população de plantas. Para as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), maior atividade foi observada em todos os tecidos quando foi utilizada a densidade populacional de 60 mil plantas ha⁻¹. Pode-se concluir que há aumento da altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga e altura do pendão, quando a densidade populacional de plantas de milho é aumentada. Em maiores densidades populacionais, utilizadas para simular a deficiência hídrica, há aumento entre o intervalo de florescimento masculino e feminino, em linhagens não tolerantes à seca. Em relação a atividade enzimática, pode-se concluir que há maior atividade da enzima ascorbato peroxidase nas folhas e ponta da espiga quando utilizada maior densidade populacional de plantas, visando a simulação de deficiência hídrica. Em relação a atividade enzimática, pode-se concluir que as enzimas APX e SOD variam com tecido e densidade populacional, já a atividade da enzima CAT varia com o tecido, densidade populacional e genótipo.

Palavras-chave: *Zea mays*. População de plantas. Seleção indireta. Atividade enzimática. Estresse abiótico

ABSTRACT

Stress due to low water availability is one of the factors that most limit the development of the maize crop. In this way, the selection of genotypes with tolerance to water deficit is sought through genetic improvement programs. The use of indirect characters related to tolerance to water deficit can help in breeding programs for cultivars selection. Also, the evaluation of enzyme expressions associated with drought tolerance can be a tool aiming the development of cultivars with greater tolerance to water deficit. The objective of this research was to evaluate the agronomic traits and the expression of enzymes related to tolerance to water deficit in maize lines. Four contrasting lines were used, with two lines classified as tolerant (T), L91-T and L63-T, and two non-tolerant (NT), L57-NT and L24-NT, to water deficit. The experiment was carried out using two plant populations, 60 and 120 thousand plants. ha⁻¹. Under these conditions, the following indirect traits related to drought tolerance were evaluated: female and male flowers, interval between male and female flowers, prolificacy, plant height, first ear insertion height, tassel height, number of grain rows in the ear, grain yield and weight of 100 grains. The enzymatic activity of the enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) in leaves, adventitious roots and tip of the spike were also evaluated. Higher plant heights, first ear and tassel insertion, and higher yields were observed when the population of 120,000 plants ha⁻¹ plants was used. Greater grain yield was observed for line 24, in which a larger number of grains rows were also observed. Larger ranges of male and female flowering were observed in plants of lines 57 and 24 when the highest population density was used. Higher activity of the enzyme ascorbate peroxidase was observed in leaves and tip of the spike when the plant population was increased. For SOD and CAT enzymes, higher activity was observed in all tissues when the population density of 60,000 plants ha⁻¹ was used. It can be concluded that there is an increase in the height of plants, height of insertion of the first spike and height of the tassel when the population density of corn plants is increased. And in higher population densities, used to simulate water deficiency, there is an increase between the male and female flowering intervals in non-drought tolerant strains. In relation to the enzymatic activity it can be concluded that there is a greater activity of the enzyme ascorbate peroxidase in the leaves and tip of the spike when the highest population density of plants was used in order to simulate water deficiency. In relation to the enzymatic activity it can be concluded that the APX and SOD enzymes vary between tissue and population density, whereas the activity of the CAT enzyme varies between tissue, population density and genotype.

Keywords: *Zea mays*. Population of plants. Indirect selection. Enzymatic activity. Abiotic stress.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Considerações sobre a cultura do milho no Brasil	12
2.1.1	Fenologia	14
2.2	Consequências do déficit hídrico em milho.....	15
2.3	Resposta das plantas ao déficit hídrico.....	17
2.4	Melhoramento genético para tolerância ao déficit hídrico.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	Avaliação de caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca.....	22
3.2	Análises enzimáticas.....	23
3.2.1	Análise das enzimas CAT, SOD, APX.....	23
3.3	Análises Estatísticas	24
4.1	Dados climáticos durante a condução do experimento	25
4.2	Características morfoagronômicas relacionadas a tolerância ao déficit hídrico	26
4.3	Atividade enzimática em diferentes tecidos das plantas de milho produzida sob diferentes populações de plantas.....	35
5	CONCLUSÕES	40
	REFERÊNCIAS	41
	APÊNDICES	50

1 INTRODUÇÃO

O milho é um dos cereais mais cultivados no Brasil e no mundo, assumindo importante papel no agronegócio. Nos últimos anos, no Brasil, tem sido observado um aumento significativo da área plantada com milho segunda safra e redução da área plantada com milho primeira safra (CONAB, 2018). O cultivo de milho em segunda safra é geralmente mais exposto à deficiência hídrica, o que pode provocar reduções significativas na produção de grãos. Vale ressaltar, que no cultivo de verão também têm sido observadas reduções na produtividade de grãos sob condições de déficit hídrico.

Assim, com o intuito de minimizar perdas de produtividade em programas de melhoramento de plantas, tem-se buscado realizar seleções de cultivares com boas características agronômicas e, ao mesmo tempo, tolerantes ao déficit hídrico. A identificação e o entendimento dos mecanismos relacionados à tolerância ao déficit hídrico são fundamentais para o desenvolvimento de novos materiais com essa característica (SHAO et al., 2008).

A habilidade da planta reagir às condições de estresse, como a seca, envolve modificações morfológicas em diversos tecidos da planta. Sob condições de déficit hídrico observa-se modificações adaptativas na morfologia e na fisiologia, como crescimento reduzido, redução da área foliar, maior desenvolvimento do sistema radicular, enrolamento foliar e abscisão floral (BASTOS et al., 2011, VARSHNEY et al., 2011).

Além disso, o déficit hídrico desencadeia vários processos bioquímicos e fisiológicos importantes e ainda afeta o sistema de defesa de enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica. Esse déficit causa o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS), tais como radicais superóxido, H_2O_2 e $OH\cdot$. Em plantas sob déficit hídrico, observa-se aumento da atividade dessas enzimas relacionado ao aumento à tolerância à seca (ZHU, 2002). Nesse sentido, o equilíbrio relacionado à expressão dessas enzimas antioxidantes é fundamental para a regulação dos níveis de EROS nas células.

O entendimento da expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico é importante visando o desenvolvimento de cultivares.

Altas populações de plantas aumentam a competição por recursos disponíveis do ambiente, o que ocorre quando as plantas estão em condições de déficit hídrico. Portanto, pode-se utilizar altas densidades populacionais nos programas de melhoramento, visando a seleção de genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico.

Assim, a caracterização dos materiais sob condições de estresse, por meio de modificações morfoagronômicas, como altura de plantas, períodos de florescimento e

componentes de produção, e a avaliação dos sistemas enzimáticos, podem colaborar no desenvolvimento de materiais com tolerância, buscando-se altas produtividades mesmo em condições adversas.

Assim, objetivou-se avaliar as características agronômicas e a expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico em linhagens de milho contrastantes, cultivadas em diferentes de populações de plantas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações sobre a cultura do milho no Brasil

O milho (*Zea mays*) é um cereal de grande importância em todo o mundo. A cultura do milho se destaca no Brasil, e tem papel socioeconômico importante no agronegócio, uma vez que a cultura é cultivada em várias regiões do país. Fornece matéria-prima para a alimentação humana e animal, além de ser ingrediente da linha de produção da indústria de rações e de alimentos, fazendo parte da composição de diversos produtos (PEREIRA et al., 2018; QUEIROZ et al., 2011).

Segundo dados da CONAB (2018), a produção brasileira de milho, nas duas safras, 2017/2018, totalizou 80,8 milhões de toneladas em uma área de 16,6 milhões de hectares. Já a produção estimada de milho para a safra 2018/2019 é de 91,1 milhões de toneladas em uma área de 16,7 milhões de hectares, representando um aumento de 12,8% na produção e de 0,2 % na área em relação à safra passada.

A produção de milho no Brasil tem sido realizada em duas épocas de semeaduras, a primeira safra ou safra verão, e a segunda safra, também conhecida como safrinha. A semeadura da safra verão é realizada entre os meses de setembro a novembro, período chuvoso, e a safrinha (milho de sequeiro), normalmente é semeada após a soja precoce, ou até mesmo após o milho safra, entre os meses de janeiro e março, no período da seca (AGRIANUAL, 2016; COELHO, 2013).

Nos últimos anos tem sido observado aumento da área plantada com milho na segunda safra e declínio da área plantada com milho na primeira safra. Isso pode ser explicado pela utilização da semeadura tardia de milho, como alternativa em sucessão à soja, fumo, feijão e batata, o que proporciona uma renda adicional ao produtor, que passa a não depender apenas de uma safra anual (PORTO et al., 2011; SILVA, 2010).

Com a crescente adoção de tecnologia na safrinha, tem sido possível observar aumento no rendimento da cultura. A área cultivada na segunda safra, ou safrinha, tem aumentado, chegando a superar a primeira safra, tanto no que refere à área plantada quanto à produção de grãos, representando 67% da produção total do grão no país. Isso tem possibilitado também, a otimização da mão de obra, maior aproveitamento da terra e maquinários da propriedade, diminuindo assim, a sazonalidade da produção (KOPPER et al., 2018; PORTO et al., 2011; UATE et al., 2015).

A semeadura realizada na segunda safra é influenciada pelos fatores climáticos e coincide com uma época de baixos índices pluviométricos e com temperatura e a radiação solar decrescentes. Esses fatores podem diminuir o potencial produtivo e comprometer a produção, pois levam a planta a uma condição de estresse (PERIN et al., 2009; VAN ROEKEL; COULTER, 2012).

Na segunda safra, a deficiência hídrica normalmente coincide com os estádios mais avançados da cultura, o que pode limitar substancialmente o seu potencial produtivo (SIMÃO et al., 2017).

As variações da produção de milho estão associadas à disponibilidade da água, principalmente no período do florescimento ao enchimento de grãos. O estresse pela baixa disponibilidade hídrica pode interferir na fenologia, crescimento, desenvolvimento e potencial produtivo da planta de milho (FORSTHOFER et al., 2006; SHIOGA et al., 2011).

No Brasil, na safra 2015/2016, dos 15,8 milhões de hectares de área expostos ao estresse hídrico, 5,5 milhões foram áreas de milho verão e 10,3 milhões foram áreas de milho safrinha (CONAB, 2016).

Em Minas Gerais, o início da primeira safra (2017/18) foi marcado pelo baixo volume e a má distribuição das chuvas. Após a semeadura, as condições climáticas foram consideradas desfavoráveis, uma vez que ocorreu uma escassez de chuva em um período superior a 50 dias. Na semeadura de milho segunda safra, o decréscimo da chuva ou ausência dela em determinados períodos prejudicou o desenvolvimento da cultura e diminuiu consideravelmente a produtividade. Ocorreu um veranico com duração de 40 dias em algumas regiões de Mato Grosso do Sul, provocando redução de aproximadamente 30% da produtividade nessas áreas. Na região Sudeste, a combinação de elevadas temperaturas com ausência de chuvas em períodos críticos de desenvolvimento, comprometeu os níveis de produtividades, afetando a produção. Em São Paulo, houve perdas de até 40% em relação à safra passada (CONAB, 2018).

Uma situação de estresse influencia na escolha da cultivar ou do híbrido a ser utilizado na semeadura. Portanto, o desenvolvimento de novas cultivares comerciais mais tolerantes ao déficit hídrico é de extrema importância, e a identificação e compreensão dos mecanismos de tolerância à seca são fundamentais nos processos de seleção.

2.1.1 Fenologia

Conhecer o desenvolvimento da cultura é essencial para o acompanhamento dela e realização das práticas de manejo adequadas. Dessa forma, a identificação dos estádios fenológicos do milho auxilia no acompanhamento do desenvolvimento da lavoura (RITCHIE HANWAY; BENSON, 2003).

No Brasil, o ciclo das cultivares de milho varia entre 110 e 180 dias, período compreendido entre a semeadura e a colheita, e a duração das fases fenológicas varia bastante entre regiões, anos e datas de semeadura, em razão das alterações climáticas (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003).

O ciclo da cultura do milho consiste de cinco diferentes etapas de desenvolvimento: (i) germinação e emergência; (ii) crescimento vegetativo; (iii) florescimento e polinização; (iv) fecundação e enchimento de grãos e; (v) maturidade, marcada pelo aparecimento da camada negra, o que indica o final do ciclo da cultura (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Os estádios de desenvolvimento são divididos em estádios vegetativos (V) e estádios reprodutivos (R), o que permite relacionar elementos ligados à fisiologia da planta, ao clima, aos aspectos fitotécnicos e fitossanitários, e o desempenho da cultura.

A germinação ocorre quando as condições de temperatura e umidade são favoráveis. Após a germinação, ocorre a alongação do mesocótilo, o qual empurra o coleótilo em crescimento para a superfície do solo, caracterizando o estágio VE, sendo que o sistema radicular nodular é iniciado no estágio VE (BARROS; CALADO, 2014). Já o V1 e V2 são caracterizados pelo aparecimento da primeira e segunda folha totalmente expandidas. Nos estádios V3 a V5 a planta ainda possui um caule em formação. Nesse estágio, a planta começa a definir o número máximo de grão, ou seja, ocorre a definição do potencial produtivo. No estágio V5, tanto a iniciação das folhas como a das espigas, estará completa. A partir do estágio V3, a planta já faz fotossíntese e as reservas das sementes estão se esgotando (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003). No estágio V6 o colmo inicia o período de alongação acelerada. O sistema radicular nodular, fasciculado, está em pleno funcionamento e crescimento (MAGALHÃES et al., 2002). Entre os estádios de V7-V10, ocorre importante demanda de água devido a taxa de desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, início do pendão, e alongação do caule (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000), havendo grande sensibilidade ao déficit hídrico nessa fase. O estágio que corresponde o V10 ao VT, é caracterizado por plantas com dez folhas e o pré-pendoamento. Neste intervalo, há a definição dos grãos em potencial, do tamanho das espigas, e a formação das raízes adventícias aéreas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Nos estádios reprodutivos a temperatura ótima para o desenvolvimento da cultura deve permanecer entre 24 e 30 °C. Estes são subdivididos em R1 (florescimento), R2 (grão leitoso), R3 (grão pastoso), R4 (grão farináceo), R5 (grão farináceo-duro) e R6 (maturidade fisiológica). No estágio R6 (formação da camada preta), o teor de água médio do grão é de 30-35%, podendo variar com as condições ambientais (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003; MAGALHÃES et al., 2002).

2.2 Consequências do déficit hídrico em milho

As alterações climáticas interferem na produção de grãos atingindo as diferentes culturas e a cultura do milho é influenciada diretamente pela baixa disponibilidade hídrica.

O milho é cultivado em regiões cujas precipitações variam de 300 a 5.000 mm anuais, sendo que, a quantidade de água consumida por uma planta durante o seu ciclo, está em torno de 600 mm. Quando cultivado fora do período recomendado para a cultura, a produtividade pode ser fortemente influenciada por fatores climáticos (MAGALHÃES et al, 2002).

Períodos prolongados de déficit hídrico provocam mudanças na morfologia e fisiologia das culturas. O déficit hídrico afeta vários aspectos relacionados ao desenvolvimento das plantas, promovendo redução da área foliar, diminuição da fotossíntese, e interfere em outros processos (MINUZZI; LOPES, 2015). Para tolerar situações de deficiência hídrica, as plantas desenvolvem estratégias, envolvendo modificações morfoanatômicas, celulares e moleculares (NOGUEIRA et al., 2001).

A restrição hídrica pode reduzir a altura da planta, bem como a produção e a fertilidade do pólen, além de alterar o sincronismo do florescimento masculino e feminino (BRASIL et al., 2007).

O milho se mostra relativamente tolerante ao déficit hídrico na fase vegetativa, mas apresenta grande sensibilidade na fase reprodutiva. É particularmente muito sensível ao déficit hídrico no estágio de florescimento, e a produtividade pode ficar comprometida, pois essa é a fase que determina a quantidade de óvulos a serem fecundados, sendo assim, o número de grãos e o rendimento da produção é afetado de forma significativa. Os períodos mais críticos correspondem ao início do florescimento até o início da fase de enchimento de grãos (SOUZA et al., 2015). Nesses estádios, e restrições hídricas de uma semana, podem reduzir drasticamente a produtividade da cultura (SOUZA et al., 2011; ZHANG et al., 2014). Pode ainda causar abortamento de grãos nas espigas e, quando ocorre na fase de enchimento de grãos, afetar o

peso dos grãos (ARAUS; SÁNCHEZ; EDMEADES, 2012; EDMEADES et al., 2000; SILVA et al., 2011).

O intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF) é uma das características morfoagronômicas mais importante na seleção de genótipos de milho tolerantes ao déficit hídrico, e amplamente utilizada em programas de fitomelhoramento. Menor intervalo entre o florescimento feminino e masculino indica uma adaptação ao déficit hídrico, evitando a característica de protandria no milho, que é acentuada sob condições de déficit hídrico pelo maior retardamento do florescimento feminino em relação ao masculino (PATERNIANI et al., 2015). Menores valores de intervalo de florescimentos feminino e masculino podem identificar linhagens tolerantes a estresses, seja por déficit ou por excesso de água (BERNINI et al., 2016).

Condições de seca durante o florescimento levam a um aumento do intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF), que é negativamente correlacionado com a produção (DUVICK, 2005), além de provocar atraso na emergência da inflorescência feminina, estilo-estigma, em relação à liberação do grão de pólen, havendo redução do número de grãos fertilizados e, conseqüentemente, da produtividade (DURÃES et al., 1998).

A utilização de caracteres indiretos no melhoramento visando à tolerância a seca pode auxiliar e melhorar a eficiência de seleção (CÂMARA et al., 2007). Caracteres como prolificidade, número de espigas por planta, e o intervalo entre florescimentos feminino e masculino, são considerados importantes na seleção de genótipos de milho tolerantes à seca (PATERNIANI et al., 2015).

A prolificidade tem apresentado associação variada com caracteres relacionados à capacidade de adaptação a condições de estresses, como aumento da população de plantas e tolerância ao déficit hídrico (BOLANOS; EDMEADES, 1993; CÂMARA et al., 2007). A seleção para prolificidade tende a ser mais precisa que os demais caracteres e pode, indiretamente, aumentar a massa de grãos sob condições de déficit hídrico (PATERNIANI et al., 2015). Além disso, correlação genética aditiva entre produção de grão e prolificidade reforça que essa característica secundária deve ser considerada em programas de melhoramento visando a tolerância a seca (ARAGÃO, 2017).

As modificações morfoanatômicas de raízes e de folhas contribuem também para o entendimento dos mecanismos de tolerância a seca, e ainda contribuem no processo de seleção de genótipos tolerantes. O crescimento das raízes muitas vezes continua sob o estresse severo da seca (ZHU et al., 2007), o que é considerado um mecanismo de adaptação da planta às condições limitadas de água (SHARP et al., 2004). O estresse causado pela seca leva a um decréscimo do potencial de água foliar, espessura foliar e do teor de clorofila, e aumento de

lesões foliares (GRZESIAK et al., 2010). Em condições de estresse pela baixa disponibilidade hídrica, encontram-se enraizamentos significativamente mais profundos em termos de comprimento da raiz e densidade do número de raízes, em comparação com as plantas bem irrigadas (ZHU; BROWN; LYNCH, 2010).

Além das modificações morfofisiológicas, outra estratégia utilizada pelas plantas é a eficiência na utilização da água, ou seja, maior produção de biomassa aliada ao menor consumo de água. Maior eficiência, normalmente está associada ao aumento da capacidade fotossintética, devido a redução da condutância estomática (SABADIN, 2016).

2.3 Resposta das plantas ao déficit hídrico

A tolerância aos estresses abióticos é controlada por características complexas e de natureza quantitativa, que são influenciadas por uma série de interações genéticas e ambientais. Envolve vários genes distribuídos em várias regiões do genoma. Sendo assim, a compreensão da expressão dos genes é uma ferramenta importante na seleção de genótipos com características de interesse (ROY; TUCKER; TESTER, 2011; WU et al., 2008).

A expressão gênica pode ser estudada em nível proteico ou de transcritos das células, de acordo com os genes que possuem. Estes genes são ativados e as plantas respondem ao estresse hídrico alterando suas funções fisiológicas e metabólicas para uma maior ou menor tolerância ao estresse (ARAÚJO et al., 2005).

Por meio da análise proteômica é possível examinar simultaneamente alterações e classificar padrões temporais de acúmulo de proteínas que ocorrem durante o desenvolvimento, possibilitando a identificação de proteínas, e tem sido uma ferramenta muito importante em estudos de tolerância a condições de estresses abióticos (DIAS et al., 2010).

Estudos na área de proteômica têm sido desenvolvidos com o objetivo de melhor entender os mecanismos que estão associados aos estresses, tanto bióticos, quanto abióticos, a exemplo de déficit hídrico (RABELLO et al., 2008). A identificação de proteínas vegetais que possuem funções contra estresses, desempenhando papéis na regulação gênica ou como enzima chave na biossíntese de moléculas antiestresses, é importante na compreensão dos mecanismos de tolerância (QURESHI et al., 2007; RIBEIRO, 2010).

Diversas alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas acontecem no metabolismo das plantas quando estas estão em condições de déficit hídrico, dentre essas alterações está o desequilíbrio oxidativo devido a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) ou radicais livres. As formas predominantes de EROS incluem O_2^- , H_2O_2 e OH^- . Essas

espécies reativas de oxigênio EROS degradam moléculas, proteínas e lipídeos, fosfolipídios de membrana e ácidos nucleicos, essenciais para sobrevivência das plantas (ABOGADALLAH, 2012; BARTOLI et al., 2013; COELHO, 2013; MITTLER, 2017).

As EROS são produzidas em excesso quando em situações de estresse. Sendo assim, os mecanismos de defesa contra os radicais livres são importantes. A planta pode reagir com o aumento da expressão de genes associadas às enzimas com funções antioxidantes (DEMIDCHIK, 2015; MUNNÉ-BOSCH; QUEVAL; FOYER, 2013).

Para controlar e regular o teor de EROS resultante da exposição às condições de estresse, as plantas possuem um complexo sistema antioxidante que incluem compostos enzimáticos e não enzimáticos (KIM et al., 2010). Muitas enzimas estão envolvidas nesse processo de proteção aos radicais livres. São encontradas em vários locais das plantas e auxiliam no equilíbrio das EROS. Dentre as enzimas antioxidativas, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), peroxidases (POX) (DINAKAR; DJILIANOV; BARTELS, 2012; MALEKZADEKH, 2015; MUNNÉ-BOSCH; QUEVAL; FOYER, 2013; SIGNORELLI et al., 2016).

Em muitos estudos tem sido demonstrado o papel das enzimas antioxidativas na proteção contra o estresse oxidativo devido ao déficit hídrico em culturas como soja e milho. As enzimas *escavengers*, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX), aumentam sua atividade quando em condições de estresse e o aumento da atividade destas enzimas está relacionado com os níveis de peroxidação de lipídios quando em condições de estresse (DING et al., 2013, VASCONCELOS et al., 2009).

Dentre as várias enzimas antioxidantes, a SOD atua como a primeira linha de defesa contra EROS, transformando o superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio (GILL; TUTEJA, 2010; XU et al., 2013). A SOD consiste num grupo de enzimas capazes de livrar a célula do processo oxidativo, catalisando a formação de peróxido de hidrogênio, a partir de radicais superóxidos. O peróxido de hidrogênio produzido pela SOD pode ser convertido em água e oxigênio pela CAT (NOCTOR; FOYER, 1998).

A catalase é uma enzima antioxidante responsável pela decomposição de peróxido de hidrogênio em moléculas menores, água e oxigênio (CHELIKANI; RAMANA; RADHAKRISHNAN, 2005). É uma das enzimas mais importantes para a cultura do milho tolerar estresses, por manter níveis adequados de H₂O₂ na planta e ser eficaz na defesa de processos oxidativos (GONDIM et al., 2012). Maior atividade dessa enzima em condições de estresse indica maior tolerância a estresses (AKCAY et al., 2010).

Sob estresse hídrico severo, observa-se mais atividade das enzimas SOD e POX . Maior atividade da enzima POX pode ser explicada pela presença de peróxido de hidrogênio em condições de estresse.

As peroxidases são enzimas que doam elétrons para o peróxido de hidrogênio induzindo a formação de água. A ascorbato peroxidase (APX) possui alta afinidade com o H₂O₂, por isso, é uma das principais enzimas que participam da eliminação rápida dessa molécula. A enzima utiliza o ascorbato como substrato para a metabolização do peróxido de hidrogênio, removendo-o mesmo em baixas concentrações (GILL; TUTEJA, 2010; MITTLER,2002).

2.4 Melhoramento genético para tolerância ao déficit hídrico

Um dos importantes problemas da agricultura mundial é o estresse pela baixa disponibilidade hídrica. A habilidade das plantas em tolerar esse tipo de estresse é fundamental para o desenvolvimento da cultura e do agronegócio (SHAO et al., 2008; RUFINO et al., 2012). Nesse sentido, estudos sobre a tolerância ao déficit hídrico na cultura do milho são importantes, visando a obtenção de novos materiais que possam crescer e desenvolver em regiões sujeitas ao déficit hídrico (LI; SPERRY; SHAO, 2009; LOPES et al, 2011).

O melhoramento genético de plantas para a tolerância ao déficit hídrico contribui para seleção de características que permitem tolerar diversos estresses que a cultura é submetida, a exemplos de deficiência de nitrogênio (KAMARA et al.,2005) e altas densidades de plantas (WIDDICOMBE; THELEN, 2002).

A densidade de plantas é um fator determinante na produtividade de diversas culturas, a exemplo do milho que é bastante sensível à variação na densidade, já que não apresenta a plasticidade que outras culturas possuem para compensar a ausência de plantas e que reduz seu desempenho em altas densidades devido à sua morfologia (CORRÊA, 2018).

A população de plantas interfere na capacidade da cultura em utilizar os recursos do ambiente. O aumento da densidade de plantas leva à intensificação de competição pelos recursos do meio e a disponibilidade de água, luz e nutrientes, são fatores influenciados pela população de plantas, limitando a produção individual da planta (CALONEGO et al., 2011; PIANA et al., 2008).

Sob condições em que água, nutrientes e luz, estão prontamente disponíveis, é possível observar associação positiva entre o rendimento e população de plantas. Já em condições de água limitante, é necessário utilizar uma densidade populacional na qual o rendimento pode ser maximizado (HEINIGER, 2010 citado por ANSELMINI, 2016). A escolha da densidade

populacional a ser utilizada no plantio, leva em consideração a cultivar, a disponibilidade hídrica, fertilidade e época de plantio. Mas vale ressaltar, que a disponibilidade hídrica é o que mais limita a produção (MATZENAUER et al., 2002).

Nesse sentido, o melhoramento genético de plantas tem contribuído para a seleção de genótipos que apresentam elevada produtividade e possuem características que permitem tolerar estresses, a exemplo do aumento no número de plantas por área. A tolerância ao aumento da densidade de plantas por área estaria relacionada à tolerância ao estresse hídrico, mas sem provocar reduções na produtividade em condições normais de umidade (MUGO; EDMEADES; KIRUBI, 2003 citado por ABREU, 2013).

A altura de plantas é uma característica que pode ser alterada tanto pela densidade de plantas como pelo déficit hídrico. O crescimento de plantas é afetado pela população de plantas. Um maior número de plantas por hectare proporciona maior crescimento de plantas em altura, o que leva também ao aumento da altura de inserção da espiga. Isso ocorre porque o adensamento estimula a dominância apical favorecendo o crescimento vertical (ALMEIDA et al., 2000, CALONEGO et al., 2011, PENARIOL et al., 2003)

Em condições de adensamento, ocorre aumento da esterilidade, alongamento do intervalo de florescimento, devido ao atraso da emissão do estilo estigma, sendo que o mesmo acontece em plantas submetidas ao déficit hídrico (CALONEGO et al., 2011; SANGOI et al., 2006).

Trabalhos já demonstraram a viabilidade do melhoramento para tolerância ao déficit hídrico em condições normais de umidade, utilizando altas densidades populacionais de plantas (ABREU et al., 2017; BECK et al., 1996; MONNEVEUX; RIBAUT (2006); PEREIRA et al., 2014; SANGOI; SALVADOR, 1996). No entanto, são poucos os trabalhos que avaliam a tolerância ao déficit hídrico utilizando elevadas populações de plantas e, principalmente, a expressão de enzimas nessas condições.

Diante do exposto, o objetivo no presente trabalho foi avaliar as características agrônomicas e a expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, cujas coordenadas são: latitude 21°14'S, longitude 40°17'W e altitude de 918,80m. A temperatura média anual é de 19,4°C, a pluviosidade se distribui, principalmente de outubro a abril, com valores anuais de 1530 mm.

Em uma primeira etapa da pesquisa foi realizada a seleção de linhagens de milho contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico. A seleção das linhagens utilizadas na pesquisa foi realizada de acordo com os resultados obtidos por Abreu et al. (2018), baseada em dados de germinação e crescimento de plântulas sob condições de restrição hídrica. Foram selecionadas quatro linhagens contrastantes em relação à tolerância ao déficit hídrico, sendo duas linhagens tolerantes (T), L91-T e L63-T, e duas linhagens não tolerantes (NT), L57-NT e L24-NT.

Após a seleção das linhagens contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico, foi implantado um experimento durante a safra 2017/2018.

O solo foi preparado convencionalmente e as correções desse foram feitas de acordo com a análise química do mesmo. A semeadura foi realizada em 28/10/17, quando foram utilizadas duas populações de plantas de 60 e 120 mil plantas ha⁻¹. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com quatro repetições, no esquema de parcelas subdivididas no espaço, sendo as diferentes populações de plantas dispostas na parcela. Cada parcela foi composta por 4 linhas com 16 metros, no espaçamento de 0,6 m entre linhas. Nas subparcelas, compostas por 4 linhas com 4 metros de comprimento cada, foram dispostas as linhagens. Foi considerada parcela útil as duas linhas de semeadura centrais de cada parcela. A semeadura foi realizada de forma manual e após 30 dias foi realizado desbaste para o ajuste da população de plantas desejada.

A adubação de cobertura, assim como os demais tratamentos culturais e fitossanitários foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura.

A colheita dos grãos foi realizada em 05/04/2018. As espigas foram colhidas e despalhadas manualmente quando os grãos atingiram teor de água de 20%. A secagem das espigas foi realizada à sombra seguida de debulha em trilhador de espigas.

3.1 Avaliação de caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca

Foram avaliados os seguintes caracteres:

- a) Florescimento masculino e feminino: foi determinado pelo número de dias ocorrido da semeadura até que 50% das plantas de cada parcela apresentassem antese e estilo-estigmas visíveis. O florescimento masculino foi definido quando houve liberação do pólen e o florescimento feminino quando os estilo-estigmas atingiram pelo menos 1 cm de comprimento;
- b) Intervalo entre os florescimentos feminino e masculino em dias (IFMF): o intervalo entre os florescimentos foi determinado pela diferença da semeadura, em dias, dos florescimentos feminino e masculino. Para eliminar os valores negativos, que dificultariam a análise de variância, foi adicionado a todos os valores de IFMF uma constante de valor 100;
- d) Prolificidade: ao final da fase de florescimento foram avaliadas 10 plantas escolhidas aleatoriamente das duas linhas centrais de cada parcela e foi avaliado o número de espigas por planta;
- e) Altura de plantas: ao final da fase de florescimento foram avaliadas 10 plantas escolhidas aleatoriamente, das duas linhas centrais de cada parcela, e com auxílio de régua graduada foi medida a altura do nível do solo até a última folha completamente expandida (cm);
- f) Altura da inserção da primeira espiga: ao final da fase de florescimento foram avaliadas 10 plantas escolhidas aleatoriamente das duas linhas centrais de cada parcela, e com auxílio de régua graduada foi medida a altura do solo até o nó de inserção da primeira espiga (cm);
- g) Altura do pendão: ao final da fase de florescimento foram avaliadas 10 plantas escolhidas aleatoriamente das duas linhas centrais de cada parcela, e com auxílio de régua graduada foi determinada a medida do nível do solo até o início do pendão (cm);
- h) Número de fileiras de grãos na espiga: após a colheita, foram contados os números de fileiras de grãos de 10 espigas de cada parcela e escolhidas de modo aleatório. Foram consideradas aquelas com presença de grãos;
- i) Produtividade de grãos: foi obtida por meio da transformação do peso de grãos obtido na área útil da parcela, expresso em kg ha^{-1} , corrigidos para o teor de água de 13%;
- j) Peso de 100 grãos: foram avaliados os pesos de seis amostras de 100 grãos, da produção final de cada parcela, corrigidos para o grau de umidade de 13%.

3.2 Análises enzimáticas

Para as análises enzimáticas, foram utilizados tecidos de plantas das quatro linhagens, desenvolvidas sob diferentes densidades sendo: raízes adventícias e folhas (coletadas aos 70 dias após semeadura) e ponta da espiga. As pontas das espigas foram coletadas entre 5 a 10 dias após a emissão do estilo-estigma e no dia da colheita. As amostras foram armazenadas em *deep-freezer* até o início das análises.

3.2.1 Análise das enzimas CAT, SOD, APX

Para a análise das enzimas catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase, as raízes, folhas e ponta das espigas foram maceradas na presença de PVP e nitrogênio líquido e, posteriormente, as amostras foram armazenadas em *deep-freezer* na temperatura de -86 °C.

Na extração das enzimas foram utilizados 0,2 g de cada material e adicionados 1,5 ml do tampão de extração (em cada microtubo) contendo 375 µL de fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), 15 µL de EDTA 10 mM, 75 µL de ácido ascórbico 200 mM e 1,035 ml de água. O material foi homogeneizado em vortex, seguido de centrifugação a 14.000 rpm a 4°C por 10 minutos. Em seguida, foi coletado o sobrenadante e transferido para outro microtubo (aproximadamente 1000 µL).

A atividade da catalase foi avaliada por meio do espectrofotômetro de microplacas, utilizando microplacas ultravioletas. Utilizou-se uma alíquota de 10 µL do sobrenadante. Adicionaram-se 190 µL da solução de incubação contendo 100 µL de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 80 µL de água destilada. O mix de incubação foi colocado em B.O.D. a 28° C, e por último adicionados 10 µL peróxido de hidrogênio 250 mM. A leitura foi realizada na absorbância de 240 nm de 15 em 15 segundos durante 3 minutos. O coeficiente de extinção molar utilizado foi de 18 mM⁻¹.cm⁻¹.

A atividade da superóxido dismutase foi avaliada em espectrofotômetro de microplacas, utilizando-SE microplacas visíveis e foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). Utilizou-se uma alíquota de 10 µL do sobrenadante. Adicionou-se 190 µL da solução de incubação contendo 100 µL de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), 40 µL de metionina 70mM, 3µL de EDTA 10µM, 30 µL de água destilada, 15 µL de NBT 1 mM e 2 µL de riboflavina 0,2 mM. A placa de acrílico visível, contendo o meio de incubação e a amostra, foi iluminada com lâmpada fluorescente por 7 minutos antes da leitura. A leitura foi realizada a 560 nm.

A atividade da ascorbato peroxidase foi avaliada por meio do espectrofotômetro de microplacas, utilizando-se microplacas ultravioletas. Utilizou-se uma alíquota de 10 μL do sobrenadante. Adicionaram-se 190 μL da solução de incubação contendo 100 μL fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 10 μL de ácido ascórbico 10 mM, 70 μL de água destilada e 10 μL de peróxido de hidrogênio 2 mM (o mix de incubação foi colocado em B.O.D. a 28° C). A leitura foi realizada na absorvância de 290 nm de 15 em 15 segundos durante 3 minutos. Deve-se observar um decréscimo nos valores de absorvância devido ao consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi 1,4 $\text{mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

A temperatura do ambiente no qual foram feitas a aplicação e a leitura era de 28°C.

Para cada enzima foram instaladas quatro placas, sendo que cada placa foi considerada como sendo um bloco. Em cada placa foram utilizadas triplicatas para cada tratamento.

3.3 Análises estatísticas

As análises dos resultados dos caracteres indiretos foram feitas utilizando-se o modelo de parcelas subdivididas no espaço, e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade.

Já as análises dos resultados de atividade enzimática foram feitas por meio do delineamento em blocos casualizados e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste de *Scott-Knott* ao nível de 5% de probabilidade. Para que os dados da atividade da enzima catalase tivessem distribuição normal, foram transformados pelo método de Box- Cox para a análise estatística (BOX; COX, 1964).

Foi construído um diagrama do tipo ‘bola cheia’ e ‘bola murcha’, como proposto por Nunes, Ramalho e Abreu (2005) para facilitar a visualização das características nas quais os genótipos se destacam. Os gráficos foram construídos com dez eixos, sendo cada eixo representando uma característica. Os genótipos ‘bola cheia’ possuem valores acima da média, para a maioria das características, e os genótipos ‘bola murcha’ possuem valores abaixo da média da população.

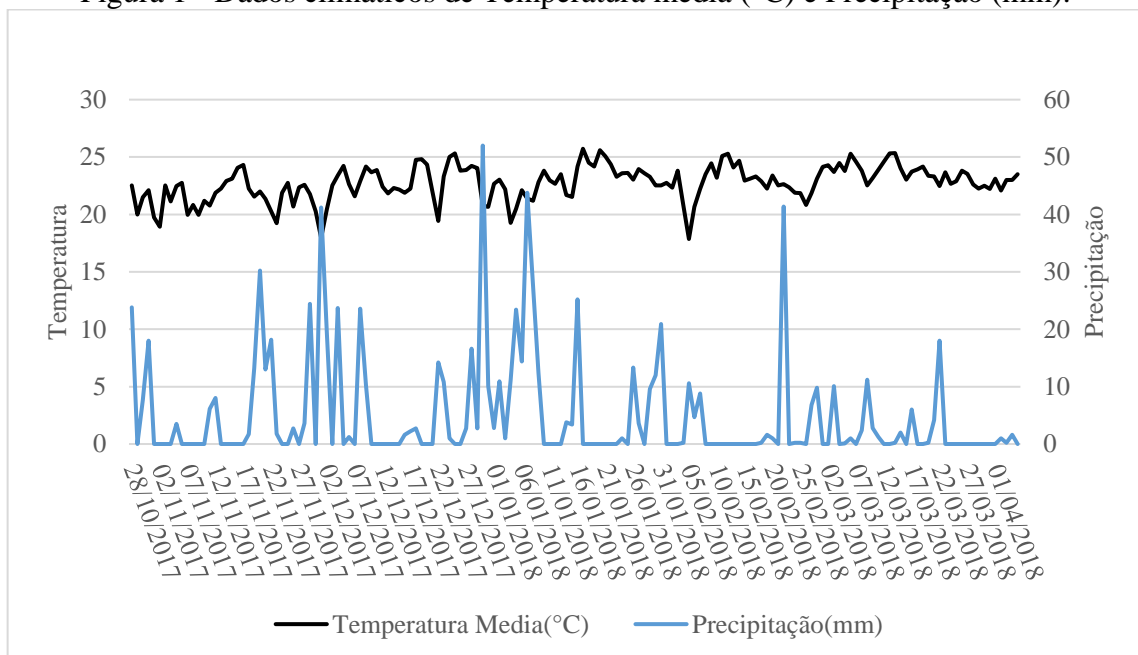
As análises estatísticas foram realizadas no *software R* usando o pacote ExpDes (FERREIRA et al, 2014).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dados climáticos durante a condução do experimento

Os dados de temperatura média e precipitação, durante a condução do experimento em campo, estão apresentados na Figura 1. Por meio da análise dos dados observa-se que a precipitação após a semeadura foi baixa, 15 dias de veranico, o que pode ter prejudicado o desenvolvimento inicial das plantas. Já no período de florescimento, houve chuvas constantes e bem distribuídas, o que influenciou positivamente no desenvolvimento das plantas, uma vez que é uma das fases de mais demanda de água. No entanto, nessa condição, a competição por água entre as plantas é menor. Na fase de enchimento de grãos as plantas foram expostas por mais um período de veranico, o que pode ter influenciado o peso dos grãos. A temperatura se manteve estável ao longo dos meses e dentro da faixa ideal para o desenvolvimento da cultura. A temperatura média ao longo do ciclo da cultura foi de 23°C e a precipitação total foi de 800 mm.

Figura 1 - Dados climáticos de Temperatura média (°C) e Precipitação (mm).



4.2 Características morfoagronômicas relacionadas a tolerância ao déficit hídrico

Pelos resultados da análise de variância (TABELA 1), foram observadas diferenças significativas para as linhagens em todas as características avaliadas.

Nas diferentes densidades populacionais de plantas, observou-se diferenças significativas para o intervalo de florescimento masculino e feminino, altura de plantas, altura do pendão, altura de inserção da primeira espiga, prolificidade e produtividade.

Houve interação significativa entre as linhagens e as densidades populacionais para as características: intervalo de florescimento feminino e masculino, prolificidade, número de fileiras e peso de 100 grãos, ou seja, as linhagens se comportaram de maneira diferente sob diferentes populações de plantas.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância dos dados para os caracteres de Florescimento Feminino em dias (FF), Florescimento Masculino em dias (FM), Intervalo de Florescimento Masculino e Feminino em dias (IFMF), Altura de Plantas em cm (API), Altura do Pendão em cm (APe),

FV	GL	QM									
		FF	FM	IFMF ¹	API	APe	AIE	PROL	NF	PROD	P100
Dens. Pop.	1	50,00	0,28	57,78**	3608,3**	2171,4*	2493,95**	0,69*	1,21	9.922.360**	3,77
Bloco	3	11,20	6,35	3,11	345,9*	381,6	123,79	0,03	0,13	997.934	3,56
Erro 1	3	7,75	5,11	0,78	11,9	63,7	39,32	0,02	0,52	175.756	1,79
Linhagem	3	104,35**	65,28**	41,69**	6279,4**	5965,9**	2318,93**	0,15*	18,01**	24.353.924**	33,29**
Lin* Dens.	3	8,08	4,69	18,53**	129,7	200,3	59,37	0,11*	1,74*	923.073	5,35**
Erro 2	18	4,31	3,01	2,97	86,8	115,8	50,84	0,03	0,43	803.764	0,64
CV 1 (%)		4,00	3,18	0,89	1,91	3,81	6,45	8,96	4,90	10,71	5,35
CV 2 (%)		2,99	2,44	1,75	5,17	5,14	7,34	10,04	4,43	22,91	3,20

Altura de Inserção da Primeira Espiga (AIE), Prolificidade (PROL), Número de Fileiras por Espiga (NF), Produtividade em kg/ha (PROD), Peso de 100 grãos em g (P100).

*, ** Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

¹ dados transformados em (x+100) para análise estatística

Fonte: Da autora (2019).

Ao analisar os dados referentes ao período (dias) para a ocorrência dos florescimentos masculino e feminino, não houveram diferença significativas quando foram utilizadas diferentes populações de plantas. No entanto, houve diferenças significativas para essa característica entre as diferentes linhagens. Para o florescimento feminino, foi observado maior período para emissão do estilo estigma em plantas da linhagem 24, 91, 57 e 63, nessa ordem. Já para o florescimento masculino, maior período para a antese foi verificado em plantas das linhagens 24 e 91. O período de florescimento está relacionado com o ciclo dos materiais utilizados que podem ser superprecoces, precoces e normal. Sob condições de estresse, as plantas tendem a atrasar o florescimento, o que altera o ciclo da cultura. Pode causar ainda alterações no sincronismo (GUIMARÃES; GUIMARÃES; GUIMARÃES, 2018), e consequentemente, problemas na fertilização dos óvulos.

Em relação à altura de plantas, houve diferença significativa entre as linhagens. Maiores médias de altura de plantas foram observadas em plantas da linhagem 24, seguida da linhagem 57, e as menores médias foram observadas em plantas das linhagens 91 e 63 (TABELA 2). Dentre as populações de plantas analisadas, a densidade populacional de 120 mil plantas ha⁻¹ resultou em maiores médias de altura de plantas (TABELA 3). Calonego et al. (2011) e Silva et al. (2014), também observaram que o maior número de plantas por hectare promoveu maior crescimento das plantas em altura. A altura de plantas é influenciada tanto pela densidade de plantas quanto pelo déficit hídrico. Maior população de plantas favorece o crescimento vertical, devido a maior competição por luz (NASCIMENTO et al., 2017, PEREIRA et al., 2017). Almeida et al. (2000) citam que há ocorrência de dominância apical em condições de altas densidades populacionais.

Tabela 2 – Resultados médios para os caracteres de Florescimento Feminino (dias) (FF), Florescimento Masculino (dias) (FM), Altura de Plantas em cm (API), Altura do Pendão em cm (APe), Altura de Inserção da Primeira Espiga em cm (AIE), Produtividade em kg/ha (PROD).

Linhagem	FF	FM	API	APe	AIE	PROD
L91	69,50 b	73,12 a	157,6 c	187,08 b	80,72 c	2910,20c
L63	65,87 c	69,37 b	155,31 c	184,02 b	88,33 c	2284,36c
L57	68,00bc	67,87 b	195,52 b	227,91 a	99,30 b	4226,65b
L24	74,37 a	73,75 a	211,66 a	236,85 a	119,90 a	6232,68a

Médias seguidas pela mesma letra, para cada característica, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

De maneira semelhante aos resultados observados para altura de plantas, maiores alturas de inserção da primeira espiga e altura do pendão foram observadas em plantas da linhagem 24, seguida da linhagem 57, e as menores médias foram observadas em plantas das linhagens 91 e 63. Para a população de 120 mil plantas ha⁻¹ foi verificada maior altura de inserção do pendão e altura de inserção da primeira espiga, como consequência da maior altura de plantas quando comparada à observada em plantas desenvolvidas na população de 60 mil plantas ha⁻¹ (TABELA 3). Ferreira et al. (2015), Kappes et al. (2011) e Takasu et al. (2014a) também verificaram incremento na altura de inserção de espiga à medida que a população de plantas foi aumentada. De acordo com Sangoi et al. (2002), isso demonstra que a menor oxidação e inativação de auxinas, decorrente da proximidade das plantas, o que diminui a intensidade e quantidade de radiação solar, estimulam a alongação celular e, com isso, os entrenós do colmo são mais longos, aumentando a estatura da planta.

Tabela 3- Resultados médios para os caracteres Altura de plantas em cm (API), Altura do pendão em cm (APe), Altura de inserção da primeira espiga em cm (AIE) e Produtividade em kg/ha (PROD).

Densidade Populacional	API	APe	AIE	PROD
60 mil plantas/ha	169,40 b	200,73 b	88,23 b	3356,38 b
120 mil plantas/ha	190,64 a	217,20 a	105,89 a	4470,06 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Em todas as avaliações relacionadas à altura, maiores valores foram observados em plantas das linhagens 24 e 57, não tolerantes ao déficit hídrico. Tal fato, não é desejável, pois, quanto maior é a relação entre altura de inserção de espiga e altura da planta, mais deslocado estará o centro de gravidade da planta e maior é a possibilidade de quebra de colmo (TAKASU, 2014 b). Dessa forma, as linhagens tolerantes ao estresse, 91 e 63, podem ser consideradas superiores nesse quesito.

Em relação à produtividade, observa-se superioridade da linhagem 24, seguida da 57 e por último das linhagens 91 e 63 (TABELA 2). Embora tenha sido observado maior intervalo entre o florescimento masculino e feminino para a linhagem 24, verificou-se para esse mesmo genótipo, maiores valores de produtividade. Isso pode ser explicado pelo fato de coincidir a liberação de grãos de pólen, das plantas das outras linhagens que se encontravam no mesmo ambiente de produção. Maior produtividade das plantas da linhagem 57 pode ser explicada pelo maior peso de 100 grãos.

Para a população de 120 mil plantas ha^{-1} houve média de produtividade superior quando comparada com a observada na população de 60 mil plantas ha^{-1} . Esse resultado está relacionado com o aumento do número de plantas por hectare e, conseqüentemente, o número de espigas por hectare. Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et al. (2018) e Corrêa (2018), que concluíram que o aumento da densidade populacional proporciona incremento da produtividade de grãos devido ao maior número de plantas e ao aumento do número de espiga por hectare.

A cultura do milho é uma das espécies com maior eficiência no uso da radiação solar, pertence ao grupo de plantas com metabolismo do tipo C4, e se destaca pelo alto potencial produtivo. Inúmeras respostas do milho aos fatores do ambiente podem ser explicadas pelo mecanismo fotossintético C4, uma vantagem em relação a outras espécies que não possuem esse metabolismo. Devido ao fato de ser uma cultura de metabolismo C4, maior produtividade é observada na cultura do milho quando a máxima área foliar coincidir com a maior disponibilidade de radiação solar, contanto que não coincida com período de déficit hídrico. (BERGONCI; BERGAMASCHI, 2002; BERGAMASCHI, 2004).

Segundo Cargnelutti Filho et al. (2010), o número de fileiras e o peso de 100 grãos está correlacionado com a produção, produtividade de grãos, dentre outras características. Esses resultados irão depender das características dos genótipos, e ainda, do ambiente no qual foram cultivados (FALCÃO et al., 2017).

Na Tabela 4, estão apresentados os dados do desdobramento da interação linhagem x densidade populacional para o intervalo de florescimento masculino e feminino (IFMF). Não houve diferença significativa para o IFMF em plantas desenvolvidas sob diferentes populações de plantas para as linhagens 91 e 63 (tolerantes). Já para as linhagens 57 e 24, classificadas como intolerantes, maiores intervalos de florescimento foram observados quando se utilizou a maior população de plantas, o que evidencia falta de sincronismo entre os florescimentos. O maior IFMF pode inviabilizar a polinização, reduzindo os rendimentos da cultura. Abreu (2013), trabalhando com quatro populações de plantas observou maiores índices de IFMF em plantas desenvolvidas sob maiores populações de plantas (80 e 100 mil ha^{-1}).

Tabela 4 - Médias do Intervalo de Florescimento Masculino e Feminino (IFMF) das linhagens nas densidades de 60.000 e 120.000 plantas/ha

Densidade Populacional	L91	L63	L57	L24
60.000 pl/ha	96,75 Aa	96,00 Aa	97,50 Ba	98,00 Ba
120.000 pl/ha	96,00 Ab	97,00 Ab	102,75 Aa	103,25 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

A falta de sincronismo entre o florescimento masculino e o feminino pode estar associada à alta densidade de plantio, pois reduz a taxa de crescimento das gemas laterais, em comparação com o ponto de crescimento da planta. A utilização de altas densidades de plantio estimula uma dominância apical do pendão sobre as espigas. Isso aumenta o tempo entre a emissão do pendão e do estilo estigma da espiga (SANGOI et al., 2001; SCHMITT, 2014).

Sob condições de deficiência hídrica, há o retardamento da emissão do estilo estigma, o que causa o desincronismo entre o florescimento masculino e feminino. Assim, quanto maior a intolerância à seca, maior será o tempo entre a antese e a emissão dos estilo-estigmas. Nessa pesquisa foram observados maiores intervalos de florescimentos masculino e feminino em plantas de linhagens classificadas como intolerantes (L54 e L24) e menores intervalos em linhagens classificadas como tolerantes (L91 e L63), quando cultivadas em uma população de 120 mil plantas ha⁻¹. Ressalta-se que, quanto maior o intervalo entre o florescimento masculino e feminino, maior a probabilidade de os grãos de pólen serem liberados das anteras e sem a emissão dos estilo-estigmas, protandria, o que prejudica a fertilização dos óvulos e, conseqüentemente, a formação de sementes e grãos, com impactos sobre a produtividade.

Em relação a prolificidade, maiores valores foram observados em plantas das linhagens 91 e 63, e os menores valores foram observados na linhagem 24, quando utilizada a população de 60 mil plantas ha⁻¹. Na população de 120 mil plantas ha⁻¹ não houve diferença significativa entre as linhagens para essa característica. Nas plantas das linhagens 91 e 63 foi observada redução do número de espigas por plantas quando se aumentou a população de plantas. Já para as linhagens 57 e 24, o número de espigas por planta não diferiu em diferentes populações de plantas (TABELA 5). Pereira et al. (2017) e Calonego et al. (2011), observaram que o aumento da densidade de plantas reduziu significativamente o número de espigas por planta, o que pode ser explicado pela dominância apical do pendão sobre a espiga (SCHMITT, 2014).

Tabela 5- Médias de Prolificidade (PROL) das linhagens nas densidades de 60.000 e 120.000 plantas/ha.

Densidade Populacional	L91	L63	L57	L24
60.000 pl/ha	2,17 Aa	2,12 Aa	1,85 Aab	1,65 Ab
120.000 pl/ha	1,57 Ba	1,77 Ba	1,65 Aa	1,62 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Com relação ao número de fileiras de grãos por espiga (TABELA 6), houve interação significativa entre linhagens e densidades populacionais. Menor número de fileiras de grãos por espiga foi observado para a linhagem 57, nas duas populações de plantas utilizadas. Sob a densidade de 120 mil plantas ha⁻¹ maior número de fileiras de grãos foi observado nas espigas da linhagem 24. Apenas para a linhagem 63 houve diferenças para essa característica nas duas populações de plantas, com redução do número de fileiras de grãos por espiga quando se aumentou a população de plantas. Essa redução pode ser explicada pela intensificação na competição por água, luz e nutrientes, que influenciou no desempenho do genótipo. Kopper et al. (2018) e Kappes et al. (2011) observaram redução do número de fileiras de grãos por espiga quando a população de plantas foi aumentada.

Tabela 6 - Médias do Número de fileiras de grãos por espiga (NF) das linhagens nas densidades de 60.000 e 120.000 plantas/ha.

Densidade Populacional	L91	L63	L57	L24
60.000 pl/há	15,88 Aa	15,32 Aa	12,70 Ab	16,10 Aa
120.000 pl/ha	14,90 Ab	13,95 Bbc	12,95 Ac	16,65 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Para o peso de 100 grãos (TABELA 7), a maior média foi observada para a linhagem 57, tanto na população de 60 mil plantas ha⁻¹ quanto na de 120 mil plantas ha⁻¹, o que explica seu bom desempenho quanto a produtividade. Para as linhagens 63 e 57, foi observado aumento do peso de 100 grãos quando a população de plantas foi aumentada. Entretanto, resultados diferentes foram obtidos por Ferreira et al. (2015) e Takasu et al. (2014a), que verificaram redução do peso de 100 grãos com o aumento da população. Já Pereira et al. (2008) observaram

que a maior população de plantas não alterou o peso de 100 grãos, devido à arquitetura das plantas que minimizaram a competição entre as plantas.

Tabela 7 - Médias do Peso de 100 grãos (P100) das linhagens nas densidades de 60.000 e 120.000 plantas/ha

Densidade Populacional	L91	L63	L57	L24
60.000 pl/há	24,81 Ab	22,31 Bc	26,62 Ba	24,87 Ab
120.000 pl/há	24,50 Ab	23,87 Ab	29,14 Aa	23,85 Ab

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Pelos dados das tabelas, fica difícil visualizar em qual das características os genótipos se destacam. Sendo assim, para facilitar a visualização, a partir das médias de cada característica, foi construído o diagrama do tipo ‘bola cheia’/‘bola murcha’, sugerido por Nunes, Ramalho e Abreu (2005), para as linhagens, disponível na Figura 2, e em cada ambiente (APÊNDICES A e B).

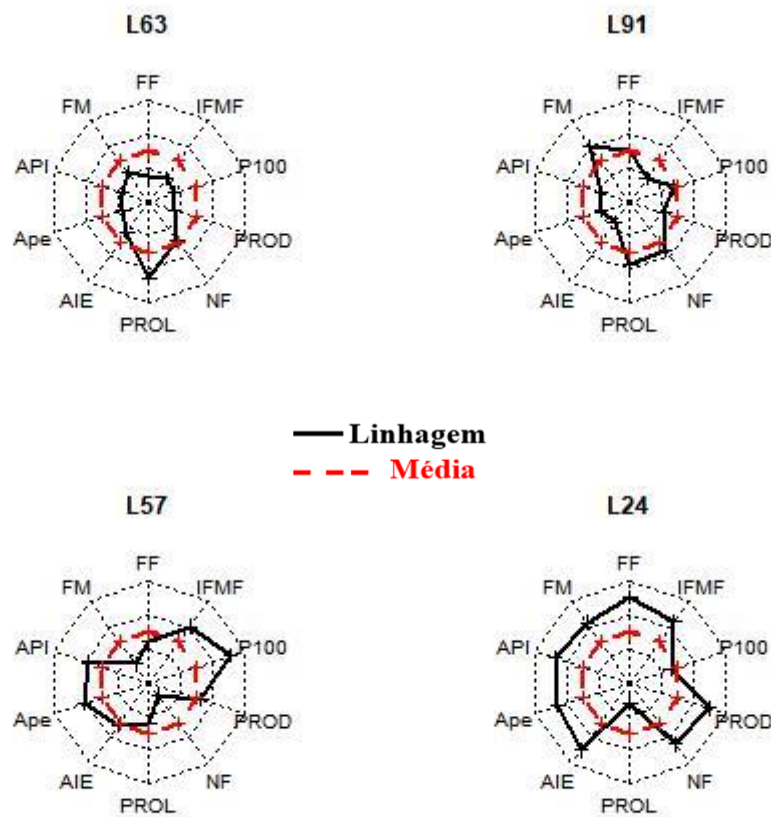
Para as características de florescimentos (FF e FM), intervalo de florescimento masculino (IFMF) e prolificidade (PROL), foi possível observar superioridade das linhagens tolerantes, 91 e 63. Em plantas dessas linhagens tolerantes foi observado menor intervalo entre os florescimentos masculino e feminino quando se utilizou uma maior população de plantas. Além disso, em plantas dessas linhagens verificou-se maior número de espigas.

Já em relação a todas as características de alturas avaliadas e produtividade, foi possível observar desempenho acima da média da linhagem 24, seguida da linhagem 57. Maior produtividade da linhagem 24, pode ser explicada pelo fato de coincidir a liberação de grãos de pólen, das plantas das outras linhagens que se encontravam no mesmo ambiente de produção. E maior produtividade da linhagem 57 pode ser explicada pelo destaque no peso de 100 grãos.

Em algumas características não foi observado efeito significativo para o fator população de plantas. É importante salientar, que essa pesquisa se deu em apenas um ambiente. Assim, se faz necessário realizar avaliações em mais de um ambiente ou em diferentes safras. Além disso, a ocorrência de bons regimes de chuva pode ter colaborado para diminuir a competição das plantas mesmo sob plantios mais adensados. Além de avaliar essas características em mais de um ambiente, é importante realizar avaliações em outras épocas de semeadura como na safrinha. É importante ressaltar, que as produtividades do milho safrinha são bastante variadas, devido a adaptabilidade do material ao ambiente e do manejo, o que pode acarretar mudanças

morfoagronômicas nas características de altura de planta, altura de inserção de espiga, diâmetro de colmo, massa de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (NASCIMENTO et al., 2015; ALVES et al., 2013).

Figura 2 - Representação gráfica dos valores para as linhagens na média conjunta das duas populações de plantas para as características Florescimento Feminino em dias (FF), Florescimento Masculino em dias (FM), Intervalo de Florescimento Masculino e Feminino em dias (IFMF), Altura de Plantas em cm (API), Altura do Pendão em cm (APe), Altura de Inserção da Primeira Espiga (AIE), Prolificidade (PROL), Número de Fileiras por Espiga (NF), Produtividade em kg/ha (PROD), Peso de 100 grãos em g (P100).



Fonte: Da autora (2019).

4.3 Atividade enzimática em diferentes tecidos das plantas de milho produzida sob diferentes populações de plantas

Pelo resultado da análise de variância (TABELA 8), foram observadas diferenças significativas das atividades das enzimas avaliadas quando as plantas foram desenvolvidas sob diferentes populações.

Entre as linhagens houve diferenças significativas para a atividade da enzima catalase. Houve diferença significativa da atividade das enzimas analisadas em relação aos diferentes tecidos.

Houve interação significativa entre densidade populacional x genótipo, genótipo x tecido e densidade populacional x tecido x genótipo apenas para a enzima catalase. Já a interação densidade populacional x tecido foi significativa para todas as enzimas analisadas.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância dos dados para a atividade das enzimas ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) em $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$ e superóxido dismutase (SOD) em $\text{U SOD.g}^{-1} \text{ MF}$.

Fontes de Variação	GL	QM		
		APX	SOD	CAT ¹
Bloco	3	7.903,99**	62.307,90**	3,20**
Dens. Pop.	1	10.049,18**	843.213,44**	1151,77**
Genótipo	3	603,34 ^{NS}	13.643,02 ^{NS}	9,78**
Tecido	3	101.154,14**	246.554,79**	50,22**
Dens x Gen	3	742,99 ^{NS}	11.819,96 ^{NS}	4,84**
Dens x Tecido	3	13.252,44**	43.721,02*	74,17**
Gen x Tecido	9	889,96 ^{NS}	11.916,22 ^{NS}	6,08**
Dens x Tec x Gen	9	317,17 ^{NS}	5.364,77 ^{NS}	7,81**
Erro	93	703,02	14.023,45	0,58
CV (%)		3,33	0,84	17,33

*, ** Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

¹ dados transformados pelo método de Box Cox para análise estatística

Fonte: Da autora (2019).

Em relação aos dados da atividade da enzima ascorbato peroxidase, na Tabela 9 estão apresentados os resultados do desdobramento da interação densidade populacional x tecido. Maior atividade da enzima APX foi observada nas folhas e ponta da espiga quando se aumentou a população de plantas. Maior atividade foi observada em raízes de plantas cultivadas com menor população. Portanto, na densidade de 60 mil plantas ha^{-1} , maior atividade dessa enzima foi observada na raiz, seguido na ponta da espiga e menor atividade em folhas. Já na densidade de 120 mil plantas ha^{-1} maior atividade da enzima foi observada na ponta da espiga. Em tecidos

da ponta da espiga coletados no momento da colheita não houve atividade da enzima APX. Hendges et al. (2015) não encontraram a atividade da enzima ascorbato peroxidase em folhas de plantas de milho em restrição hídrica.

Santos (2016) observou maior expressão da enzima peroxidase em plúmulas de plântulas de milho, tanto na condição estresse quanto no controle. Maior expressão em plúmulas pode ser explicada pela maior respiração, o que leva à maior produção de radicais livres e, conseqüentemente, maior ativação dos sistemas antioxidantes, como as enzimas peroxidases (SILVA NETA, 2014). Esse fato pode explicar o aumento da expressão da enzima APX nas folhas quando se aumentou a população de plantas, o que pode ter aumentado o metabolismo das plantas devido a condição de estresse e, conseqüentemente, a maior ativação do sistema antioxidante. Já Santos (2016) observou maior expressão da enzima peroxidase em raízes quando essas estavam em condições de estresse.

Tabela 9 – Valores de atividade da enzima ascorbato peroxidase, em $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$, em diferentes densidades populacionais.

Densidade Populacional	Folha	Raiz	Ponta Espiga
60 mil plantas/ha	57,60 Bc	142,97 Aa	82,07 Bb
120 mil plantas/ha	105,86 Ab	111,61 Bb	136,04 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

A superóxido dismutase (SOD), é considerada a primeira enzima no processo de defesa antioxidante. A enzima atua catalisando a conversão dos superóxidos (O_2^-), à peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é um composto menos reativo (CARNEIRO et al., 2011). Para a atividade dessa enzima (TABELA 10), houve interação significativa entre densidade populacional x tecido. Em todos os tecidos analisados maior atividade da enzima SOD foi observada quando as plantas se desenvolveram sob a menor população de plantas (60 mil plantas ha^{-1}). Tanto na densidade de 60 mil plantas ha^{-1} quanto na de 120 mil plantas ha^{-1} maior atividade da enzima SOD foi observada em folhas.

A expressão de proteínas também pode variar de acordo com a idade da planta, podendo ser mais ativa em tecidos verdes, e apresentar decréscimo na fase reprodutiva (RAO, 2005 citado por FAVARETO, 2017). Na presente pesquisa maior atividade da SOD foi observada nas folhas quando comparada com a ponta de espiga.

Tabela 10- Valores de atividade da enzima superóxido dismutase, em U SOD.g⁻¹ MF, em diferentes densidades populacionais.

Densidade Populacional	Folha	Raiz	Ponta Espiga	Ponta da Espiga Colheita
60 mil plantas/ha	528,75 Aa	255,37 Ab	285,37 Ab	323,93 Ab
120 mil plantas/ha	261,75 Ba	137,00 Bb	182,25 Bb	163,12 Bb

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Em relação a atividade da enzima catalase (CAT), houve interação tripla significativa densidade populacional x tecido x linhagem. Como observado para a atividade da enzima SOD, maior atividade da enzima CAT foi observada quando se utilizou a menor população de plantas de 60 mil plantas ha⁻¹ em todas as linhagens e os tecidos avaliados, exceto para a linhagem 57, na qual não houve diferença significativa da atividade dessa enzima da ponta de espiga nas duas populações de plantas (TABELA 11).

A maior atividade da enzima SOD, independente do tecido, na população de 60 mil plantas ha⁻¹, e também da enzima CAT, pode ser explicada devido à associação das duas enzimas em que o H₂O₂ formado na reação envolvendo a SOD é o substrato utilizado pela enzima catalase, que converte esse produto, em água e oxigênio (LEE; KIM; LEE, 2001).

Para as linhagens 63 e 91, classificadas como tolerantes, maior atividade da enzima catalase foi observada nas folhas de plantas desenvolvidas sob a população de 60 mil plantas ha⁻¹. Quando se utilizou a densidade de 120 mil plantas ha⁻¹ maior atividade da enzima catalase foi observada na ponta da espiga coletada no momento da colheita. Já para as linhagens 57 e 24, classificadas como não tolerantes, maior atividade da enzima catalase foi observada na ponta da espiga. Quando foram utilizadas as populações de 60 mil plantas ha⁻¹ e de 120 mil plantas ha⁻¹ maior atividade da enzima catalase foi observada nas folhas e pontas da espiga, coletada no momento da colheita (TABELA 11).

Nas diferentes populações, foi possível observar um padrão de atividade da enzima catalase nos diferentes tecidos das linhagens do mesmo grupo de tolerância ao déficit hídrico.

Maior atividade da enzima CAT em folhas foi observada nas linhagens 63 e 91 quando cultivadas na população de 60 mil plantas ha⁻¹. Em raízes, menor atividade foi observada em plantas da linhagem 91. Tanto na ponta da espiga coletada no período do florescimento, quanto na ponta da espiga coletada no momento da colheita, maiores atividades da enzima foram observadas nas linhagens 63 e 24. Na população de 120 mil plantas ha⁻¹ não houve diferença significativa entre a atividade das enzimas nas diferentes linhagens e tecidos (TABELA 12).

Tabela 11 - Valores de atividade da enzima catalase (CAT), em $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$, em diferentes densidades populacionais.

	L 63		L 91		L 57		L 24	
	60 mil pl/ha	120 mil pl/ha	60 mil pl/ha	120 mil pl/ha	60 mil pl/ha	120 mil pl/ha	60 mil pl/ha	120 mil pl/ha
Folha	15,91 Aa	5,67 Bb	15,21 Aa	5,74 Bb	8,83 Ac	5,71 Ba	11,87 Ab	6,25 Ba
Raiz	9,96 Ac	3,72 Bd	8,55 Ac	3,10 Bd	10,82 Ab	3,16 Bb	10,54 Ac	3,49 Bc
Ponta Espiga	13,43 Ab	4,99 Bc	12,58 Ab	4,61 Bc	12,97 Aa	4,22 Bb	14,18 Aa	4,79 Bb
Ponta Espiga Colheita	8,86 Ad	6,83 Ba	8,04 Ac	6,91 Ba	6,86 Ad	6,70 Aa	9,89 Ac	6,72 Ba

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna para cada densidade de semeadura, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Tabela 12- Valores de atividade da enzima catalase (CAT), em $\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$, em diferentes densidades populacionais.

	60 mil plantas/há				120 mil plantas/ha			
	L 63	L91	L57	L24	L 63	L91	L57	L24
Folha	15,91 Aa	15,21 Aa	8,83 Cc	11,87 Bb	5,67 Ab	5,74 Ab	5,71 Aa	6,25 Aa
Raiz	9,96 Ac	8,55 Bc	10,82Ab	10,54 Ac	3,72 Ad	3,10 Ad	3,16 Ab	3,49 Ac
Ponta Espiga	13,43 Ab	12,58 Bb	12,97 Ba	14,18 Aa	4,99 Ac	4,61 Ac	4,22 Ab	4,70Ab
Ponta Espiga Colheita	8,86 Ad	8,04 Bc	6,86 Cd	9,89 Ac	6,83 Aa	6,91 Aa	6,70 Aa	6,72 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna para cada densidade de semeadura, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Não foi possível associar a atividade enzimática com os resultados das características morfoagronômicas avaliadas, provavelmente em função de não ter ocorrido a deficiência hídrica.

Devido à complexidade da característica de tolerância ao déficit hídrico e às diversas alterações que ocorrem devido a interação genótipo x ambiente, é necessário ampliar o número de pesquisas nessa área, utilizando maior número de genótipos, ambientes e densidades populacionais.

Os resultados obtidos nessa pesquisa reforçam a complexidade dessa característica de tolerância ao déficit hídrico. Infere-se que as condições climáticas não foram favoráveis para impor o estresse suficiente para diferenciar os materiais em relação à tolerância ao déficit hídrico. A população de 120 mil plantas para simular a deficiência hídrica utilizada nessa pesquisa pode não ter sido a ideal para alcançar o objetivo proposto, principalmente porque não houve falta de chuvas nos períodos mais críticos durante o desenvolvimento da cultura. Por outro lado, Abreu et al. (2018), selecionaram as linhagens tolerantes e intolerantes baseando-se em dados de germinação e crescimento de plântula sob restrição hídrica. Assim, a seleção precoce de materiais para a tolerância à seca pode não correlacionar com características agronômicas.

5 CONCLUSÕES

Há aumento da altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga e altura do pendão, quando a densidade populacional de plantas de milho é aumentada.

Em maiores densidades populacionais, utilizadas para simular a deficiência hídrica, há aumento entre o intervalo de florescimento masculino e feminino, em linhagens não tolerantes à seca.

A atividade das enzimas ascorbato peroxidase e superóxido dismutase varia com o tecido e densidade populacional, já a atividade da enzima catalase varia com o tecido, densidade populacional e genótipo.

REFERÊNCIAS

- ABOGADALLAH, M. G. Antioxidative Defense under Salt Stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 4, p. 369-374, 2012.
- ABREU, V. M. et al. Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence. **Crop Science**, v. 59, p. 1-11 2018.
- ABREU, V. M. et al. Indirect selection for drought tolerance in maize through agronomic and seeds traits. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 2, p. 287-296, 2017.
- ABREU, V. M. **Seleção indireta para tolerância a seca em milho por meio de características agronômicas e de sementes**. 2013. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013
- AGRIANUAL. **Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira**. 2016. São Paulo: FNP – Consultoria & Agroinformativos, 2016. p. 409-444.
- AKCAY, U. C. et al. (*Arachis hygaeae* L.) seedling. **Plant Growth Regulation**, v. 61, p. 21-28, 2010.
- ALMEIDA, M. L. et al. Incremento na densidade de plantas: uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de milho em regiões de curta estação estival de crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, p. 23-29, 2000.
- ALVES, V.B.; CECCON, G.; LEITE, L.F. Morfologia e produtividade de híbridos de milho Safrinha solteiro e consorciado com braquiária. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n. 2, p. 152-163, 2013.
- ANSELMINI, A. **População variada de híbridos de milho: uma estratégia de gestão das variabilidades espacial e temporal das lavouras**. 2016. 98 p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, sp, 2016.
- ARAGÃO, T. R.P. **Epistasia em testecrosses de milho em ambientes contrastantes para estresse hídrico**. 2017. 180 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2017.
- ARAÚJO, E.L. et al. **Estresses Ambientais: danos e/ou benefícios para as plantas**. Recife: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal. 3. ed. 2005. v. 1.
- ARAUS, J. L.; SÁNCHEZ, C.; EDMEADES, G. O. Phenotyping maize for adaptation to drought. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 305, 2012.
- BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Escola de Ciências e Tecnologia. In: Departamento de Fitotecnia, Évora, 52 p, 2014.
- BARTOLI, C. G. et al. Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 73-88, 2013.

BASTOS, E. A. et al. Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 100-107, 2011.

BECK, D. et al. Progresso no desenvolvimento de tolerância à seca e nitrogênio baixo do solo na cultura do milho. In: CONFERÊNCIA ANUAL DE MILHO e SORGO PESQUISA, 51., 1996. Chicago. **Anais ...** Washington: Semente Americana da Associação Comercial, 1996. p. 85-111.

BERGAMASCHI, H. et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2004.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H. Ecofisiologia do milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. Anais. Florianópolis: Embrapa Milho e Sorgo; Epagri, 2002.

BERNINI, C. S. et al. Caracteres fisiológicos e agronômicos em progênes interpopulacionais de milho selecionadas sob condições de déficit hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 1, p. 39-52, 2016.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G. O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize: responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 233-252, 1993.

BOX, G.E.P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, p. 211-252, 1964.

BRASIL, E. C. et al. Matéria seca e acúmulo de nutrientes em genótipos de milho contrastantes quanto a aquisição de fósforo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 704-712, 2007.

CALONEGO, J. C et al. Produtividade e crescimento de milho em diferentes arranjos de plantas. **Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 12, p. 84-90, 2011.

CÂMARA, T. M. M. et. al. Parâmetros genéticos de caracteres relacionados a tolerância a deficiência hídrica em milho tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 595-603, 2007.

CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, M.; BURIN, C.; SILVEIRA, T. R.; CASAROTTO, G. Tamanho de amostra para estimação do coeficiente de correlação linear de Pearson entre caracteres de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p. 1363-1371, 2010.

CARNEIRO, M. M. L. C. et al. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 752-761, 2011.

CHELIKANI, P.; RAMANA, T.; RADHAKRISHNAN, T. M. Catalase: a repertoire of unusual features. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 20, n. 2, p. 131-135, 2005.

COELHO, H. A. **Diferentes condições de estresse hídrico no desenvolvimento de milhos transgênico e convencional**. 2013. 93 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Irrigação e Drenagem). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP, 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, 2015/16 –Décimo segundo levantamento v. 3 - SAFRA 2018/19- n. 12, setembro de 2016**. Disponível em: < file:///C:/Users/dani_/Downloads/Boletim_Graos_setembro_2016.pdf >. Acesso em: 7 jan. 2019.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, 2018/19 – Quarto levantamento v. 6 - SAFRA 2018/19- n. 3, dezembro de 2018**. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos> > Acesso em: 7 jan. 2019

CORRÊA, R. G. **Direções de semeadura, densidade de plantas e variações na dosagem de sementes na produtividade do milho**. 2018. 56 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2018.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DIAS, L.L.C.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T.S.; FLOH, E.I.S. Two-dimensional gel electrophoretic protein profile analysis during seed development of *Ocotea catharinensis*: a recalcitrant seed species. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campo dos Goytacazes, v. 22, n. 1, p. 23-33, 2010.

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

DING, Y. et al. ZmCPK11 is involved in abscisic acid-induced antioxidant defence and functions upstream of ZmMPK5 in abscisic acid signalling in maize. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 871-884, 2013.

DURÃES, F. O. M. et al. Intervalo entre florescimento masculino e feminino como parâmetros fenotípico útil ao melhoramento de milho tropical para tolerância a seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife. Globalização e segurança alimentar. **Anais....** Recife: ABMS, 1998.

DUVICK, D. N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). **Advances in Agronomy**, New York, v. 86, p. 83-145, 2005.

EDMEADES, G. O. et al. The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize. **Physiology and modeling kernel set in maize**, Madison, p. 43-73, 2000.

FALCÃO, R. F. et al. Avaliação de populações de polinização livre, variedades comerciais e crioulas de milho em dois municípios de alagoas. Cultura Agrônômica. **Revista de Ciências Agrônômicas**, v. 26, n. 4, p. 611-624, 2017.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 1. ed. Guaíba: Agropecuária, 2000. v. 1. 360 p.

FAVARETO, A. L. **Expressão de proteínas em híbridos de milho geneticamente modificado sob ação de estresse hídrico e infestação de Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2017. 65p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, sp, 2017.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes: an R package for ANOVA and experimental designs. **Applied Mathematics**, v. 5, n. 19, p. 2952, 2014.

FERREIRA, J. P. et al. Características agronômicas do milho sob arranjos espaciais e densidades de plantas em região de cerrado. *Cultura Agrônômica*. **Revista de Ciências Agrônômicas**, v. 24, n. 1, p. 27-44, 2015.

FORSTHOFER, E.L. et al. Desempenho agronômico e econômico do milho em diferentes níveis de manejo e épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 399-407, mar. 2006.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GONDIM, F.A. et al. Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 62-71, 2012.

GRZESIAK, M. T. et al. Leaf optical properties during and after drought stress in triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, n.3, p. 433-442, 2010.

GUIMARÃES, F. F. M.; GUIMARÃES, C. T.; GUIMARÃES, L. J. M. Caracterização agrônômica de linhagens tropicais de milho cultivadas sob baixa disponibilidade de fósforo no solo. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, [S.l.], v. 6, n. Especial, mar. 2018.

Disponível em:

<<http://jornal.faculdadecienciasdavidia.com.br/index.php/RBCV/article/view/748>>. Acesso em: 07 jan. 2019.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **BDMEP-Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**. Disponível em:

<<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 15 jan. 2019

HENDGES, F. B. et al. Avaliação enzimática e fisiológica de plântulas de milho submetidas à seca. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, p. 52-63, 2015.

KAMARA, A. Y. et al. Performance of diverse maize genotypes under nitrogen deficiency in the northern Guinea savana of Nigeria. **Experimental Agriculture**, New York, v. 41, n. 2, p. 199-212, 2005.

KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A. C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P. Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 334-343, 2011.

KIM, M. D. et al. Enhanced tolerance to methyl viologen-induced oxidative stress and high temperature in transgenic potato plants overexpressing the CuZnSOD, APX and NDPK2 genes. **Physiologia plantarum**, v. 140, n. 2, p. 153-162, 2010.

KOPPER, C. V. et al. Produtividade de milho segunda safra em função de diferentes velocidades de semeadura e densidade de plantas. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Brasil, v. 22, jun. 2018.

LEE, D. H.; KIM, Y. S.; LEE, C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, Jena, Netherlands, v. 158, n. 6, p. 737-745, 2001

LI, Y.; SPERRY, J. S.; SHAO, M. Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 341- 346, 2009.

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

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. 1 ed. Sete Lagoas, MG, 2002. (Circular Técnica 22).

MALEKZADEKH, P. Influence of exogenous application of glycinebetaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max*). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 21, n. 2, p. 225-232, 2015.

MATZENAUER, R. et al. **Consumo de água e disponibilidade hídrica para milho e soja, no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Fepagro, 2002. 104 p. (Boletim Fepagro, 10).

MINUZZI, R. B.; LOPES, F. Z. Desempenho agrônômico do milho em diferentes cenários climáticos no Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 19, n. 8, 2015.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n.1, p.11-19, 2017.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MONNEVEUX, P.; RIBAUT, J. M. Secondary traits for drought tolerance improvement in cereals. In: **Drought Tolerance in Cereals (Ed. J. M. Ribaut)**. Binghamtown, NY, USA: The Haworth Press Inc, 2006. p. 97-143.

MUNNÉ-BOSCH, S.; QUEVAL, G.; FOYER, C. H. The Impact of Global Change Factors on Redox Signaling Underpinning Stress Tolerance. **Plant Physiology**, v. 161, n. 1, p. 5-19, 2013.

NASCIMENTO, F.N. et al. Desempenho da produtividade de espigas de milho verde sob diferentes regimes hídricos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.16, n.1, p. 94-108, 2017.

NASCIMENTO, F.M. et al. Produtividade de genótipos de milho em resposta à época de semeadura. **Ceres**, v.58, n.2, p.193-201, 2015.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual review of plant biology**, v. 49, n. 1, p. 249-279, 1998.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 75-87, 2001.

NUNES, J. A. R.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Graphical method in studies of adaptability and stability of cultivars. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 48, p. 182, 2005.

PATERNIANI, M. E. et al. Caracteres secundários relacionados à tolerância à seca em progênies de irmãos germanos interpopulacionais de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 1, p. 130-144, 2015.

PENARIOL, F. G. et al. Comportamento de cultivares de milho semeadas em diferentes espaçamentos entre linhas e densidades populacionais, na safrinha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 52-60, 2003.

PEREIRA, F. et al. Desempenho agrônomico da cultura do milho sob diferentes arranjos espaciais no nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada-RBAI**, v. 12, n. 5, 2018.

PEREIRA, L. B. et al. Características agrônomicas da planta e produtividade da silagem e grãos de milho submetido a diferentes arranjos populacionais **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v. 29, n.1 p.18-27, jan./mar. 2017.

PEREIRA, L. P. L. **Aspectos morfofisiológicos e agrônomicos de plantas de milho em diferentes populações de plantas e direcionamentos de plantio**. 2014, 74 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014.

PEREIRA, F. R. S. et al. Arranjo espacial de plantas de milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 1, p.69-74, 2008.

PERIN, A. et al. Produtividade de híbridos de milho na safrinha em Goiás. **Agrarian**, v. 2, n. 3, p. 19-28, jan./mar. 2009.

PIANA, A. T. et al. Densidade de plantas de milho híbrido em semeadura precoce no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, 2008.

PORTO, A. P. F. et al. Variedades de milho a diferentes espaçamentos no Planalto de Vitória da Conquista – BA. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 2, p. 208-214, 2011.

QUEIROZ, A. M. et al. Avaliação de diferentes fontes e doses de nitrogênio na adubação da cultura do milho (*zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 257-266, 2011.

QURESHI, M. I.; QADIR, S.; ZOLLA, L. Proteomics-based dissection of stress-responsive pathways in plants. **Journal of plant physiology**, v. 164, n. 10, p. 1239-1260, 2007.

RABELLO, A. R. et al. Identification of drought-responsive genes in roots of upland rice (*Oryza sativa* L). **BMC genomics**, v. 9, n. 1, p. 485, 2008.

RIBEIRO, I. L. A. C. **Proteômica de cana-de-açúcar em condição de estresse hídrico**. 2010. 138 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, PE, 2010.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Informações agronômicas**, v. 103, p. 1-19, 2003.

ROY, S. J.; TUCKER, E. T.; TESTER, M. Genetic analysis of abiotic stress tolerance in crops. **Current Opinion in Plant Biology**, Glen Osmond, v. 14, n. 3, p. 232-239, 2011.

RUFINO, C. A. et al. Desempenho de genótipos de milho submetidos ao déficit hídrico no estágio vegetativo. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 3, p. 217-225, 2012.

SABADIN, P. K. **Melhoramento Genético em Milho para Deficiência Hídrica**. 2016. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/111/melhoramento-genetico-em-milho-para-deficiencia-hidrica>>. Acesso em: 7 jan. 2019

SANGOI, L. et al. Resposta de híbridos de milho cultivados em diferentes épocas à população de plantas e ao despendoamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1367-1373, 2006.

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

SANGOI, L. Understanding plant density effects on maize growth and development: an important issue to maximize grain yield. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n.1, p.159-168, 2001.

SANGOI, L.; SALVADOR, R. J. Performance agronômica de genótipos de milho malesterile e fértil em duas populações de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 377-388, 1996.

SANTOS, M. C. **Expressão de genes relacionados à tolerância ao estresse hídrico em sementes e em tecidos de plântulas de milho**. 2016. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2016.

SCHMITT, A. **Arranjo de plantas para maximizar o desempenho agronômico do milho em ambientes de alto manejo**. 2014. 226 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, SC, 2014.

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

SHARP, R. E. et al. Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. **Journal of Experimental Botany** v. 55, n. 407, p. 2343-2351, 2004.

SHIOGA, P. S. et al. **Avaliação estadual de cultivares de milho: Safra 2011/2012**. Londrina: IAPAR, 2012. p. 116.

SIGNORELLI, S. *In vivo* and *in vitro* approaches demonstrate proline is not directly involved in the protection against superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide and peroxyxynitrite. **Functional Plant Biology**, v. 43, n. 9, p. 870-879, 2016.

SILVA NETA, I. C. **Expressão de genes relacionados à tolerância à baixa temperatura de germinação em sementes de milho**. 2014. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

SILVA, A. F. et al. Produtividade de híbridos de milho em função do espaçamento e da população de plantas em sistema de plantio convencional. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 2, p. 162-173, 2014.

SILVA, E. D. N. A. B. et al. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 180-186, 2011.

SILVA, P. R. F. et al. Adequação da densidade de plantas à época de semeadura em milho irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 9, n. 1, p. 48-57, 2010.

SIMÃO, E. P. et al. Demanda de nutrientes pelo milho safrinha em função da época de semeadura e adubação. **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2017.

SOUZA, L. C. et al. Comportamento bioquímico no milho submetido ao déficit hídrico e a diferentes concentrações de silício. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 8, n. 29, p. 260-267, 2015.

SOUZA, L. S. B. et al. Eficiência do uso da água das culturas do milho e do feijão-caupi sob sistemas de plantio exclusivo e consorciado no semiárido brasileiro. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p.715-721, 2011.

TAKASU, A. T. et al. Desempenho agrônômico do milho sob diferentes arranjos populacionais e espaçamento entrelinhas. **Agrarian**, v. 7, n. 23, p. 34-41, 2014a.

TAKASU, A. T. et al. Características agrônômicas da cultura do milho em função do preparo de solo e arranjo espacial de plantas. **Agrarian**, v. 7, n. 26, p. 485-495, 2014b.

UATE, J. V. et al. Épocas de semeadura e distribuição espacial de plantas na produção de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 3, p. 346-357, 2015.

VAN ROEKEL, R. J.; COULTER, J. A. Agronomic responses of corn hybrids to row width and plant density. **Agronomy Journal**, v. 104, n. 3, p. 612-620, may./jun, 2012.

VARSHNEY, R. K. et al. Genomics and physiological approaches for root trait breeding to improve drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: **Root genomics**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011. p. 233-250.

VASCONCELOS, A. C. F. et al. Respostas de enzimas antioxidantes a bioestimulantes em plantas de milho e de soja sob estresse hídrico. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 395-402, 2009.

WIDDICOMBE, W. D.; THELEN, K. D. Row width and plant population effects on corn grain production in the northern Corn Belt. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, p.1020–1023, 2002.

WU, J.M.; LIU, C.; SHI, Y.S.; SONG, Y.C.; CHI, S.M.; MA, S.Y.; WANG, T.Y.; LI, Y. QTL analysis of flowering related traits in maize under different water regimes. **J Maize Sci.**, v. 16, n. 5, p. 61-65, 2008.

XU, J. et al. Enhanced Reactive Oxygen Species Scavenging by Overproduction of Superoxide Dismutase and Catalase Delays Postharvest Physiological Deterioration of Cassava Storage Roots. **Plant Physiology**, v. 161, p. 1517-1528, 2013.

ZHANG, S. et al. Water use efficiency of dryland maize in the Loess Plateau of China in response to crop management. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 163, p. 55-63, 2014.

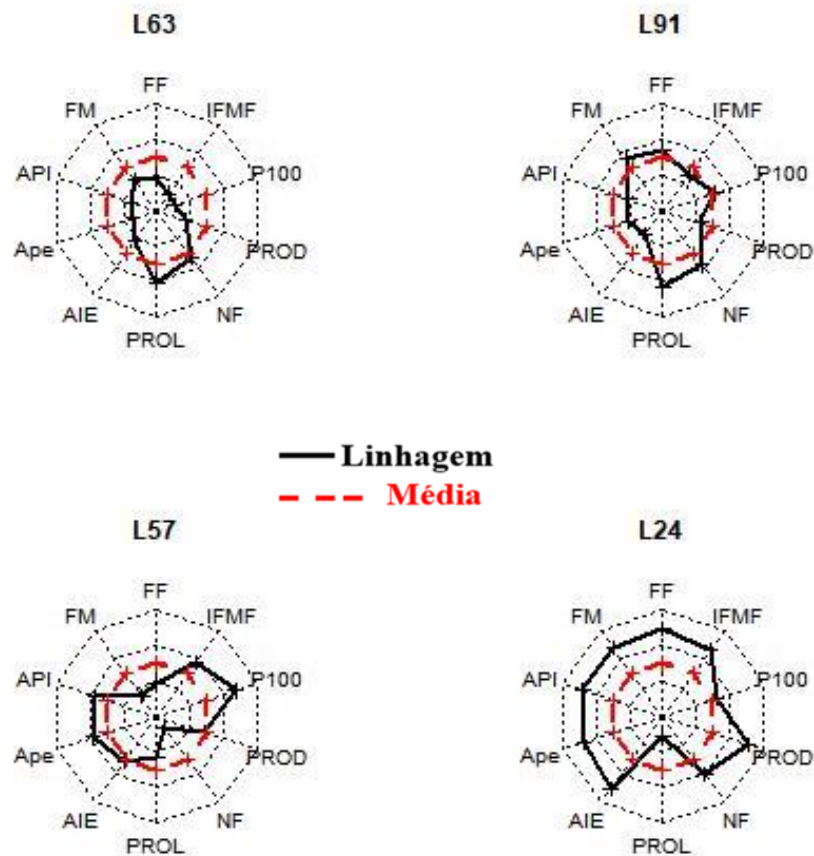
ZHU, J.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 33, n. 5, p. 740-749, 2010.

ZHU, J. Cell wall proteome in the maize primary root elongation zone. II. Region-specific changes in water soluble and lightly ionically bound proteins under water deficit. **Plant Physiology**, v. 145, n. 4, p. 1533-1548, 2007.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, p. 247-273, 2002.

APÊNDICES

Apêndice A- Representação gráfica dos valores para as linhagens na densidade populacional de 60 mil plantas há⁻¹ para as características Florescimento Feminino em dias (FF), Florescimento Masculino em dias (FM), Intervalo de Florescimento Masculino e Feminino em dias (IFMF), Altura de Plantas em cm (API), Altura do Pendão em cm (APe), Altura de Inserção da Primeira Espiga (AIE), Prolificidade (PROL), Número de Fileiras por Espiga (NF), Produtividade em kg/ha (PROD), Peso de 100 grãos em g (P100).



Apêndice B - Representação gráfica dos valores para as linhagens na densidade populacional de 120 mil plantas há⁻¹ para as características Florescimento Feminino em dias (FF), Florescimento Masculino em dias (FM), Intervalo de Florescimento Masculino e Feminino em dias (IFMF), Altura de Plantas em cm (API), Altura do Pendão em cm (Ape), Altura de Inserção da Primeira Espiga (AIE), Prolificidade (PROL), Número de Fileiras por Espiga (NF), Produtividade em kg/ha (PROD), Peso de 100 grãos em g (P100).

