



BRUNO SACCO NOGUEIRA

**EXPRESSÃO DE ENZIMAS E CARACTERES AGRONÔMICOS ASSOCIADOS
À TOLERÂNCIA A DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM MILHO.**

LAVRAS – MG

2021

BRUNO SACCO NOGUEIRA

**EXPRESSÃO DE ENZIMAS E CARACTERES AGRONÔMICOS ASSOCIADOS
Á TOLERÂNCIA A DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM MILHO.**

*Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Curso de Agronomia,
para obtenção do título de Bacharel.*

Orientadora

Prof^ª Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

Coorientadora

MsC. Juara Rodrigues Cardoso Santos

LAVRAS - MG

2021

BRUNO SACCO NOGUEIRA

**EXPRESSÃO DE ENZIMAS E CARACTERES AGRONÔMICOS ASSOCIADOS
À TOLERÂNCIA A DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM MILHO.**

**EXPRESSION OF ENZYMES AND AGRONOMIC CHARACTERS ASSOCIATED
WITH WATER DEFICIENCY TOLERANCE IN MAIZE.**

*Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Curso de Agronomia,
para obtenção do título de Bacharel.*

APROVADA em 17 de Novembro de 2021

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
MsC. Juara Rodrigues Cardoso Santos	UFLA
MsC. Thiago Lucas de Oliveira	UFLA
MsC. Danielle Rezende Vilela	UFLA

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho

Orientadora

MsC. Juara Rodrigues Cardoso Santos

Coorientadora

LAVRAS-MG

2021

*Acima de tudo a Deus, que me fez corajoso e forte nessa etapa da minha vida,
A minha mãe Geisa, que sempre acreditou no meu potencial.
Muito Obrigado!*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me abençoado até aqui.

Agradeço em especial, a minha mãe, que sempre me apoiou nas dificuldades. Muito obrigado Dona Geisa, por ter confiado em mim, por me dar o apoio necessário e amor nos momentos mais conturbados que passei.

Aos meus companheiros, que me ajudaram muito e fizeram parte da minha trajetória, em especial aos meus grandes irmãos da República A Marvada.

A minha companheira Rafaella Aureliano, que sempre confiou no meu potencial, sempre me ajudou nas decisões e me enriqueceu o coração com carinho, companheirismo e amor.

Aos meus amigos(as), Artur Bianchini Salomão, Nadyne Massoli Oliveira Vilela, Marina de Oliveira Salvadio, Marina Angelico Praxedes e Lenise Oliveira Coelho, entre outras grandes amizades que construí e que caminharam comigo por todo esse tempo. Agradeço imensamente tudo o que vocês fizeram e ainda fazem por mim.

Aos professores, que tive a graça de ser aluno durante a minha graduação, esses que contribuíram muito para o meu aprendizado. Em especial, a Prof. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos que além de construir um laço de amizade, me auxiliou durante esta trajetória na universidade

A gloriosa, Universidade Federal de Lavras, que com sua enorme estrutura e capacidade de trazer a melhor forma de experiência e aprendizado para nós alunos. Ao Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e aos funcionários e técnicos, pela disponibilização de materiais e do espaço para a condução deste trabalho e dedicação e auxílio, respectivamente.

À Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro. Ao Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento dos materiais utilizados durante os experimentos.

Ao Grupo de Estudos em Herbicidas, Plantas Daninhas e Alelopatia (GHPD), que me abriu o leque do conhecimento e me proporcionou experiências essenciais para a minha formação.

A minha coorientadora, MsC. Juara Rodrigues Cardoso Santos, que me deu todo o auxílio e não mediu esforços para realização desse trabalho.

E, por fim, a Prof^a. Dr^a. Édila Vilela de Resende Von Pinho, que dedicou a atenção e experiência na minha orientação para que eu chegasse até aqui.

RESUMO

O desenvolvimento de cultivares de milho tolerantes ao déficit hídrico representa uma das principais demandas para reduzir os riscos de produção sob condições de deficiência hídrica. Selecionar genótipos tolerantes ao déficit hídrico por meio da expressão de enzimas, pode contribuir para o desenvolvimento de cultivares com tolerância ao déficit hídrico. O objetivo neste trabalho foi caracterizar a expressão das enzimas do sistema antioxidante em folhas de plantas de linhagens e híbridos de milho, submetidas ao déficit hídrico, por meio da técnica de eletroforese. Também foram avaliadas a altura das plantas e o intervalo entre o florescimento feminino e masculino das plantas dos parentais que compunham o híbrido. A pesquisa foi realizada em casa de vegetação do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Não houve diferença quanto à altura de plantas entre os materiais avaliados. Houve retardamento da emissão de estileto-estigmas em plantas da linhagem 31. Houve variação quanto à expressão das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD) em folhas dos materiais genéticos avaliados, com a maior expressão destas na linhagem 31.

Palavras-chave: Zea mays, Estresse abiótico, Seleção indireta, Caracteres indiretos, Expressão enzimática.

ABSTRACT

The development of water deficit tolerant maize cultivars represents one of the main demands to reduce production risks under water deficit conditions. Selecting genotypes tolerant to water deficit through the expression of enzymes can contribute to the development of cultivars with tolerance to water deficit. The objective of this work was to characterize the expression of enzymes of the antioxidant system in leaves of maize inbred and hybrid plants subjected to water deficit, using the electrophoresis technique. Plant height and the interval between female and male flowering of the parental plants that made up the hybrid were also evaluated. The research was carried out in a greenhouse at the Department of Agriculture of the Federal University of Lavras (UFLA). There was no difference in plant height between the materials evaluated. There was a delay in the emission of stigmata in plants of line 31, classified as There was variation in the expression of the enzymes catalase and superoxide dismutase in leaves of the genetic materials evaluated, with the highest expression of these in line 31.

Keywords: *Zea mays*, Abiotic stress, Indirect selection, Indirect characters, Enzymatic expression.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias das alturas das plantas e número de sementes submetidas a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.....24

Tabela 2: Médias dos dados obtidos para os caracteres indiretos: florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF) e intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF).....25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Períodos críticos a fase de desenvolvimento da cultura do milho por interferência do déficit hídrico.....	13
Figura 2. Lenhinger Principles of Biochemistry.....	19
Figura 3. Esquema de materiais submetidos a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.....	21
Figura 4. Aspecto Geral de uma monocotiledônea.....	22
Figura 5. Expressões das enzimas superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de milho submetidas ao tratamento sem estresse hídrico – Tratamento controle (70 % da capacidade de retenção de água) e submetidas ao tratamento com estresse hídrico (30 % da capacidade de retenção de água).....	26
Figura 7: Expressão da enzima catalase em folhas de plantas de milho submetidas ao tratamento sem estresse hídrico – Tratamento controle (70 % da capacidade de retenção de água) e submetidas ao tratamento com estresse hídrico (30 % da capacidade de retenção de água).....	27

LISTA DE GRAFICOS

Gráfico 1. Médias das alturas das plantas e número de sementes submetidas a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.....	25
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Cultura do milho	13
2.2 Importância econômica da cultura do milho.....	14
2.3 Efeitos do déficit hídrico nas folhas de milho	16
2.4 Influência do déficit hídrico na altura da planta de milho	Erro! Indicador não definido.
2.5 Influência do déficit hídrico no florescimento.....	17
2.6 Espécies reativas de oxigênio	18
2.7 Enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) nas folhas	20
2.8 Técnica de eletroforese	20
3 METODOLOGIA.....	21
3.1 Localização e clima	21
3.2 Seleção de linhagens e híbridos de milho contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico.....	22
3.3 Instalação do campo experimental.....	22
3.3 Avaliação de caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca	23
3.4 Análises enzimáticas	23
3.5 Análises Estatísticas.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. Resultados e discussão dos caracteres indiretos	25
Foram avaliados os seguintes caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca, como altura das plantas de milho, florescimento feminino, florescimento masculino e intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF) submetidos a dois regimes hídricos.	
4.2. Resultados e discussão da análise enzimática.....	Erro! Indicador não definido.
5 CONCLUSÕES	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho é um dos cereais mais cultivados no mundo, sendo utilizado de diversas formas, como na alimentação humana, na alimentação animal, na indústria e na produção de etanol, sendo uma das principais commodities do mercado internacional. Levando em consideração que o milho é muito exigente em relação a água, o rendimento dessa cultura tem como causa principal a deficiência hídrica causada pelas instabilidades no regime de chuvas.

A variação da produtividade agrícola nas safras é, principalmente, influenciada pelas condições climáticas durante o ciclo da cultura, especialmente quando são cultivadas em condições onde há restrição hídrica (BATTISTI e SENTELHAS, 2014).

Sabe-se, por meio de várias pesquisas que há variabilidade genética para a característica de tolerância a seca e isso tem sido explorado em programas de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares para essa característica.

Um grande número de genes é expresso diferencialmente sob seca em diferentes tecidos, estádios e condições e a identificação desses genes responsivos ao déficit hídrico se torna fundamental para o desenvolvimento de linhagens tolerantes, cuja produção possa minimizar os efeitos da seca (DEYHOLOS, 2010). Sob condições de seca, caracteres como, florescimento feminino e masculino, intervalo entre os florescimento masculino e feminino ,altura de plantas entre outros podem se correlacionar com a tolerância ao déficit hídrico e com rendimento de grãos, (OYEKUNLE et al. 2015).

A informação sobre as correlações entre esses caracteres é de fundamental importância para a seleção de genótipos de milho em ambientes contrastantes. (OYEKUNLE et al. 2015). Um caractere ideal deve ser geneticamente associado com a produção de grãos sob estresse, ter variabilidade, ser de avaliação rápida e barata e ser estável durante o período de avaliação (EDMEADES et al., 2008).

A avaliação da expressão de enzimas pode ser uma ferramenta para a seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico. Enzimas do sistema antioxidante têm apresentado importante correlação com a tolerância a seca uma vez que sob condições de estresse há a formação de espécies reativas ao oxigênio, EROS. EROS podem causar danos às células vegetais, podendo levar à morte dessas. As enzimas do sistema antioxidante são responsáveis pelo controle e remoção de EROS nas células.

Assim, o objetivo neste trabalho foi avaliar linhagens de milho quanto à tolerância à seca por meio de parâmetros agronômicos e expressão enzimática das enzimas Catalase (CAT) e Esterase (EST) em folhas de plantas de milho submetidas à restrição hídrica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do milho

A história do milho como uma das primeiras culturas agrícolas domesticadas pelo homem remete a milhares de anos atrás. Do material de origem, *Teosinto*, ao milho moderno, o cereal conquistou o mundo. Além de ser plantado em todas as regiões do planeta, é a única cultura agrícola que já ultrapassou a barreira de 1 bilhão de toneladas produzidas. As razões do sucesso são muitas, mas os seus diversos usos e sua adaptação certamente pesaram para essa trajetória (GOMES, 2018). O principal destino da produção brasileira de milho é para a fabricação de ração animal, seguido pelo consumo industrial e (AGRIANUAL, 2016).

O milho (*Zea mays*, L.), é cultivado em países de clima tropical, subtropical e de clima temperado com verões quentes (GOMES, 2018). É uma espécie alógama, reproduz preferencialmente por fecundação cruzada, sendo que pelo menos 95% das sementes são obtidas por polinização com pólen de outras plantas (LOBELL e GOURDJI, 2012).

O milho é uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza. De uma semente que pesa pouco mais de 0,3 g irá surgir uma planta geralmente com mais de 2,0 m de altura, isto dentro de um espaço de tempo de cerca de nove semanas. Nos meses seguintes, essa planta produz cerca de 600 a 1.000 sementes (ALDRICH, S.R.; et al.; 1982).

A quantidade necessária de água para o bom desenvolvimento do milho pode variar de acordo com a cultivar e ciclo de desenvolvimento, contudo, em média é de 600 mm por ciclo (ALVES, 2013), mas segundo Nascimento et al., (2017), a cultura do milho apresenta grande sensibilidade à falta de água, podendo haver perdas de produção e baixa qualidade do produto, principalmente se essa deficiência hídrica for imposta em períodos que demandam maior quantidade de água.

A ocorrência de déficit hídrico em um desses períodos pode chegar a comprometer 50% da produtividade do milho dependendo da intensidade do déficit e da sua duração. Dos períodos mais sensíveis ao déficit hídrico estão o início do florescimento (VT),

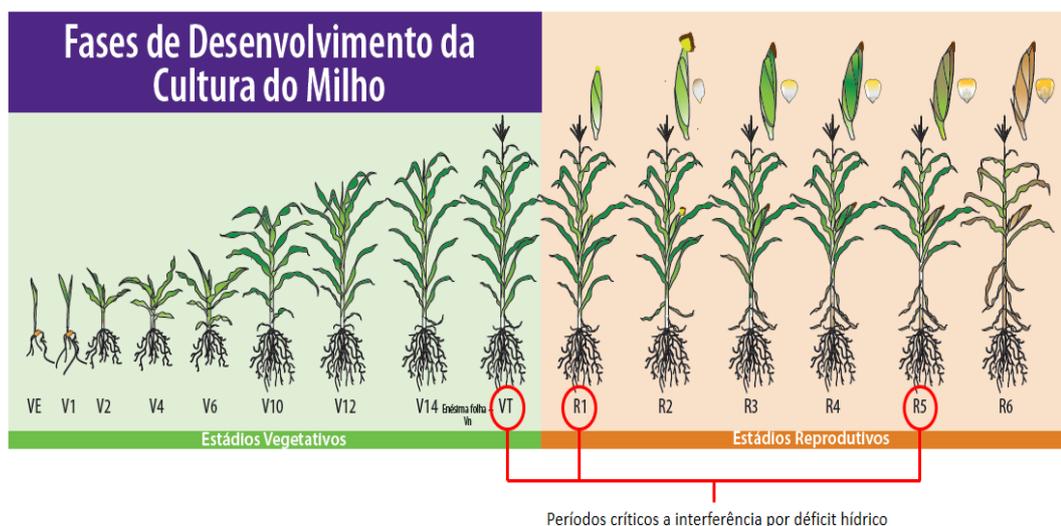
quando ocorre a determinação do número potencial de grãos; o período de fertilização (R1), quando o potencial produtivo é fixado e o período de enchimento de grãos (R5), quando ocorre o aumento da formação de matéria seca nos grãos (Figura 1) (ALVES, 2013).

2.2 Importância econômica da cultura do milho

Os maiores países produtores de milho são Estados Unidos, China e Brasil. O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais importantes cultivados no Brasil e segundo CONAB (2021), na safra de 2020/2021, a produção de grãos atingiu cerca 106,5 mil toneladas, superando em 3,7% a produção da safra anterior. Estima-se que a recuperação de produtividade é de 29% para o milho, após um ano marcado pela quebra em razão dos fatores climáticos (CONAB, 2021).

Os estados com mais destaque em produtividade são Mato Grosso, Paraná e Goiás, concentrando 50,72% de toda produção nacional (CONAB, 2021). A safra mineira de grãos 2020/2021, deve ser em torno de 15,6 milhões de toneladas, com crescimento de 1,7% em relação ao volume anterior (CONAB, 2021).

Figura 1. Períodos críticos a fase de desenvolvimento da cultura do milho por interferência do déficit hídrico.



Fonte: SANTOS, 2021.

O Brasil produz milho em três safras por ano, sendo a primeira no período chuvoso em meados de agosto (região Sul) até novembro (regiões Sudeste e Centro-Oeste) e a segunda (safra ou safrinha) durante o período de seca, fevereiro-março. Já com relação a terceira safra, está corresponde a plantios iniciados após os meses tradicionais de plantio de segunda safra no Brasil, sendo esse sistema é predominante na região nordeste nos estados do SEALBA que incluem Sergipe, Alagoas e Bahia, além dos estados de Pernambuco e Roraima (AGRIANUAL, 2016).

Os fatores que estão mais ligados à redução da produtividade da cultura do milho são os abióticos relacionados ao clima (disponibilidade hídrica do solo, temperatura do ar, umidade relativa do ar e irradiação solar) (FEITOSA et al., 2016).

Dentre os estresses abióticos que mais afetam as plantas, a restrição hídrica apresenta-se como o fator deletério mais comum, principalmente no semiárido por causar perda na produtividade e afetar o setor econômico (FEITOSA et al., 2016).

O estresse hídrico juntamente com o aumento da temperatura, resultante das mudanças climáticas provoca impacto negativo no rendimento das culturas e no futuro este impacto poderá ser mais severo. Estima-se que a população mundial atinja 9,7 bilhões de pessoas até 2050 e aproximadamente 49% das regiões afetadas pelo déficit hídrico poderão ser utilizadas para cultivo (ROSEGRANT, 2016).

Dentre os fatores climáticos que assolam as plantas, a água destaca-se como fator primordial para um bom desenvolvimento das funções vitais. A deficiência hídrica pode afetar quanti e qualitativamente as espécies. Neste sentido, discussões entre a redução do consumo de água potável para fins agrônômicos e a necessidade do seu uso para o bom desenvolvimento e desempenho das plantas, tornam-se um dos maiores desafios da humanidade (RAMOS et al., 2014).

A cultura do milho ainda envolve outros fatores de importância econômica, como o valor genético das variedades, essas variedades podem ser usadas para o desenvolvimento de novas combinações mais adaptadas aos diferentes locais de cultivo devido ao resgate de genes associados as características de interesse. Isso mostra a importância com relação ao valor da conservação e do uso dos genótipos de forma a produzir alimento sob condições adversas de clima (SOUZA, et.al, 2015).

Nesse contexto, tem-se buscado o desenvolvimento de genótipos com ampla adaptabilidade que implica em baixa interação genótipo x ambiente. O entendimento do

tipo de interação permite um melhor posicionamento e indicação de regiões de plantio da cultivar facilitando o trabalho do melhorista. Apesar da complexidade do melhoramento genético para tolerância à seca, porque a maioria dos genótipos encontrados perde produtividade quando não está sofrendo estresse, é possível encontrar genótipos mais eficientes quanto ao uso da água (SOUZA, et.al, 2015).

2.3 Efeitos do déficit hídrico nas folhas de milho

O estresse salino e o déficit hídrico são considerados os estresses abióticos que mais limitam a produção de culturas agronômicas no mundo, por promoverem drásticas alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

Quando do estresse, poderá haver perdas nos principais componentes de produção como, diâmetro de espiga, comprimento de espiga, número de grãos por espiga, número de grãos por fileira e índice de espiga (NASCIMENTO et al., 2017) e também, condições de estresse diminuem a velocidade de emergência e de desenvolvimento de plântulas, afetam o número de folhas, sementes por planta, tamanho e massa de sementes (SABERALI; MORADI, 2019).

Além do fechamento estomático, ocorre a inibição da expansão foliar, ou seja, as folhas novas ficam menores (com menor área foliar). Essa modificação é importante para diminuição da área transpiratória. Com a diminuição da assimilação do carbono, não são fornecidos adenosina trifosfato (ATP) e NADPH suficientes para o funcionamento da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (RuBisCo) devido a redução da taxa de transporte de elétrons, gerando a fotoinibição (MATHOBO et al., 2017).

O déficit hídrico pode, também, afetar o desenvolvimento do dossel vegetativo por meio da alteração no número total de folhas da planta, na taxa de expansão e na senescência (TAIZ & ZEIGER, 1991). Reduz-se a expansão das folhas, acelera a senescência, diminui o índice de área foliar e aumenta a abscisão das folhas (MUNNÉ-BOSCH, 2013).

A expansão foliar é um processo movido pelo turgor e é extremamente sensível ao déficit hídrico. Como a expansão foliar depende principalmente da expansão celular, os princípios que fundamentam os dois processos são similares. A inibição da expansão celular provoca uma lentidão da expansão foliar no início do desenvolvimento de déficits hídricos. A área foliar menor transpira menos, conservando, efetivamente, um suprimento de água limitado no solo por um período mais longo. Assim, a redução da área foliar pode

ser considerada a primeira linha de defesa contra a seca. Em determinadas plantas, o estresse hídrico limita não apenas o tamanho, mas também o número de folhas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Em muitas espécies, como o milho, o número de folhas já é determinado geneticamente; entretanto, ocorrência de déficit hídrico antes do florescimento das plantas reduz o número de folhas do milho. O déficit hídrico aumenta a senescência das folhas; isto ocorre porque o solo seco não pode fornecer nitrogênio suficiente para suprir as necessidades de crescimento da cultura e o nitrogênio do interior da planta é retranslocado das folhas mais velhas para os pontos de crescimento; entretanto, a intensidade da senescência depende da quantidade de nitrogênio no solo, das reservas de nitrogênio na planta e da demanda de nitrogênio dos pontos de crescimento (MUNNÉ-BOSCH, 2013).

Estudos sobre o desenvolvimento vegetativo do milho demonstraram que o estresse hídrico na fase de pré-florescimento leva a reduções significativas na altura da planta (ARAUS et al., 2012). Ocorre ainda redução de área foliar, que são sensíveis ao estresse, pois são órgãos de produção e armazenamento de carboidratos na cultura do milho (BRITO, 2013).

Segundo Clemente, (2017), o déficit hídrico também compromete o desenvolvimento vegetativo do milho, promovendo reduzindo a altura de plantas, massa seca da parte aérea e raiz. A altura de plantas pode ser uma ótima característica para a identificação de genótipos tolerantes a seca, porém a eficiência na utilização da característica altura de plantas, como indicativo de tolerância, vai depender do nível de estresse e do número de genótipos estudados.

2.5 Influência do déficit hídrico no florescimento

A seca durante esse período pode inibir o florescimento, provocar falhas na fertilização e aborto dos embriões, resultando na queda da produção (WESTGATE, 1994). O estresse de água ocorrendo no período de duas semanas antes e até duas semanas após o florescimento pode causar grande redução na produção de grãos. Porém, a maior redução na produção poderá ocorrer com déficit hídrico na emissão dos estilos-estigmas (início de R1) (MAGALHÃES et al., 1995). O retardamento na emissão dos estilo-estigmas, observado na incidência do estresse hídrico durante o florescimento, provoca uma assincronia entre os florescimentos femininos e masculinos (BOLANOS; EDMEADES, 1996; RIBAUT et al., 1996),

O intervalo entre os florescimentos masculino e feminino (IFMF) é uma das características mais importantes a ser avaliada visando o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao déficit hídrico (AGRAMA; MOUSSA, 1996; BÄNZINGER et al., 2000; BOLAÑOS; EDMEADES, 1996; XIAO, 2004). O IFMF é uma característica singular e de alta herdabilidade, fácil mensuração e é totalmente independente das diferenças de maturação entre as cultivares (BOLAÑOS; EDMEADES, 1993).

Segundo Adebo et al. (2014), o estresse hídrico reduz o rendimento de grãos, e quando ocorre durante as fases de florescimento e enchimento de grãos, as perdas de rendimento podem chegar a 80%. Em apenas dois dias de estresse hídrico no florescimento é capaz de diminuir o rendimento em mais de 20%, quatro a oito dias pode provocar mais de 50% de perdas, pois é nessa época que ocorre a definição do rendimento de grãos (DURÃES et al., 2004).

Sabe-se que o desenvolvimento, crescimento e sobrevivência das plantas são influenciadas pelo genótipo e ambiente. Sob condições de estresse as plantas têm o seu metabolismo e crescimento alteradas. Nestas condições estão envolvidas enzimas antioxidantes, conhecidas como scavengers, que estão associadas à remoção das espécies reativas de oxigênio (EROs). (MITTLER et al., 2004; GUPTA et al., 2018).

2.6 Espécies reativas de oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são formas parcialmente reduzidas ou ativadas de oxigênio atmosférico. São consideradas subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbico que acompanham a vida na terra desde o surgimento dos organismos fotossintéticos que evoluem com oxigênio, cerca de 2,2 a 2,7 bilhões de anos atrás (ROSEGRANT, 2016).

A produção de EROs é importante em diversos processos da célula como a sinalização celular e defesa contra infecção, porém está mais relacionada a danos aos elementos celulares. Quando não neutralizadas, as concentrações aumentadas de EROs podem levar a destruição oxidativa da célula causando danos às membranas, proteínas, moléculas de DNA e RNA em um processo denominado estresse oxidativo. Entretanto, enzimas desintoxicantes de EROs que atuam nas células atenuam esse processo (ROSEGRANT, 2016). Dentre as principais EROs destacam-se: os radicais superóxidos (O_2^-), radicais hidroxila (OH^-), oxigênio singleto (1O_2) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Tais substâncias são produzidas naturalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, as quais podem provocar um estresse oxidativo associado ao déficit hídrico, estresses térmico e salino (NUNES-JUNIOR et al., 2017).

Sob déficit hídrico, a grande quantidade de energia sobre os pigmentos fotoprotetores deflagra na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) gerando um estresse oxidativo, pois os carotenoides e xantofilas não conseguem dissipar o excesso de energia na forma de calor. As EROs podem atacar as membranas lipídicas (peroxidação lipídica), ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas e clorofila (NIKOLAEVA et al., 2015).

Assim que o déficit hídrico se intensifica, o potencial de água nas folhas começa a decrescer, diminuindo o volume celular, inibindo as enzimas do Ciclo de Calvin, impedindo assim o acréscimo da concentração de solutos estomáticos, e por conseguinte a inibição regulatória ou dano do aparato fotossintético (SUN et al., 2017). Também ocorre o aumento da produção de açúcares para que ocorra o balanceamento osmótico, estabilização de macromoléculas e estocagem de carbono e nitrogênio. Além das respostas fisiológicas, a anatomia do vegetal também sofre modificações para responder ao déficit hídrico. A larga produção de açúcares promove aumento da área do floema, já que a alta concentração de solutos eleva a pressão osmótica a fim de diminuir o volume de água no xilema, que seria destinado a transpiração (SEVANTO, 2018).

Os mecanismos de defesa contra os radicais livres são importantes na limitação da ação do estresse oxidativo e na destruição das espécies reativas de oxigênio, e esses dependem da duração do estresse e da capacidade da planta sobreviver a estes estresses. A planta pode reagir com o aumento da expressão de genes de enzimas com funções antioxidantes e com a síntese de espécies sequestradoras dos ROS (MUNNÉ-BOSCH, 2013).

O sistema de defesa antioxidante enzimático, dentre os quais pode-se citar: a superóxido dismutase (SOD); catalase (CAT); ascorbato peroxidase (APX); glutathione redutase (GR); peroxidase (POX) e peroxirredoxina (PRX) e não enzimático como o ácido ascórbico, glutathione e componentes fenólicos, atuam no controle da oxigenação descontrolada e na proteção contra os danos oxidativos nas células através da remoção das EROS (GILL; TUTEJA, 2010). As EROS são encontradas em pequenas concentrações em organelas celulares como nos cloroplastos, mitocôndrias ou peroxissomos, ou ainda como subprodutos dos processos de fotossíntese, fotorrespiração ou respiração (CHOUDHURY, 2017).

2.7 Enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) nas folhas

Enzimas como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR) atuam nessa defesa contra as EROs. A SOD é a responsável por um papel central na defesa contra o estresse oxidativo em todos os organismos aeróbicos (SHARMA, 2012). É responsável pela dismutação do oxigênio molecular (O_2), formando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A CAT e a APX são responsáveis pela conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio e, a GR, retira os H_2O_2 de diversos compartimentos celulares (MEWARD, et al., 2018).

As superóxidos dismutase são um grupo de enzimas encontrados no citoplasma celular e matriz mitocondrial (MCDONALD, 1999). A SOD é a primeira enzima atuante do complexo, responsável pela dismutação do O_2^- , formando o H_2O_2 . A CAT e a APX são responsáveis pela conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio e, a GR, retira os H_2O_2 de diversos compartimentos celulares (MEWARD, et al., 2018).

As catalases são enzimas antioxidantes que realizam o catabolismo do peróxido de hidrogênio em moléculas menores, como água e oxigênio. A ascorbato peroxidase é uma das principais enzimas envolvidas na eliminação rápida de H_2O_2 , por possuir alta afinidade com essa molécula, removendo-a mesmo em baixas concentrações. Ao contrário da catalase, que atua removendo o excesso de peróxido de hidrogênio (MUNNÉ-BOSCH, 2013). Estresses ambientais podem resultar em um aumento ou diminuição da atividade da CAT, dependendo do tipo e da intensidade do estresse causado (MOUSSA & ABDEL-AZIZ, 2008).

A expressão dessas enzimas em plantas tem sido avaliada por meio da técnica de eletroforese por meio da qual as enzimas são avaliadas por meio de suas cargas elétricas, peso molecular e ainda pela conformação dessas.

2.8 Técnica de eletroforese

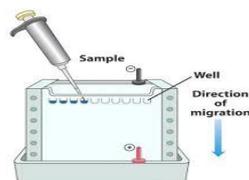


Figura 2: Lenhinger Principles of Biochemistry.
Fonte: Fifth Edition, 2008

A eletroforese consiste na migração de moléculas ionizadas, de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares em campo elétrico. Moléculas com carga negativa migram para o pólo positivo (ânodo) e moléculas com carga positiva migram para o pólo negativo (cátodo). A carga líquida das moléculas é função somatória dos aminoácidos que as constituem. Em razão das proteínas serem substâncias anfóteras, ou seja, capazes de adquirirem carga positiva ou negativa em função do pH, é indispensável manter constante o pH do meio durante a eletroforese, pelo uso de soluções-tampão. (Corrêa, E.M; Possik, P.A.; 2021)

O sistema-tampão usado consiste em duas partes: o tampão do gel usado na preparação do gel e o tampão do tanque, ou cuba eletrolítica, na qual se encontram os eletrodos (ânodo e cátodo). Nos tampões dos tanques e do gel, a corrente elétrica é conduzida por íons, e nos eletrodos, por elétrons. Na presença de um sistema-tampão adequado, a hidrólise da água, que se dá na superfície dos eletrodos, permite a troca entre elétrons e íons. A eletroforese pode ser conduzida em solução com gradiente de densidade ou em diferentes meios-suporte, tais como papel de filtro, sílica gel, membranas de acetato de celulose, gel de agarose, amido ou poliacrilamida, entre outros (SKOOG, 2015).

O suporte deve ser química e fisicamente inerte, de modo a não interferir na mobilidade das moléculas. No caso de eletroforese em géis, especialmente de poliacrilamida, a migração das moléculas é profundamente influenciada pelas malhas (poros) do gel. (SKOOG, 2015).

3 METODOLOGIA

3.1 Localização e clima

A pesquisa foi conduzida em condição de casa de vegetação, no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, cujas coordenadas são latitude 21°14'S, longitude 40°17'W e altitude de 918,80m. Esta região apresenta clima tipo Cwa da classificação de Koppen (DANTAS et al, 2007). As análises foram realizadas no Laboratório Central de Sementes da UFLA.

3.2. Seleção de linhagens e híbridos de milho contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico

A escolha dos materiais utilizados na pesquisa foi realizada conforme a análise do trabalho desenvolvido por Abreu et al. (2019). Foram selecionadas duas linhagens contrastantes, sendo a linhagem 91 (L91), tolerante ao estresse hídrico e uma linhagem 31 (L31), não tolerante, ao estresse hídrico, seu respectivo híbrido de milho (91x31) e seu recíproco (31x91).

3.3 Instalação do campo experimental

Após a seleção das linhagens contrastantes quanto à tolerância ao estresse hídrico foi implantado um experimento em casa de vegetação para a produção de sementes das linhagens e híbridos de milho, durante a safra 2018/2019.

O delineamento experimental utilizado foi o de Blocos Casualizados em esquema fatorial (4x2), sendo 4 materiais genéticos, e 2 regimes hídricos (substrato com 30% e 70% da capacidade de retenção de água pelo solo), condições de déficit hídrico e sem déficit hídrico , respectivamente(Figura 3).

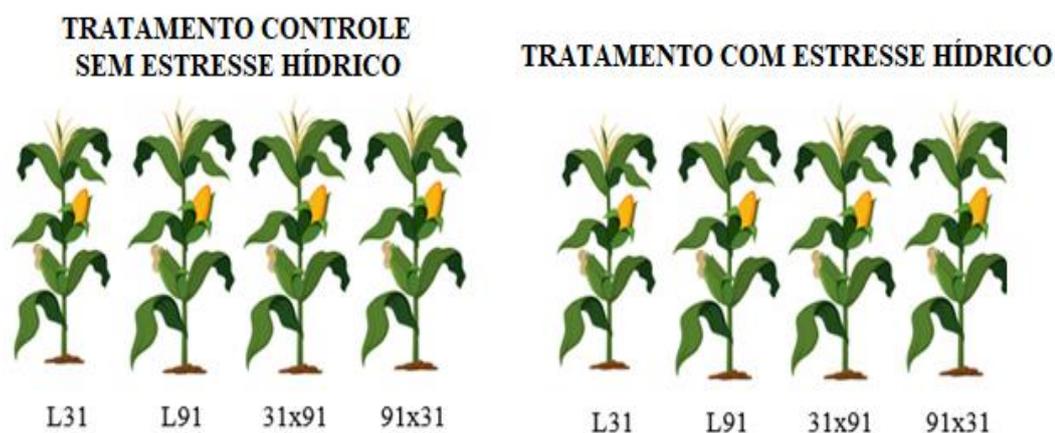


Figura 3. Esquema de materiais submetidos a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.

Fonte: Santos, J.R.C.

O controle da umidade do solo foi avaliado diariamente pelo controle do peso dos vasos e quando necessária foram realizadas irrigações. A umidade relativa e a temperatura da casa de vegetação foram monitoradas diariamente. A adubação de cobertura, assim como os demais tratamentos culturais e fitossanitários foram realizados de acordo com as necessidades da cultura.

3.3 Avaliação de caracteres indiretos relacionados à tolerância à seca

Serão avaliados os seguintes caracteres:

- a) **Altura de plantas (APL):** Com o auxílio de uma régua métrica, foram medidas a altura das plantas, da base da planta até a inserção do pendão, aos 70 dias após a semeadura.
- b) **Número de Sementes (NS):** número médio de sementes inteiras, para facilitar a análise de variância, foi adicionado a todos os valores de NS uma constante de valor 100.
- c) **Florescimento Masculino (FM) e Florescimento Feminino (FF):** Foi determinado pelo número de dias da semeadura até que 50% das plantas de cada parcela tivessem, respectivamente antese e estilo- estigmas visíveis. O florescimento masculino foi definido como a data da liberação do pólen e o florescimento feminino quando os estilo-estigmas atingiram 1 cm de comprimento (ABREU et al, 2019).
- d) **Intervalo entre os florescimentos feminino e masculino em dias (IFMF):**
O intervalo entre os florescimentos foi determinado em dias pela diferença da semeadura e os florescimentos feminino e masculino. Para eliminar os possíveis valores negativos, os quais dificultariam a análise de variância, foi adicionado a todos os valores de IFMF uma constante de valor 100 (ABREU et al, 2019).

3.4 Análises enzimáticas

Para as análises enzimáticas foram coletadas folhas bandeiras (Figura 4) de plantas oriundas das duas linhagens, híbrido e recíproco, aos 70 dias após semeadura,

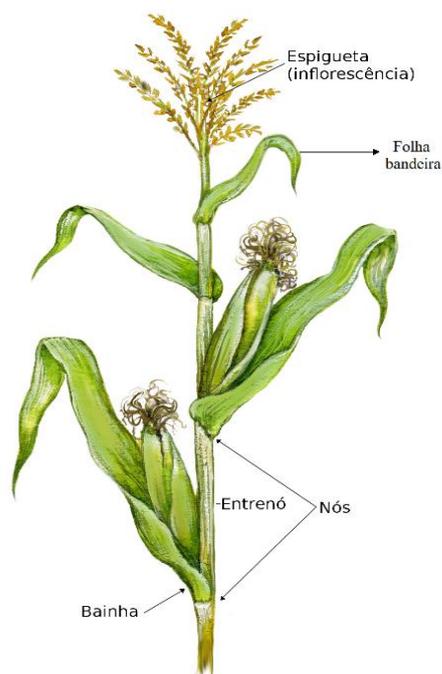


Figura 4: Aspecto Geral de uma monocotiledônea

Fonte: Ilustração adaptada Silva, P.; 2021.

As amostras das folhas foram armazenadas em deep-freezer até o início das análises. As folhas foram maceradas na presença de polivinilpirrolidona – PVP, para que não houvesse oxidação por adsorver os fenóis e inibir polifenolxidasas e também foi adicionado nitrogênio líquido em cadinho de porcelana. Depois de serem maceradas foram armazenadas 100 mg do material à temperatura de $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$, em microtubos de 1,5 ml, no deep freezer. Foram separadas as amostras de cada tratamento para análise enzimática.

Foi realizada a análise enzimática da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD). A extração das enzimas foi realizada com o tampão Tris HCl 0,2M pH 8,0 + (0,1% de β mercaptoetanol), na proporção de 250 μL por 100 mg do material. O material foi homogeneizado em vortex e mantido por 12 horas, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 30 minutos, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A corrida eletroforética foi realizada em sistema de géis de poliacrilamida descontínuo a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris- glicina pH 8,9. Foram aplicados 60 μL do sobrenadante das amostras no gel. Terminada a corrida, os géis foram revelados conforme Alfenas et al. (2006).

Para cada enzima de CAT e SOD foi revelado um Zimograma (imagem revelada do gel de poliacrilamida). O zimograma foi utilizado para observar a ausência, presença

e a intensidade das bandas. A expressão das enzimas foi quantificada com auxílio do software ImageJ®, na unidade de mm², gerando gráficos com as áreas de expressão das bandas, foram utilizadas três repetições desses valores.

3.5 Análises Estatísticas

Os resultados de caracteres agronômicos foram submetidos à análise de variância e para a comparação das médias foi feita pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas no software Sisvar® (FERREIRA, 2011).

Quanto à altura de plantas (Tabela 1), em relação às L91 e L31, submetidas à restrição hídrica, não houve diferença estatística entre os dados. (ABREU et al., 2016; SANTOS et al., 2016; VILELA et al., 2019, FREITAS, A.S, 2020), observaram maior tolerância ao déficit hídrico da linhagem 91, mas, utilizando outras condições para simular o estresse hídrico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resultados e discussão dos Parâmetros agronômicos

Tabela 1: Médias das alturas das plantas, cm, e número de sementes submetidas a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.

Tratamento	Altura de plantas	Número de sementes ¹
L31 – 70%	123b	223b
L31 – 30%	100c	200bc
L91 – 70%	82c	182c
L91 – 30%	97c	197bc
3191 – 70%	161a	261a
3191 – 30%	156a	256a
9131 – 70%	165a	256a
9131 – 30%	110b	210bc
CV	38.07%	21.13%

Médias seguidas de letras minúsculas na coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey, ¹ dados transformados em (x+100) para análise estatística

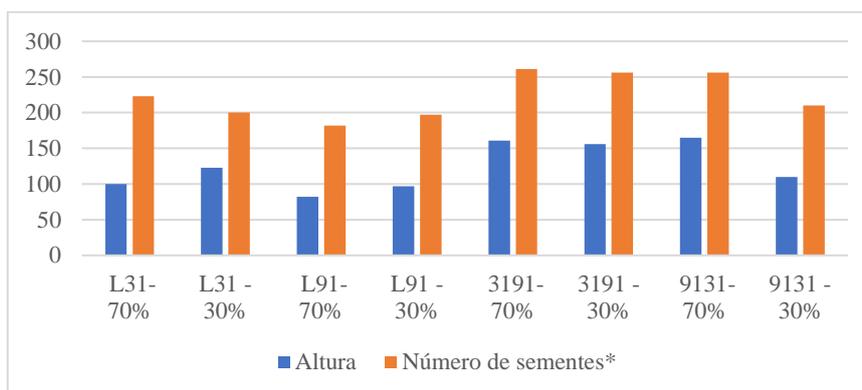
Não houve diferença significativa entre os genótipos, 3191 (3191 – 70%) e 9131 no tratamento controle (9131 - 70%) e 3191 com restrição hídrica (3191 - 30%),

apresentando uma altura superior em relação aos outros genótipos. Esse resultado também foi observado por Silva (2018), em que não houve efeito significativo dos tratamentos para a variável altura de planta para nenhum dos híbridos avaliados, nos dois plantios realizados (safra de verão e segunda safra em casa de vegetação). O híbrido 9131 – 30% e L31, sem restrição hídrica (L31 – 70%,) não diferem- se entre si. Dass et al. (2001), ao avaliarem 166 genótipos de milho, compreendidos por linhagens e híbridos, sob diferentes condições de estresse (sem estresse, estresse leve, estresse intermediário e estresse severo), observaram que a altura da planta foi afetada severamente com restrição da irrigação, houve aumento no intervalo entre florescimentos com a imposição do estresse e na maioria dos genótipos avaliados, os híbridos foram mais tolerantes em comparação com linhagens na fase da floração e espigamento.

Em relação ao número de sementes, não houve diferença estatística entre os híbridos 3191, com e sem estresse e 9131 , sem restrição hídrica– 70%. Quando houve restrição hídrica, o híbrido 9131 se mostrou inferior em relação aos demais híbridos. Também para a L31, com e sem estresse e L91, com estresse – 30% não houve diferença estatística quanto ao número de sementes. Para a L31 – com estresse 30% e L91, com e sem déficit hídrico , não diferem entre si, mas foram inferiores aos outros genótipos.

O baixo rendimento de grãos pode ser atribuído à quebra do sincronismo entre emissão dos estilo-estigmas e liberação do pólen, que geralmente ocorre mais cedo, e o espigamento, fenômeno de deterioração dos cabelos, que se caracteriza pela abertura das pontas e pela perda de suavidade, ocorre mais tarde (SOUSA et al., 2015), justificando a ocorrência de espigas com poucos grãos (BERGAMASCHI et al., 2004). Sob condições de deficiência hídrica há atraso da emissão dos estilo-estigmas em detrimento da liberação de grãos de pólen.

Gráfico 1. Médias das alturas das plantas e número de sementes submetidas a dois tratamentos: tratamento controle sem estresse hídrico e tratamento com estresse hídrico.



Médias a 5% de significância pelo teste de Tukey, * dados transformados em (x+100) para análise estatística.

Quanto ao período de florescimento masculino, para a L91, não houve diferença significativa sob condições ou não de deficiência hídrica, . Esse comportamento também foi observado nos híbridos Quando as linhagens 31 e 91 não foram submetidas às condições de deficiência hídrica não houve diferença quanto período do florescimento masculino. Já para a linhagem 31, sob restrição hídrica, houve atraso do florescimento masculino, o que não ocorreu para linhagem 91, Tabela 2. Assim infere-se que esta característica possa estar associada à tolerância ao déficit hídrico, .

Segundo FANCELLI; DOURADO NETO, 2000, estresse hídricos, durante o processo de germinação, podem impedir a germinação, alterar a velocidade, o tempo e a uniformidade da germinação, comprometendo o estabelecimento da cultura. Deficiências hídricas posteriores poderão paralisar o crescimento, bem como retardar o desenvolvimento reprodutivo das plantas

Tabela 2: Médias dos dados obtidos para florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF) e intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF)

Tratamento	FM	FF	IFMF ¹
L31 – 70%	82a	84cb	101 ^a
L31 – 30%	81ab	84cb	103a
L91 – 70%	84ab	86b	101a
L91 – 30%	86b	89a	102a
3191 – 70%	81ab	80d	102a
3191 – 30%	79a	82cd	102a
9131 – 70%	78a	80d	101a
9131 – 30%	80a	83cd	103 ^a
CV	5.07%	2.30%	2.96%

Médias seguidas de letras minúsculas na coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey, ¹ dados transformados em (x+100) para análise estatística

Em relação ao florescimento feminino, a L91, sob condições de deficiência hídrica, é tardia em relação a todos os outros genótipos (Tabela 2). Algumas estratégias são adotadas pelas plantas para tolerar a deficiência hídrica. Na primeira delas, o escape, as plantas evitam o estresse por meio da redução no seu ciclo de vida, adotando uma rápida germinação ou florescimento antecipado (VERSLUES; JUENGER, 2011).

Não houve diferença estatística em relação ao IFMF dos materiais avaliados o que também foi observado por Dário e Baltieri (1998). Baixos valores de IFMF indicam sincronismo no florescimento, resultante da adaptação a determinado estresse, e está associado ao rendimento de grãos sob condições adversas (DURÃES et al., 1998)

Quanto aos resultados da análise enzimática foi observada maior expressão da superóxido dismutase (SOD), em folhas das plantas do híbrido 9131, submetidas ou não às condições de deficiência hídrica, quando comparada à observada para os demais genótipos, Figura 5. Foi observada maior expressão da enzima SOD na L31 em relação a L91, em folhas das plantas das plantas submetidas ou não ao déficit hídrico. Sabe-se que a SOD é uma das enzimas do sistema antioxidante e é responsável pela dismutação do superóxido, uma ERO.

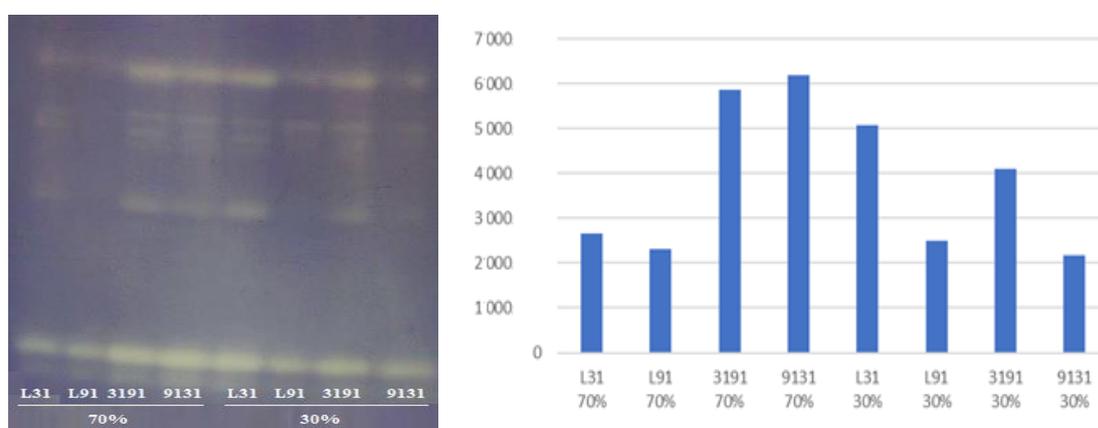


Figura 5. Expressões das enzimas superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de milho submetidas ao tratamento sem estresse hídrico – Tratamento controle (70 % da capacidade de retenção de água) e submetidas ao tratamento com estresse hídrico (30 % da capacidade de retenção de água).

Verifica-se que a expressão de SOD foi maior em plantas submetidas à restrição hídrica (Figura 5), o que pode estar associado à destoxificação celular. Santos, et al. (2017), verificaram que os níveis de irrigação e desfolha afetaram as trocas gasosas foliares em plantas de milho doce. Os autores concluíram que as plantas submetidas aos

estresses foliares, tendem a ativar um mecanismo de compensação fotossintética, podendo variar em função do grau de severidade e da disponibilidade hídrica a qual estão submetidas.

A SOD atua inicialmente, na transformação do superóxido em peróxido de hidrogênio, que é convertido em hidrogênio e água, pela ação de enzimas como, CAT, APX e POX (MALLICK et al., 2000; NOCTOR; FOYER, 2018).

Em relação a expressão da enzima catalase, maior atividade foi observada em folhas das plantas da linhagem L31 submetidas ao déficit hídrico, em relação à observada para a L91 nas mesmas condições. Este resultado também foi verificado por ABREU et al. (2017) em sementes de diferentes linhagens de milho produzidas em quatro populações de plantio. Foi observado que em sementes da linhagem 91 houve menor expressão da SOD e CAT classificada como tolerante à restrição hídrica..

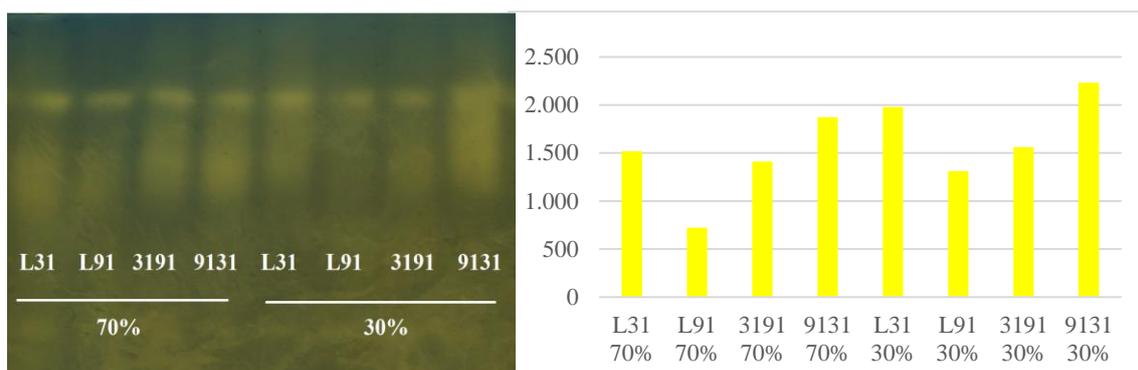


Figura 6: Expressão da enzima catalase em folhas de plantas de milho submetidas ao tratamento sem estresse hídrico – Tratamento controle (70 % da capacidade de retenção de água) e submetidas ao tratamento com estresse hídrico (30 % da capacidade de retenção de água).

A atividade semelhante das enzimas CAT e SOD, submetidas ou não à restrição hídrica, é indicativo da presença de um sistema antioxidante de defesa ao estresse, provocado pela restrição hídrica, o qual é mantido na fase de pré florescimento.

5 CONCLUSÕES

Caracteres agrônômicos relacionados ao florescimento de plantas de milho podem estar associados à tolerância ao déficit hídrico. Maior expressão das enzimas Superóxido Dismutase e Catalase são observadas em folhas de plantas de genótipos de milho, intolerantes e submetidas ao déficit hídrico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V.M. et al. *Heat-resistant protein expression during germination of maize seeds under water stress*. Genetics and Molecular Research, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, 2016.
- ABREU, V.M.; VON PINHO, E.V D.R.; DE CARVALHO, M.R.; NAVES, G.M.D.F.; VON PINHO, R.G.; DOS SANTOS, H. O. *Indirect selection for drought tolerance in maize through agronomic and seeds traits*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 287- 296, 2017.
- ABREU, V.M.; VON PINHO, E.V.R.; MENDES-RESENDE, M.P.; BALESTRE, M.; LIMA, A.C.; SANTOS, H.O.; VON PINHO, R.G.; *Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence*, Crop Science - Volume59, Issue1 January–February 2019 Pages 33-43 <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.03.0161>
- ADEBAYO, M. A.; MENKIR, A.; BLAY, E.; GRACEN, V.; DANQUAH, E.; HEARNE, S. *Genetic analysis of drought tolerance in adapted x exotic crosses of maize inbred lines under managed stress conditions*. Euphytica, v. 196, 261 p. 2014
- AGRAMA, H. A.; MOUSSA, M. E. *Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (Zea mays L.)* Euphytica, Wageningen, v. 91, n. 1, p. 89-97, 1996.
- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. *Modern corn production*. 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371 p.
- ALFENAS, A.C. *Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos*. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006. 627 p.
- ALVES, A. S. *Necessidades hídricas da cultura do milho sob irrigação suplementar nas condições edafoclimáticas da Chapada do Apodi*. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2013.
- AGRIANUAL 2016. *Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira*. São Paulo: FNP – Consultoria & Agroinformativos, 2016, p. 409-444.
- ARAUS, J. L.; SERRET, M. D.; EDMÉADES, G. O. *Phenotyping maize for adaptation to drought*. Front Physiol v. 3, p. 1–28, 2012.
- AYDINSAKIR, K.; ERDAL, S.; BUYUKTAS, D.; BASTUG, R.; TOKER, R. *The influence of regular deficit irrigation applications on water use, yield, and quality components of two corn (Zea mays L.) genotypes*. Agricultural water management, v. 128, p. 65-71, 2013.
- BÄNZINGER, M.; EDMÉADES, G.O.; BECK, D.; BELLON, M. *Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: from theory to practice*. Mexico: CIMMYT, 68 p. 2000.

BATTISTI R, SENTELHAS PC. *New agroclimatic approach for soybean sowing dates recommendation: a case study*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 2014; 18:1149-1156.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. **Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2004

BHANUPRAKASH, K.; YOGEESSHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **In Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.

BOLAÑOS J.; EDMEADES, G. O. *The importance of the anthesis– silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize*. Field Crops Research, v. 48, n. 1, p. 65–80. 1996.

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

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

CARVALHO, I. R.; SOUZA, V. Q., FOLLMANN, D. N., NARDINO, M., SCHMIDT, D., **Desempenho agrônômico de híbridos de milho em ambiente irrigado e sequeiro**. Enciclopédia Biosfera, Goiânia-GO, v. 10, n. 18, p. 1144-1153, 2014

CHOUDHURY, F. K., RIVERO, R. M., BLUMWALD, E., & MITTLER, R. (2017). *Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination*. The Plant Journal, 90(5), 856-867

CLEMENTE, D.I, ESTRESSE HÍDRICO SOBRE CARACTERES MORFOFISIOLÓGICOS E AGRONÔMICOS EM POPULAÇÕES DE MILHO [manuscrito] / Damião Inácio Clemente. - 2017. 109 f.: il.

CONAB (2012) **Companhia Nacional de Abastecimento**. Armazenagem / Capacidade estática. Disponível em: <<http://www.sisdep.conab.gov.br/capacidadeestatica>>. Acesso em: 21 de set.2021.

CONAB (2016) **Companhia Nacional de Abastecimento**. Armazenagem / Capacidade estática. Disponível em: <<http://www.sisdep.conab.gov.br/capacidadeestatica>>. Acesso em: 03 de nov.2021.

CONAB (2021) **Companhia Nacional de Abastecimento**. Armazenagem / Capacidade estática. Disponível em: <<http://www.sisdep.conab.gov.br/capacidadeestatica>>. Acesso em: 03 de nov.2021.

CONAB (2014) **Companhia Nacional de Abastecimento**. Safras / Séries Históricas. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 21 de set.2021.

CORRÊA, Elisete Marcia; POSSIK, Patrícia Abrão. **A análise de DNA por eletroforese**. Disponível:<http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biologia_molecular/testesgeneticos.pdf>. Acesso em: nov 2021.

DARIO, G. J. A.; BALTIERI, E. M. **Avaliação da eficiência do regulador vegetal Stimulate (citocinina + ácido indolbutírico + ácido giberélico) na cultura do milho (Zea mays L.)**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1998. 12p.

DEYHOLOS, M. K. (2010), *Making the most of drought and salinity transcriptomics*. Plant, Cell & Environment, 33: 648–654.

DURÃES, F.O.M.; GAMA, E.E.G.; MAGALHÃES, P.C.; MARRIEL, I.E.; CASELA, C.R.; OLIVEIRA, A.C.; LUCHIARI JR., A.; SHANAHAN, J.F. The usefulness of chlorophyll fluorescence in screening for water, N use efficiency, Al toxicity, and disease in maize. In: EASTERN AND SOUTHERN AFRICA MAIZE CONFERENCE, 7.; SYMPOSIUM ON LOW-NITROGEN AND DROUGHT TOLERANCE IN MAIZE. 2002, Nairobi. [Abstracts and Proceedings] Mexico: CIMMYT, 2002.

DURÃES, F. O. M. et al. **Caracterização fenotípica de linhagens de milho quanto ao rendimento e à eficiência fotossintética**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 355-361, 2005.

Gel electrophoresis. (2014). In Scitable. Disponível em: <<http://www.nature.com/scitable/definition/gel-electrophoresis-286>>. Acesso em nov. 2021

GOMES, C. A.; ASSIS, A. C. de L. P.; ALVES, D. P.; REIS, M. R. dos. **Aplicação de ácido salicílico como atenuador dos efeitos de déficit hídrico no milho**. The Journal of Engineering and Exact Sciences, v. 4, n. 03, 2018.

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

FEITOSA, S. S.; ALBUQUERQUE, M. B.; OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA, W. E.; BRITO NETO, J. F. **Fisiologia do Sesamum indicum L. sob estresse hídrico e aplicação de ácido salicílico**. Irriga, v.21, n. 4, p. 711-723, 2016. Disponível em: 10.15809/irriga.2016v21n4p711-723. Acesso em: 15 de out. 2021.

FERREIRA, D.F. *Sisvar*: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciência e Agrotecnologia, [S.l.], v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FREITAS, A. S. *Antioxidant enzymes expression in seeds and seedlings submitted to stress conditions* / Aline Silva Freitas. - 2020. 94 p. : il. Orientadora: Edila Vilela de Resende Von Pinho. Coorientador(a): Heloísa Oliveira dos Santos. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

GORNI, Pedro Henrique. **Atividade elicitora do ácido salicílico sobre o perfil de metabólitos primário e secundário com potencial antioxidante de Achillea**

Millefolium L. cultivada a 58 campo. 2018. 114f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. **Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants.** Plant Physiology and Biochemistry, [S.l.], v. 48, p. 909-930, 2010. GUPTA, D.K.; PALMA, J.M.; CORPAS, F.J. (Eds.). Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants. [S.l.]: Springer International Publishing, 2018.

LOBELL, D.B., GOURDJI, S.M., 2012. **The influence of climate change on global crop productivity.** Plant Physiology 160, 1686–1697.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 27 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 20).

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; OLIVEIRA, A. C. de. **Efeitos do quebramento do colmo no rendimento de grãos de milho.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 22, n. 3, p. 279-289, jul/set. 1998.

MAGALHÃES, P. C. DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção do milho.** Sete Lagoas: Embrapa, Milho e Sorgo, (Circular Técnica, 76), 10 p. 2006.

MALLICK, N.; MOHN, F.H. **Reactive oxygen species:** response to alga cells. Journal of Plant Physiology, Stuttgart, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MARIZ, B. L. et al. **Características agronômicas e desempenho produtivo de variedades de milho em ambientes da safrinha de 2014.** In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 13, 2015. Anais... 2015.

MATHOBO, R., MARAIS, D., STEYN, J.M., 2017. **The effect of drought stress on yield, leaf gaseous 39 exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans** (*Phaseolus vulgaris* L.). Agric. Water Manag. 180, 118–125.

MEWARD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. **Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application.** Scientia Horticulturae, v. 228, p.132–144, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008>. Acesso em: 15 de out. 2021.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. **Reactive oxygen gene network of plants.** Trends in Plant Science, [S.l.], v. 9, p. 490-498, 2004.

MOFOKENG, M. A.; MASHINGAIDZE, K. **Breeding and genetic management of drought in cowpea: Progress and Technologies.** Australian journal of crop Science, v. 1, n. 12, p. 1920- 1926, 2019. DOI: 10.21475 / ajcs.19.13.12.p1289

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

NIKOLAEVA, M.K., MAEVSKAYA, S.N., VORONIN, P.Y. *Activities of Antioxidant and Osmoprotective Systems and Photosynthetic Gas Exchange in Maize Seedlings under Drought Conditions.* *Russ. Journal of Plant Physiology*, v. 62, p. 314–321. 2015. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030139>

NOCTOR, G.; REICHHELD, J.P.; FOYER, C.H. *ROS-related redox regulation and signaling in plants.* *Semin Cell Dev Biol.*, n. 80, p. 3-12, 2018

NUNES-JUNIOR, F. H.; GONDIM, F. A.; FREITAS, V. S.; BRAGA, B. B.; BRITO, P. O. B.; MARTINS, K. **Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidativas em plântulas de girassol suplementadas com percolado de aterro sanitário e submetidas a estresse hídrico.** *Revista Ambiente & Água*, v.12, n. 1, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1964>. Acesso em: 15 de out. 2021.

OLIVEIRA, C. M. et al. **Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture.** *Crop Protection*, v. 56, p. 50–54, 2014.

OLUWARANTI, A.; AJANI, O. T. *Evaluation of Drought Tolerant Maize Varieties under Drought and Rain-Fed Conditions: A Rainforest Location.* *Journal of Agricultural Science*, v. 8, n. 7, p. 153, 2016.

OYEKUNLE, M.; BADU-APRAKU, B.; HEARNE, S.; FRANCO, J. *Genetic diversity of tropical early-maturing maize inbreds and their performance in hybrid combinations under drought and optimum growing conditions.* *Field Crops Research*, v. 170, p. 55-65, 2015

RAMOS, H. M. M.; BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; NASCIMENTO, F. N. **Produtividade de grãos verdes do feijão-caupi sob diferentes regimes hídricos.** *Engenharia Agrícola*, v.34, n.4, p.683-694, 2014. Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-69162014000400008>. Acesso em: 15 de out. 2021.

ROSEGRANT, M. W. *Challenges and policies for global water and food security.* *Econ. Rev.* p. 5-20, 2016.

SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.

SANTOS, M.S.; Disponível em: <https://maissoja.com.br/deficit-hidrico-e-os-danos-no-sistema-de-producao-soja-milho/>. Acesso em: 02 de nov.2021.

SANTOS, O.F.; LIMA, S.F.; PAIVA NETO, V.B.; PIATI, G.L.; OSÓRIO, C.R.W.S.; SOUZA, H.M. *Defoliation of sweet corn plants under irrigation depths and its impact*

on gas Exchange. Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental. 21 (12). Dec 2017. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n12p822-827>

SEVANTO, S. *Drought impacts on phloem transport*. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 43, p. 76–81. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.01.002>
Acesso em: 02 de nov.2021.

SHARMA, P. et al. *Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions*. *Journal of Botany*, v.2012, p.1-26, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037>. Acesso em: 04 out. 2012.

SILVA, K.M.J. **Desempenho agrônômico, qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de milho submetidas ao tratamento químico** / Karen Marcelle de Jesus Silva. - 2018. 94 p. Orientador(a): Renzo Garcia Von Pinho. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014, 1088p.

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

SUN, Jiali et al. **The inhibition of photosynthesis under water deficit conditions is more severe in flecked than uniform irradiance in rice (*Oryza sativa*) plants**. *Functional Plant Biology*, v. 44, n. 4, p. 464-472, 2017.

TAIZ, E.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal** . 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

USDA. **Statistics of grain and feed**. Disponível em: https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2015/Chapter01.pdf . Acesso em: 15 de out. 2021.

VILELA, D.R. **Características agrônômicas e expressão de enzimas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico em linhagens de milho**. 2019. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

XIAO, Y. N.; ZHANG, S. H.; LI, M. S. **Identification of quantitative trait loci (QTLs) for flowering time using SSR marker in maize under water stress**. *Korean Journal of Genetics*, Seoul, v. 26, n. 4, p. 405- 413, 2004.