Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Comportamento anatômico, fisiológico e agrônômico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos

Marcelo Nascimento Baldo

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Agronomia. Área de
Concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2007

Marcelo Nascimento Baldo
Engenheiro Agrônomo

**Comportamento anatômico, fisiológico e agrônômico do milho (*Zea mays* L.)
submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos**

Orientador: Prof. Dr. **ANTONIO LUIZ FANCELLI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de Concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Baldo, Marcelo Nascimento

Comportamento anatômico, fisiológico e agrônômico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos / Marcelo Nascimento Baldo.
- - Piracicaba, 2007.

91 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Aclimação 2. Anatomia vegetal 3. Estresse hídrico 4. Fenologia 5. Fisiologia vegetal – Desempenho 6. Milho I. Título

CDD 633.15

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo pela minha formação.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido para realização do curso de Mestrado.

Ao Prof. Dr. Antônio Luiz Fancelli pela orientação, dedicação, amizade e paciência durante os nossos anos de trabalho em conjunto.

Ao Prof. Dr. Marcílio de Almeida e a Dra. Cristina Vieira de Almeida pela orientação e ajuda na realização das análises anatômicas.

À Cássia pela ajuda na realização das análises anatômicas.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, pela ajuda na condução do experimento.

À minha namorada Vanessa pelo amor, compreensão, ajuda, companheirismo e força nos momentos difíceis durante a realização deste projeto.

Aos meus pais, Edson e Leonilda, ao meu irmão André e a minha cunhada Sabrina por toda confiança, incentivo e apoio nesta etapa da minha vida.

Aos amigos e amigas que me apoiaram durante esse tempo, André, Guy, Ruan, Fernanda, Daniela e Tais pela amizade e companheirismo.

Aos estagiários do Prof. Dr. Antônio Luiz Fancelli pela ajuda na condução do experimento.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, auxiliaram na realização deste trabalho.

E a Deus, principal responsável por tornar tudo possível.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Fenologia da cultura de milho	12
2.1.1 Estádio V4	13
2.1.2 Estádio V8	15
2.1.3 Estádio V12	16
2.2 Conceituação de estresse	17
2.2.1 Fase 1: alarme	18
2.2.2 Fase 2: resistência ou rustificação	18
2.2.3 Fase 3: ajustamento ou aclimação	19
2.2.4 Efeitos do estresse hídrico no milho	20
2.2.5 Efeitos do estresse por luz no milho	24
2.3 Anatomia foliar do milho	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Caracterização do local e da área experimental	30
3.1.1 Solo	31
3.1.2 Dados climatológicos	32
3.2 Genótipo empregado	33
3.3 Tratamentos estudados	33
3.4 Delineamento experimental	36
3.5 Condução do experimento	36
3.5.1 Preparo do solo	36
3.5.2 Adubação	37
3.5.3 Semeadura	37
3.5.4 Tratos culturais	38
3.5.5 Colheita	39
3.6 Avaliações agronômicas da cultura do milho	39

3.6.1 Altura das plantas	39
3.6.2 Número de folhas	39
3.6.3 Índice de área foliar	39
3.6.4 Diâmetro médio do colmo	40
3.6.5 Componentes de produção	40
3.6.5.1 Número médio de grãos por espiga	40
3.6.5.1.1 Número médio de grãos por fileira	40
3.6.5.1.2 Número médio de fileiras por espiga	41
3.6.5.2 Massa de mil grãos	41
3.6.6 Produtividade	41
3.7 Análises anatômicas e morfológicas das plantas de milho	42
3.7.1 Anatomia da folha	42
3.7.2 Anatomia de estruturas reprodutivas e determinação do potencial produtivo	43
3.7.3 Análise anatômica dos colmos	43
3.8 Análises fisiológicas das plantas de milho	46
3.8.1 Assimilação de dióxido de carbono (CO ₂) e respiração de escuro	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Avaliações anatômicas	48
4.1.1 Características anatômicas do colmo	48
4.1.2 Número de estômatos nas folhas de milho	54
4.1.3 Características anatômicas internas das folhas de milho	55
4.2 Avaliações fisiológicas	66
4.2.1 Taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO ₂)	66
4.2.2 Respiração de escuro	67
4.3 Avaliações agronômicas	69
4.3.1 Altura de plantas	69
4.3.2 Diâmetro do colmo	70
4.3.3 Índice de área foliar	72
4.3.4 Número de folhas	73
4.3.5 Potencial produtivo	74

4.3.6 Componentes de produção	76
4.3.7 Produtividade	80
4.4 Considerações finais	82
5 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS	85

RESUMO

Comportamento anatômico, fisiológico e agronômico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios de desenvolvimento

Com o objetivo de avaliar o comportamento agronômico, fisiológico, bem como as características anatômicas e morfológicas do milho submetido a estresses por água e luz de forma isolada e conjunta, entre os estádios de desenvolvimento V2 – V5, V6 – V9 e V10 – V13, foi realizado o presente experimento, na área experimental do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, no município de Piracicaba, Estado de São Paulo, no ano agrícola de 2005/2006. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$, contendo 10 tratamentos e 3 repetições. As parcelas foram compostas por 4 linhas de milho espaçadas 0,7 m entre si com 5 m de comprimento. As avaliações anatômicas foram compostas por: características organográficas das estruturas do colmo; número de estômatos; espessura da epiderme superior e inferior; diâmetro das bainhas do feixe vascular (μm); distância entre as bainhas do feixe vascular diâmetro dos elementos de vasos (μm); diâmetro dos vasos crivados (μm); distância entre as linhas de células buliformes; tamanho das linhas de células buliformes e espessura do mesofilo (μm). As análises fisiológicas foram compostas pela determinação da taxa de assimilação de dióxido de carbono e respiração de escuro. As análises agronômicas realizadas foram: produtividade; componentes de produção (número de espigas por planta, número de fileiras de grãos por espiga e número de grãos por fileira); potencial produtivo; altura de plantas; diâmetro do colmo; índice de área foliar e número de folhas por planta. Os resultados obtidos permitem concluir que os estresses por água e luz aplicados concomitantemente são os mais prejudiciais para todas as características analisadas, seguido do estresse hídrico isoladamente e do estresse por luz. Ainda, no que se refere às épocas de estresse, foi possível concluir que, para a produtividade de grãos, quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento de ocorrência do estresse, maiores são as perdas de produtividade. As outras características agronômicas como altura de plantas, diâmetro do colmo e índice de área foliar foram mais prejudicadas pela ocorrência dos fatores de estresse aplicados entre os estádios V6 e V9. As análises fisiológicas demonstraram que a cultura do milho submetida a estresses por água e luz, apresenta um comprometimento irreversível das suas funções fisiológicas, não conseguindo voltar ao nível metabólico normal apresentado antes da ocorrência dos estresses. Quanto aos caracteres morfológicos externos e internos estudados foi possível observar um acúmulo de lignina nos colmos de milho nos tratamentos relacionados aos estresses hídricos, além do aumento na quantidade de estômatos nas folhas do milho pela ocorrência dos fatores de estresse estudados. As demais características morfológicas avaliadas não foram influenciadas pelos fatores de estresse e épocas de ocorrência de estresses estudados.

Palavras-chave: Milho; Estresse hídrico; Estresse por luz; Desempenho fisiológico; Produtividade.

ABSTRACT

Anatomical, physiological, and agronomical behaviour of maize (*Zea mays* L.) submitted at environment stresses in different phenology stages

With the aim of studying the agronomical and physiological behavior and the anatomical characteristics of the corn referred to the stress for water, light and the two concomitant, among the stages of development V2 – V5, V6 – V9 and V10 – V13, the present was made at experimental area of ESALQ/USP, in Piracicaba, São Paulo State, during the 2005/2006 season. The experimental design used was randomized blocks with a factorial scheme 3 x 3 +1 containing 10 treatments and 3 repetitions. The plots were composed by four lines of corn interrupted 0,7 m among themselves with 5 m of length. The anatomical available were composed by characteristics of the structure of thatch; number of stomata; thickness of superior and inferior epidermis; diameter of the vascular bundle sheath (μm); distance among vascular bundle (μm); vessel diameter (μm); sieve tube diameter; distance among bulliform cells lines; bulliform cells lines size; and thickness of mesophyll (μm). The physiological analyses were composed by determination of the rate assimilation of carbon dioxide and respiration. The agronomical analysis done were: productivity; components of production (number of ears by plant, number of files of grain by ears and number of grains by files); productive potential; height of the plants; diameter of the thatch; leaf index area and number of leaves by plants. The results obtained allow to conclude the stress by water and light applied together are the most harmful for all the analysed characteristics, followed by the water stress isolatedly of the stress, it was possible to conclude that, to the productivity if the stage of development of the plant is advanced, the loss of productivity are greater. The other agronomical characteristics as the height of the plants, diameter of the thatch, leaf index area and safe keeping were more harmful by the occurrence of the stress factors applied between V6 and V9 stages. The physiological analyses showed that the corn crop suffers an irreversible compromise of its physiological functions. As the anatomical and morphological characteristics studied it was possible to observe an accumulation of lignin in the thatch of corn in the treatments that involved the water stress and increase at the quantity of stomata in the leaves of the corn by the factors of studied stress and the other anatomical and morphological available characteristics non influenced by the factors of stress and time of the studied occurrence.

Keywords: Maize; Water stress; Clouding stress; Physiological performance; Productivity.

1 INTRODUÇÃO

O milho, em função do seu alto potencial de produção, composição química e valor nutricional, constitui-se, atualmente, em um dos mais importantes cereais cultivados no mundo. No Brasil, o milho é cultivado em aproximadamente 11,5 milhões de hectares, alcançando produtividade média, considerando-se a safra normal e a safrinha, de 3.353 kg ha^{-1} , perfazendo produção total 35 milhões de toneladas.

O mencionado cereal é considerado como sendo uma das espécies mais eficientes na conversão de energia radiante e, conseqüentemente, na produção de biomassa, visto que uma semente que pesa, em média, 0,260 g, resulta, em um período de tempo próximo a 135 dias, cerca de 0,8 a 1,25 kg de biomassa por planta e 180 a 250 g de grãos por planta, multiplicando, aproximadamente, 1000 vezes o peso da semente que a originou (FANCELLI, 2003).

Essa extraordinária capacidade de desenvolvimento e produção se deve, principalmente, à elevada acumulação de fotoassimilados que o referido cereal apresenta, em função do seu mecanismo fotossintético tipo C4. Entretanto, a fotossíntese e todos os outros processos fisiológicos e bioquímicos responsáveis pelo desempenho da planta estão intimamente ligados aos fatores abióticos água, luz, temperatura e nutrientes, que devem se apresentar em quantidades e valores adequados durante todo o ciclo da cultura, para que as plantas expressem seu máximo potencial produtivo.

Assim, apesar do elevado potencial produtivo, o milho apresenta acentuada sensibilidade a estresse de natureza abiótica, que aliada a sua baixa plasticidade foliar, acentuada interação ambiental, reduzida prolificidade e baixa capacidade de compensação efetiva, exige que o seu cultivo necessite ser rigorosamente planejado e criteriosamente manejado, objetivando a obtenção de produtividades satisfatórias e lucrativas..

Nesse sentido, o conhecimento das interações desses fatores abióticos, essenciais para a produção, com os estádios de desenvolvimento da cultura, é fundamental para o estabelecimento de estratégias adequadas de manejo, visto que,

em vários estádios de desenvolvimento da cultura ocorrem eventos morfológicos, anatômicos e fisiológicos responsáveis pela definição do potencial de produção, especialmente entre os estádios V4 – V6 (quarta e sexta folha desenvolvida), V7 – V10 (sétima e décima folha desenvolvida) e V12 – V14 (décima segunda e décima quarta folha desenvolvida), onde ocorre a diferenciação floral (início da definição do potencial produtivo), formação das fileiras únicas de ovários (definição do número de fileiras por espiga) e diferenciação total do tecido meristemático apical da espiga e divisão das fileiras únicas de ovários em duplas (definição do tamanho da espiga), respectivamente.

Ainda, torna-se importante ressaltar que, o impacto da disponibilidade inadequada dos fatores básicos de produção durante as etapas de desenvolvimento vegetativo, principalmente no que se refere à disponibilidade de água e radiação, é muito pouco estudada, sendo tais estudos concentrados na fase reprodutiva da cultura, a partir do estágio VT (florescimento), momento a partir do qual o potencial de produção da planta já está praticamente definido. Sendo assim, assume relevada importância o conhecimento das interações desses tipos de estresses com os mencionados estádios de desenvolvimento da cultura, objetivando a adequação dos genótipos às diversas épocas de semeadura e regiões produtoras, visando sempre à minimização dos impactos desses agentes estressantes no potencial produtivo da espécie.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho da cultura de milho submetida aos estresses por água e luz, nos estádios de desenvolvimento V4 (quarta folha desenvolvida), V8 (oitava folha desenvolvida) e V12 (décima segunda folha desenvolvida), verificando os efeitos desses fatores de forma isolada e conjunta sobre as características morfológicas, anatômicas e fisiológicas do milho e seus reflexos no desempenho e produtividade da cultura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fenologia da cultura de milho

Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), o milho é uma planta de ciclo vegetativo muito variado, evidenciando desde materiais genéticos (híbridos ou variedades cultivadas) extremamente precoces, cuja polinização pode ocorrer 30 dias após a emergência, até mesmo aqueles cujo ciclo vital pode alcançar 300 dias. Contudo, em nossas condições, a cultura de milho apresenta o período compreendido entre a semeadura e a colheita entre 110 e 180 dias, em função das características dos materiais genéticos considerados (superprecoce, precoce e tardio).

De acordo com Fancelli e Dourado Neto (1999), o ciclo da cultura compreende as seguintes etapas de desenvolvimento: (i) germinação e emergência: período compreendido desde a semeadura até o efetivo aparecimento da plântula, o qual em função da temperatura e umidade do solo pode apresentar 5 a 12 dias de duração; (ii) crescimento vegetativo: período compreendido entre a emissão da segunda folha e o início do florescimento. Tal etapa apresenta extensão variável, sendo este fato comumente empregado para caracterizar os tipos de materiais genéticos (híbridos ou variedades) de milho, quanto ao comprimento do ciclo; (iii) florescimento: período compreendido entre o início da polinização e o início da frutificação, cuja duração raramente ultrapassa 10 dias; (iv) frutificação: período compreendido desde a fecundação até o enchimento completo dos grãos, sendo sua duração estimada entre 40 e 60 dias; (v) maturidade: período compreendido entre o final da frutificação e o aparecimento da “camada negra”, sendo este relativamente curto e indicativo do final do ciclo de vida da planta, denominado ponto de maturidade fisiológica.

A formação da “camada negra” representa o rompimento do elo de ligação entre a planta mãe e o fruto, caracterizando o momento ideal para a colheita, em função da máxima produção concentrada nesse estágio, entretando, a alta umidade contida nos grãos (35 a 45%) impede a realização dessa prática, mediante o emprego de colhedoras convencionais.

Entretanto, para maior facilidade de manejo e estudo, bem como objetivando a possibilidade do estabelecimento de correlações entre elementos fisiológicos, climatológicos, fitogenéticos, anatômicos, morfológicos e fitotécnicos, com desempenho da planta, o ciclo da cultura do milho foi dividido em alguns estádios distintos de desenvolvimento, segundo Ritchie e Hanway (1989): (i) VE (emergência); (ii) V1 (planta com a primeira folha desenvolvida); (iii) V2 (segunda folha desenvolvida); V3 (terceira folha desenvolvida); (v) V4 (quarta folha desenvolvida); (vi) V(n) (“n” igual ao número da folha desenvolvida); (vii) VT (emissão da inflorescência masculina); (viii) R1 (emissão da inflorescência feminina); (ix) R2 (grãos bolha d’água); (x) R3 (grãos leitosos); (xi) R4 (grãos pastosos); (xii) R5 (formação de dente) e R6 (maturidade fisiológica) (RITCHIE; HANWAY, 1989).

Porém, segundo Kiniry e Bonhomme (1991), os estádios de desenvolvimento anteriores ao surgimento das inflorescências femininas são identificados mediante a avaliação do número de folhas plenamente expandidas ou desdobradas. Assim, a folha do milho pode ser considerada desdobrada quando a mesma apresenta a linha de união do limbo foliar com a bainha (lígula) facilmente visível ou identificável. Para os estádios posteriores à emissão da inflorescência feminina, a identificação deverá ser efetuada com base no desenvolvimento e consistência dos grãos (Fancelli e Dourado Neto, 2000).

2.1.1 Estádio V4

Define-se estágio V4 quando 50% das plantas presentes na área cultivada apresentam quatro folhas totalmente desdobradas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Nessa fase, o sistema radicular em desenvolvimento já se encontra com considerável porcentagem de pêlos absorventes e ramificações diferenciadas, sugerindo que em períodos posteriores ao estágio V4, operações inadequadas de cultivo muito próximas às plantas poderão afetar a densidade e distribuição das raízes,

com conseqüente redução no rendimento da cultura (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993).

O crescimento e desenvolvimento radicular são dependentes do suprimento de carboidratos sintetizados e acumulados na parte aérea, que por sua vez depende da interceptação da radiação solar, assimilação de dióxido de carbono e absorção de água e nutrientes do solo. Assim, o estresse hídrico e o déficit de radiação incidente acarretam a redução do crescimento e desenvolvimento do sistema radicular da planta (FANCELLI; DOURADO NETO, 1999).

Devido ao sincronismo das partes aérea e subterrânea da planta de milho, apesar das características adaptativas, anatômicas e funcionais existentes na parte aérea, a profundidade e o tipo de ramificação das raízes são fatores preponderantes a quaisquer condições adversas, como a tolerância à seca (KRAMER, 1974).

Loomis e Williams (1963); Uhart e Andrade (1995) citam que o desenvolvimento do sistema radicular está associado ao desenvolvimento da parte aérea (sincronismo). Assim, a relação entre essas duas estruturas varia em função das condições do meio e do estágio fenológico da planta, sendo que a disponibilidade adequada de nitrogênio promove o aumento dessa relação, enquanto que o estresse hídrico induz a sua redução.

No estágio V4, tanto a iniciação das folhas como das espigas estarão completas e a iniciação da panícula já poderá ser observada microscopicamente na extremidade apical de formação do colmo, abaixo da superfície do solo. Portanto, nesta etapa do desenvolvimento da planta, em função do início do processo de diferenciação das estruturas reprodutivas, o potencial de produção da planta estará sendo definido (RITCHIE; HANWAY, 1989; MAGALHÃES et al., 1993; FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

A disponibilidade de água nesse estágio é fundamental, podendo o déficit causar diminuição do número de folhas, da área foliar, do número potencial de flores e redução no desenvolvimento do sistema radicular. O excesso de umidade ou encharcamento do solo, quando o ponto de crescimento ainda se encontra abaixo da superfície do solo, pode provocar distúrbios deletérios à planta, mesmo em curta duração, em função da deficiência de suprimento de oxigênio e, conseqüentemente, de respiração, provocando

a morte das regiões meristemáticas da parte aérea e das estruturas recém diferenciadas (ALDRICH et al., 1982; TAIZ; ZEIGER, 2004).

2.1.2 Estádio V8

Define-se estágio V8 quando 50% das plantas presentes na área cultivada apresentam oito folhas totalmente desdobradas.

Este período é caracterizado pelo crescimento do colmo em diâmetro e comprimento, bem como pela aceleração do processo de formação da inflorescência masculina, além da presença de 8 folhas desdobradas, indicativa deste estágio (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993).

Nesta fase, o colmo não atua somente como suporte de folhas e inflorescências, mas principalmente como uma estrutura destinada ao armazenamento de sólidos solúveis que serão utilizados, posteriormente, na formação dos grãos. Assim, estresse hídrico nessa etapa pode afetar o comprimento dos internódios, provavelmente pela inibição da elongação das células em desenvolvimento, concorrendo desta forma para a diminuição da capacidade de armazenagem de sintetizados no colmo (MAGALHÃES et al., 1994; FANCELLI, 2003). Da mesma forma, a baixa incidência de radiação solar causada por períodos excessivamente nublados, pode também contribuir para a redução do acúmulo de açúcares no colmo, em função da redução da taxa fotossintética da planta (RITCHIE; HANWAY, 1989).

Por ocasião dos estádios V6/V7, normalmente evidencia-se a etapa final da formação das fileiras únicas de ovários da inflorescência feminina. Assim, o número de fileiras únicas de ovários já estará definido, faltando apenas a divisão em pares, que ocorrerá entre V7 e V9. A taxa de desenvolvimento das espigas incrementa-se entre o sexto e nono nó acima do solo, coincidindo com acentuada taxa de absorção de nutrientes por parte da planta, notadamente potássio e nitrogênio (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993).

Neste estágio (V8), o sistema radicular encontra-se bem distribuído no solo, favorecendo o aproveitamento de água e de nutrientes. Nesse estágio, evidencia-se

maior tolerância da planta ao excesso de chuvas e encharcamento. Entretanto, inundações por período de tempo excedente a 5 dias poderão acarretar prejuízos consideráveis e irreversíveis no metabolismo da planta (FANCELLI; DOURADO NETO, 1999).

2.1.3 Estádio V12

O estágio V12 é caracterizado quando 50% das plantas presentes na área cultivada apresentam doze folhas totalmente desdobradas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Neste estágio, além da alta taxa de crescimento experimentada pelo colmo e inflorescências, pode ocorrer também a perda de quatro folhas mais velhas, bem como o início do desenvolvimento das raízes aéreas (esporões), a partir do primeiro nó presente acima da superfície do solo (TOLLENNAR et al., 1979).

Neste período, a distribuição das chuvas, a incidência de radiação, a disponibilidade de nutrientes, bem como a duração do intervalo compreendido entre os estádios V8 e VT (emissão da inflorescência masculina), constituem-se nos fatores decisivos na confirmação da produção e rendimento da cultura, principalmente quanto ao tamanho da espiga (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993). Por essa razão é que, em algumas situações, os genótipos superprecoces podem apresentar menor produtividade, pois tal período de tempo destinado à formação das espigas pode ser relativamente curto, quando comparado àquele disponível aos genótipos de ciclo mais longo, em função das diferenças relativas às suas exigências térmicas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000)

Na emissão da décima segunda a divisão das fileiras únicas de ovários, em duplas, encontra-se na fase final, evidenciando também o desaparecimento do tecido meristemático do ápice da espiga. Assim, neste momento, constata-se a finalização da etapa de definição do número potencial de grãos na espiga. Entretanto, em alguns tipos de genótipos, o tecido meristemático ainda pode persistir até próximo do estágio VT e, nesse caso, o número potencial de grãos por espiga poderá se estender até o

estádio fenológico mencionado (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993; FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Assim, a ocorrência de deficiências nutricionais, baixa disponibilidade de água e luz, ocorrência de granizo, ataque de pragas e presença de doenças, podem comprometer seriamente o potencial produtivo da espécie (FANCELLI; DOURADO NETO, 1999).

Por ocasião do estágio V12, a planta apresenta cerca de 85 – 90% da área foliar total e a panícula atinge o seu desenvolvimento máximo, ao mesmo tempo em que se inicia o crescimento dos estilos-estigma, que mais tarde propiciarão a fecundação dos óvulos pelos grãos de pólen (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

2.2 Conceituação de estresse

Segundo Larcher (2000) e Fancelli (2003), estresse é um conjunto de reações de um organismo a agressões de ordem física, fisiológica, ou de outra natureza, capaz de interferir em seu estado normal de equilíbrio, ou seja, na sua homeostase.

O fator responsável pela alteração do estado de equilíbrio de um organismo é designado como agente estressante (TAIZ; ZEIGER, 2004). Portanto, em função da natureza do agente estressante pode-se qualificar o tipo de estresse como biótico (patógenos, insetos-praga, homem, além de outros) e abiótico (água, luz, temperatura, nutrientes, além de outros) (FANCELLI, 2003).

Em suma, o estresse determina um desvio significativo das condições ótimas para a vida, induzindo a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais podem ser reversíveis, em princípio, mas podem se tornar permanentes em situações drásticas. Mesmo se uma condição de estresse apresentar caráter temporário, a vitalidade da planta pode se tornar cada vez menor conforme a duração do estado de estresse (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Para Seyle (1973), o estresse pode ser considerado como um estado funcional ou como uma resposta dinâmica do organismo como um todo. Na abordagem funcional, o estudo não se restringe ao binômio estressor-resposta específica, mas também

abranje efeitos não específicos diretos. O padrão de reação induzido em resposta ao estresse é característico de uma síndrome de estresse e também inclui os processos que conduzem à resistência, sendo estes, por sua vez, de natureza homeostática, normalizando as funções vitais das plantas e aumentando sua capacidade de resistência. A resposta ao estresse pode ser vista como uma situação ao esforço da planta para se adaptar aos processos potencialmente letais predominantes no protoplasma. Desta forma, a dinâmica do estresse compreende a perda de estabilidade vital, bem como a promoção da resistência e do restabelecimento. Portanto, coerção, adaptação e resistência são componentes inter-relacionados de um mesmo evento (LARCHER, 2000).

De acordo com o conceito dinâmico de estresse, o organismo sob essas condições desfavoráveis atravessa uma sucessão de fases características.

2.2.1 Fase 1: alarme

De acordo com Larcher (2000), o início do distúrbio é seguido pela perda da estabilidade das estruturas, principalmente das membranas celulares, e das funções que mantêm as atividades vitais (processos bioquímicos e metabolismo de energia). Neste contexto, a intensificação da ação do estressor resulta em um colapso agudo da integridade celular, antes mesmo que as medidas defensivas possam se tornar efetivas. Assim, nesta etapa, dependendo da intensidade, natureza e duração do estresse, pode ocorrer a morte do organismo.

2.2.2 Fase 2: resistência ou rustificação

A situação determinada pela manutenção da ação do agente estressor conduz o organismo estressado ao desenvolvimento de estratégias que levam à tolerância da situação instaurada, conhecida como etapa de restituição. Por outro lado, o início da neutralização do efeito de choque e da retomada das atividades vitais por parte do

organismo afetado, configura-se o estado de resistência ou rustificação (LARCHER, 2000; FANCELLI, 2003).

2.2.3 Fase 3: ajustamento ou aclimação

Após a superação plena da fase crítica (quando possível) e a manifestação da devida resistência, verifica-se a restauração de um novo estado de equilíbrio ou de estabilização, denominado de ajustamento (LARCHER, 2000).

Todavia, se o organismo for exposto de forma intensa e prolongada a situação de estresse, poderão se manifestar injúrias irreversíveis, mesmo que esses prejuízos ao desenvolvimento do organismo não determinem a sua morte. Essa situação pode tornar a planta mais susceptível à ação de patógenos e insetos-praga que ocorrerão como consequência da diminuição das defesas do hospedeiro, contribuindo para o colapso prematuro do vegetal (FANCELLI, 2003).

Ressalta-se ainda que, qualquer injúria provocada por agentes estressantes poderá ser reparada na etapa de restituição, a qual corresponde ao início da fase de resistência (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O estado de estresse envolve mecanismos específicos de resistência em todos os níveis funcionais e, em muitos casos, eles são induzidos por ação genética diferenciada, representada pela síntese de proteínas de estresse, isoenzimas especiais e, principalmente, de compostos oriundos do metabolismo secundário das plantas. (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Da mesma forma, o estado de estresse impõe a manifestação de diferentes tipos de mecanismos não específicos ou de largo espectro, de acordo com o grau de severidade do distúrbio. Assim, as plantas poderão promover mudanças nas atividades enzimáticas, aumentando a atividade das peroxidases, catalases, glutadionas e redutases, bem como favorecer o acúmulo de antioxidantes (ácido ascórbico e tocoferol), de substâncias osmoticamente ativas (prolina, glicina betaína e poliol), de outras substâncias do metabolismo secundário como os polifenóis, antocianinas e, sobretudo, a biossíntese de poliaminas e de outros hormônios vegetais, como o ácido

abscísico, ácido jasmônico e etileno (HSIAO, 1973; LARCHER, 2000; SCHROEDER et al., 2001; FANCELLI, 2003; TAIZ; ZEIGER, 2004).

As respectivas fases e reações das plantas aos diversos tipos de estresses são apresentados na figura 1.

Figura 1 - Sucessão de fases e possíveis reações das plantas a diferentes intensidades de estresse (adaptado de LARCHER, 2000)

2.2.4 Efeitos do estresse hídrico no milho

A necessidade de adequado suprimento hídrico para o pleno desenvolvimento dos vegetais decorre das múltiplas funções que ela desempenha na fisiologia das plantas, pois praticamente todos os processos metabólicos são influenciados pela sua presença. Dessa forma, deficiências hídricas iniciais podem afetar sensivelmente o processo germinativo, comprometendo o estabelecimento da cultura. Deficiências posteriores poderão paralisar o crescimento, bem como retardar o desenvolvimento reprodutivo das plantas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Segundo Morgan (1984), a resposta imediata das plantas ao estresse hídrico é a diminuição da área foliar, que ocorre em função da desidratação sofrida pelas células.

No caso do milho, constata-se a presença de linhas de células buliformes, que promove a curvatura (enrolamento) dos bordos das folhas para cima, com o objetivo de se diminuir, ainda mais, a superfície de exposição das mesmas.

Concomitantemente a este fato verifica-se o fechamento dos estômatos em resposta, principalmente, da produção e liberação de ácido abscísico (ABA) das células do mesofilo foliar para o apoplasto foliar (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Segundo Schroeder et al. (2001), o ABA estimula o aumento da concentração de Ca^{+2} citossólico pela indução, tanto do influxo através de canais de membrana plasmática, quanto da liberação do cálcio no interior do citosol, a partir de compartimentos internos, como o vacúolo central. Assim, a combinação desses dois fatores provoca grande aumento da concentração de Ca^{+2} no interior das células-guardas, o que é suficiente para desencadear o fechamento estomático (MANSFIELD; MCAINSH, 1995). Além disso, sinais químicos das raízes podem afetar as respostas estomáticas ao estresse hídrico (DAVIES et al., 2002).

Quando o solo apresenta baixo conteúdo de água, seu potencial mátrico torna-se mais negativo. As plantas continuam absorvendo água enquanto seu potencial hídrico for menor (mais negativo) do que o da água do solo, entretanto, com o aumento do déficit hídrico faz-se necessário com que às células tenham seu potencial hídrico diminuído pela entrada e aumento da concentração de uma variedade de solutos, incluindo açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e íons inorgânicos, especialmente potássio (MCCREE; RICHARDSON, 1987).

Ainda, segundo Sung e Krieg (1979), o estresse hídrico moderado e a consequente desidratação das células do mesofilo são capazes de promover acentuada diminuição da taxa fotossintética e da eficiência do uso da água. Os resultados de muitos estudos têm mostrado que o efeito relativo do estresse hídrico sobre a condutância estomática é significativamente maior do que sobre a fotossíntese, ou seja, a fixação do CO_2 é diminuída não somente pela menor entrada desse gás pelos estômatos, mas também pelos danos diretos da desidratação (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Segundo Hsiao (1973), a diminuição da taxa de crescimento das plantas em função da ocorrência de estresse está intimamente ligada à diminuição da pressão de turgor das células e à redução dos níveis e atividade da auxina (AIA) e citocininas.

Plantas submetidas ao estresse hídrico apresentam menor produção de auxina e menor atividade das citocininas, hormônios essenciais para a divisão e expansão celular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em contrapartida, a produção de etileno aumenta em resposta ao estresse hídrico, ampliando a taxa de abscisão de flores, frutos e folhas (HSIAO, 1973).

Segundo Frattini (1975), as maiores exigências em água da cultura do milho se concentram na fase de emergência, florescimento e formação do grão. Todavia, no período compreendido entre 15 dias antes e 15 dias após o aparecimento da inflorescência masculina, o requerimento de um suprimento hídrico satisfatório, aliado a temperaturas adequadas torna tal período extremamente crítico. Em decorrência desse fato, a mencionada fase deve ser criteriosamente planejada, com o intuito de coincidir com o período estacional que apresenta temperaturas favoráveis (25 a 30°C) e chuvas frequentes (FANCELLI, 1999).

Segundo Pandey et al. (2000), períodos de deficiência hídrica de uma semana, por ocasião da emissão da inflorescência masculina, podem promover queda na produção ao redor de 50%; ao passo que sob as mesmas condições, deficiência hídrica posterior à polinização acarretará danos variáveis entre 25 e 32%.

Ainda, condições de estresse representadas pela ocorrência de déficit hídrico, nebulosidade prolongada, deficiências nutricionais e elevada população de plantas afetam o sincronismo pendão-espiga, com conseqüente redução do número final de grãos por espiga, principalmente pelo retardamento da emissão dos estilos-estigma (TOLLENAAR, 1978).

O'Neill et al. (2004), avaliando o efeito do déficit hídrico em 12 híbridos de milho no Corn Belt Americano, sobre o desempenho produtivo e eficiência no uso do nitrogênio pelas plantas, a partir do estágio V9, observaram que o fornecimento de metade da água necessária para o pleno desenvolvimento das plantas ocasionou redução mínima de produtividade da ordem de 15,4%. Nos híbridos mais sensíveis a esse tipo de estresse, as perdas foram superiores a 25%, principalmente devido à constatação de redução do número de espigas por área e da massa dos grãos. Ainda, no que se refere a eficiência no uso do nitrogênio, os mencionados autores verificaram

que o déficit hídrico reduziu em cerca de 10% o aproveitamento do nitrogênio pelas plantas, sendo esses valores próximos a 16% em alguns genótipos.

Cakir (2004), estudando o efeito do estresse hídrico no milho na fase vegetativa, entre V6 e VT, e reprodutiva, entre VT e R3 e entre R3 e R6, acrescido de todas as combinações possíveis entre essas épocas, observou drástica redução da altura de plantas e índice de área foliar quando o corte no suprimento de água ocorreu a partir do estágio V6. Todavia os componentes mencionados não foram afetados nos tratamentos envolvendo estresse após o estágio VT. Quanto aos componentes de produção, o déficit hídrico ocorrido entre os estádios R3 e R6 proporcionou as maiores perdas no rendimento de grãos, menor quantidade de grãos por espiga e menor massa de grãos. Dentre todas as combinações de épocas de ocorrência de estresse hídrico avaliadas pelo mesmo, as que envolviam a fase do desenvolvimento do milho compreendida entre os estádios R3 e R6 foram sempre as que apresentaram os menores rendimentos de grãos.

Katerji et al. (2004) estudaram o comportamento do milho submetido a três intensidades de déficit hídrico durante todo o ciclo das plantas, mediante a determinação do potencial hídrico das folhas, assumindo potenciais superiores a -0,3 MPa, como plantas em adequado estado hídrico, entre -0,4 e -0,6 MPa, plantas com estresse hídrico moderado e, entre -0,7 e -0,12 MPa, plantas com nível de estresse elevado. Os mesmos autores observaram perdas de rendimento de grãos de apenas 1450 kg ha⁻¹, por ocasião da submissão das plantas ao nível de estresse mais acentuado. Entretanto, segundo os mesmos autores, essas intensidades de estresses aplicados são relativamente baixos, sendo que em muitas ocasiões o potencial hídrico das folhas pode atingir níveis inferiores a -0,12 MPa. Tal fato pode provocar reduções no rendimento de grãos superiores a 50%, dependendo do tempo de estresse e da época de sua ocorrência, ou até mesmo resultar na morte das plantas.

Do mesmo modo, Boyer (1970) determinou que potenciais da água nas folhas do milho inferiores a -0,4 MPa afetavam significativamente a expansão foliar e a produtividade, embora a taxa fotossintética máxima ocorresse entre -0,6 e -0,8 MPa.

Moser et al. (2006) realizaram dois experimentos na Tailândia, objetivando avaliar a interação de diferentes doses de nitrogênio (0, 80 e 160 kg ha⁻¹ aplicadas no

estádio V1) com o estresse hídrico aplicado na fase vegetativa do milho (entre os estádios V2/V6 e V7/V11), em quatro genótipos. No final dos dois experimentos, os autores constataram que, em todas as doses de nitrogênio, houve reduções significativas no rendimento de grãos, na prolificidade, na massa de mil grãos, no índice de área foliar e no acúmulo de matéria seca das plantas. Ainda, os mesmos autores observaram a existência de interação positiva entre as doses de nitrogênio aplicadas e o desempenho dos genótipos de milho estudados, em plantas submetidas ou não ao estresse hídrico.

Shani e Dudley (2001), realizando estudos com o objetivo de determinar o crescimento do milho em resposta a diferentes intensidades de déficit hídrico, quantificado através da determinação da evapotranspiração da cultura, observaram que o fornecimento de 70% da quantidade de água necessária para a evapotranspiração máxima proporcionou um acúmulo de matéria seca nas plantas 40% menor, quando comparado ao tratamento no qual foi fornecida a quantidade de água necessária para suprir totalmente a evapotranspiração das plantas.

Payero et al. (2006), estudando a resposta do milho ao estresse hídrico imposto durante todo o ciclo das plantas, quantificado através da evapotranspiração da cultura, constatou que o fornecimento de 50% da quantidade de água necessária para as plantas atingirem a evapotranspiração máxima proporcionou uma redução de rendimento de grãos e no potencial produtivo de 7700 kg ha^{-1} e 61%, respectivamente.

2.2.5 Efeitos do estresse por luz no milho

A energia solar que atinge a Terra é constituída por um conjunto de radiações cujos comprimentos de ondas variam de 0,2 a 4 micra. O referido conjunto de radiações é denominado de espectro solar. A radiação fotossinteticamente ativa é aquela que induz resposta ao processo da fotossíntese, sendo geralmente relacionada aos limites de 0,4 a 0,7 micron (COSTA et al, 1988; GOUDRIAAN; LAAR, 1994;).

Ainda, segundo os mesmos autores, a distribuição difusa da radiação representa a parte que interage com gases e nuvens presentes na atmosfera. Assim, o balanço de

energia radiante, também denominado de radiação líquida, refere-se ao saldo de radiação sobre uma determinada superfície (OMETO, 1981).

As radiações de valor fisiológico, presentes no espectro utilizado na fotossíntese, são absorvidas, principalmente, pelas clorofilas A e B e, em seguida, utilizadas na transformação de dióxido de carbono em carboidratos (sacarose e amido). O pigmento primário, a clorofila A, é um composto de cadeia tetra-pirrólica unida ao íon magnésio, a qual se encontra concentrada nos grana dos cloroplastos. A clorofila B possui estrutura semelhante, porém, seu teor corresponde a 33% da clorofila A, na maioria dos vegetais (GOUDRIAAN; LAAR, 1994).

Segundo Fancelli e Dourado Neto (1999), a cultura do milho responde com altos rendimentos a crescentes intensidades luminosas, em virtude de pertencer ao grupo de plantas C4, o que lhe confere alta produtividade biológica.

Ainda, torna-se importante ressaltar que o mencionado cereal é, originalmente, uma planta de dias curtos, embora os limites destas horas luz não sejam idênticos e nem bem definidos para os diferentes genótipos. A ocorrência de dias longos pode promover o aumento da sua fase vegetativa e do número de folhas, ocasionando o atraso no florescimento (FERRAZ, 1966).

Todavia, a redução de 30 a 40% da intensidade luminosa ocasiona atraso na maturação de grãos, principalmente em genótipos de ciclo tardio, que se mostram mais sensíveis à carência de luz (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). Ainda, a maior sensibilidade à variação de luminosidade é verificada no início da fase reprodutiva, ou seja, no período correspondente aos primeiros 10-15 dias após o florescimento, sendo seu efeito manifestado na densidade de grãos. Entretanto, déficits intensos de luz ocorridos nos estádios iniciais de desenvolvimento, além de contribuir para o prolongamento do ciclo da cultura, poderá ocasionar redução do potencial de produção da espécie (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Jong et al. (1982) demonstraram que a produção de milho no Hawaii foi linearmente relacionada à taxa de radiação incidente e respondeu a 78,5% da variação da produtividade. No entanto, segundo os mesmos autores, diferenças no desenvolvimento do dossel entre culturas e variações no clima podem confundir comparações de eficiência baseada apenas na radiação incidente.

Resultados obtidos por Cirillo e Andrade (1996) mediante sombreamento artificial, simulando tempo nublado durante o período de enchimento de grãos, mostraram menor duração do período efetivo de enchimento e menor densidade de grãos, sem nenhuma influência na taxa de crescimento de grãos.

Segundo Muchow e Davis (1988), a RUE (eficiência do uso da radiação) máxima em milho ocorre durante o crescimento vegetativo, havendo uma tendência de decréscimo durante o enchimento dos grãos, associado com a mobilização do nitrogênio foliar para o grão. Os valores médios para a RUE em milho, de acordo com diversos trabalhos de literatura, situam-se entre 3,2 e 3,4 g MJ⁻¹ da PAR para o período vegetativo e 2,6 e 3,4 g MJ⁻¹ da PAR (radiação fotossinteticamente ativa) para todo o ciclo da cultura (SINCLAIR; MUCHOW, 1999).

A eficiência do uso da radiação de cultura (RUE, g MJ⁻¹) é uma variável derivada da relação da massa da matéria seca acumulada da cultura (F_{Sa}, g m⁻²) e a radiação interceptada pelo dossel vegetal (P_{ARi}, MJ m⁻²) (ROMANO, 2005).

Assim, segundo Kliniry e Ritchie (1985); Reed et al. (1988), a redução na incidência de radiação solar, particularmente nos estádios reprodutivos de desenvolvimento da cultura de milho, causa perdas significativas no rendimento de grãos, principalmente em função da redução do número de espigas por planta e do peso dos grãos. Fancelli (2003) ressalta também que, a ocorrência de estresse por luz no período efetivo de enchimento de grãos (15 dias após o florescimento) reduzirá significativamente a densidade de grãos e poderá favorecer o aumento da taxa de grãos ardidos.

Para Hashemi et al. (2005), a competição por luz entre as plantas de milho e a ocorrência de períodos excessivamente nublados não são muito importantes em estádios vegetativos de desenvolvimento; entretanto, a partir do florescimento, esses eventos contribuem para a ocorrência de expressivas perdas de produtividade.

Diversos estudos têm demonstrado que, estresse luminoso na fase vegetativa do milho resultam em perdas no rendimento de grãos que raramente são superiores a 10% (SWANK et al., 1982; SIMMONS; JONES, 1985), todavia, a partir do florescimento essas perdas aumentam sensivelmente, podendo ser superior a 50% (ALLISON;

WATSON, 1966; TSAI et al., 1978; HASHEMI-DEZFOULI; HERBERT, 1992; HASHEMI et al., 2005; TOLLENAAR et al., 2006).

Nesse contexto, Hashemi-Dezfouli e Hebert (1992) estudaram o efeito do sombreamento artificial e da densidade de plantas no desempenho do milho, utilizando duas intensidades de luz (100 e 50% da radiação fotossinteticamente ativa) e três densidades de plantas espaçadas 0,76 m entre si (39.473, 98.684 e 157.894 plantas ha⁻¹). Os autores citados observaram que a taxa fotossintética e o conteúdo de clorofila nas folhas de milho dos tratamentos que sofreram sombreamento artificial foram 48,6 e 20,3% inferiores, respectivamente, quando comparados aos tratamentos não sombreados artificialmente. Também foram constatadas perdas de produtividade de, aproximadamente, 65%, em função da diminuição do número de espigas por planta, do número de fileiras por espiga, do número de grãos por fileira e do peso dos grãos.

Hashemi et al. (2005), estudando o sombreamento natural ocorrido em função do aumento da população de plantas (39.473, 78.947, 118.421 e 157.894 plantas ha⁻¹), observaram acentuada redução no rendimento de grãos, na acumulação de matéria seca, no índice de colheita, e nos componentes de produção para as populações de 118.421 e 157.894 plantas ha⁻¹. Segundo os autores, a competição intra-específica por luz foi muito acentuada, fazendo com que o aumento do número de espigas por área não compensasse a perda no número de fileiras de grãos por espiga e a perda do número de grãos por fileira, devido à diminuição do tamanho da espiga.

Tollenaar et al. (2006), simulando sombreamento em função da emergência tardia (diferença de 0, 2 e 4 folhas) e distribuição desuniforme de sementes de milho na linha de semeadura, agrupando 2 e 3 plantas, em milho semeado com espaçamento entrelinhas de 0,76 m e com uma população de 66000 plantas ha⁻¹, verificou que a distribuição desuniforme de plantas na linha provocou redução no rendimento de grãos e acúmulo de matéria seca de 110 e 100 kg ha⁻¹, respectivamente. Entretanto, no que se refere à emergência desuniforme das plantas na linha, o atraso evidenciado por uma diferença de 4 folhas no desenvolvimento das plantas causou queda de 620 e 700 kg ha⁻¹, na produtividade e no acúmulo de matéria seca, respectivamente.

2.3 Anatomia foliar do milho

A folha do milho é constituída fundamentalmente por duas estruturas: bainha e limbo foliar. A bainha é a estrutura que une o limbo foliar ao colmo, através da lígula, sendo responsável, principalmente, pela proteção do colmo ao ataque de insetos-praga e patógenos. Além disso, a bainha é um tecido intensamente vascularizado, constituindo-se em importante estrutura condutora de seiva na planta (ESAU, 1977).

O limbo foliar é uma estrutura formada basicamente pela epiderme e pelo mesofilo. A epiderme é o tecido mais externo dos órgãos vegetais em estrutura primária, estando, conseqüentemente, em contato direto com o ambiente e sujeita a modificações estruturais (RAVEN et al., 1996). Em algumas espécies e, particularmente no milho, as células epidérmicas são alongadas longitudinalmente, apresentando grande quantidade de invaginações que ligam uma célula as outras e conferem um arranjo extremamente compacto e justaposto, sem espaços intercelulares (Figura 2). A disposição compacta das células impede a ação de choques mecânicos e a penetração de patógenos e insetos-praga. Da mesma forma, a epiderme é responsável pelas trocas gasosas, por meio dos estômatos e pela proteção contra a radiação solar, através da reflexão dos raios solares, evitando o superaquecimento das células do mesofilo.

Além disso, a epiderme do milho é constituída por numerosos apêndices epidérmicos, denominados de tricomas tectores ou não-glandulares, células buliformes e estômatos (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2006).

Segundo Mauseth (1991), os estômatos são compostos por duas células que delimitam o ostíolo (fenda estomática) na região central, por meio do qual ocorre a comunicação do ambiente externo com o interno. Entretanto, o termo estômato é empregado para definir apenas o conjunto constituído de duas células-guarda e do ostíolo, que juntamente com as células adjacentes formam o complexo estomático ou aparelho estomático. Os estômatos das folhas de milho desenvolvem-se entre as células comuns da epiderme e apresentam a forma de halteres, como em todas as espécies de *Poaceae*, sendo as únicas células epidérmicas que sempre contêm

cloroplastos. Cabe ressaltar ainda que, a folha das plantas que compõem esta família são anfiestomáticas, ou seja, apresentam estômatos em ambas as faces.

Os tricomas tectores ou não-glandulares são apêndices epidérmicos presentes em grande quantidade nas folhas de milho, especialmente representados por pêlos. Essas estruturas podem ser unicelulares ou multicelulares, podendo variar em tamanho, forma e espessura da parede (SOUZA, 2003). Suas funções primordiais são a de proteção contra insetos-praga e radiação solar, além de contribuírem com a absorção de água, moléculas e íons da atmosfera (SOUZA, 2003; ALQUINI et al., 2006).

Ainda, segundo Esau (1977), outro aspecto importante nas folhas das *Poaceae* é a presença de células buliformes. Estas células estão presentes na face adaxial das folhas, dispostas em fileiras longitudinais, paralelas às nervuras, podendo estar agrupadas numa seção transversal de 2 a 8 células. Denominam-se também células motoras, estando intimamente envolvidas no processo de diminuição da exposição das folhas à radiação solar mediante a promoção da curvatura da folha para cima formando uma espiral. Tal procedimento contribui expressivamente para diminuição da taxa transpiratória, em função da diminuição da superfície específica e para a manutenção de alta umidade na atmosfera do interior da folha curvada.

O mesofilo se constitui na parte mais ativa da folha, sob o aspecto fisiológico, o qual é formado por células parenquimáticas, as quais sustentam os feixes vasculares, formado pelas células da bainha do feixe, células parenquimáticas, xilema (protoxilema e metaxilema) e floema (protofloema e metafloema). Nos feixes vasculares, os xilemas estão voltados sempre para a parte abaxial da folha e o floema para a parte adaxial. Estas estruturas são responsáveis principalmente pelo transporte de água e nutrientes, no caso do xilema, e fotoassimilados, no caso do floema, estando dispostos longitudinalmente nas folhas, embora haja intercomunicações entre os vasos condutores de diferentes feixes vasculares (ESAU, 1977).

Figura 2 - Corte transversal de uma folha milho, onde se observa as células da bainha do feixe (En) com estrias de Caspary (setas menores). Pr = periciclo; FI = floema; X = Xilema (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2006)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do local e da área experimental

O presente experimento foi conduzido em condições de campo, sob pivô central, na área de experimentação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, situada no Município de Piracicaba, SP, geograficamente localizado na latitude 22°42'30" e longitude 47°30'00", a uma altitude de, aproximadamente, 550 m em relação ao nível do mar.

O clima da região de Piracicaba, SP, segundo a classificação de Köppen, é correspondente ao Cwa, ou seja, mesotérmico tropical úmido, apresentando 3 meses mais secos (Junho, Julho e Agosto) e com concentração de chuvas no verão.

3.1.1 Solo

O solo da área experimental foi caracterizado morfológicamente como sendo um Nitossolo Vermelho Escuro eutrófico típico, com declividade média, ao redor de 5% (relevo suave ondulado).

A análise de solo da área experimental foi realizada no Laboratório de Análises de Solo do Departamento de Solos e Nutrição Mineral de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, cujos resultados são apresentados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Resultados das análises químicas de solo da área experimental (macronutrientes)

pH	MO	P ⁽³⁾	S	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
CaCl ₂	%	-- mg dm ⁻³ --				mmol _c dm ⁻³				%
5,1 ⁽¹⁾	2,2	17	23	4,8	38	12	31	54,8	85,8	64
5,2 ⁽²⁾	1,6	7	76	2,3	33	11	25	46,3	71,3	65

¹ Profundidade de 0 a 20 cm; ² Profundidade de 20 a 40 cm;

³ Fósforo extraído pelo método da resina.

Tabela 2 - Resultados das análises químicas de solo da área experimental (micronutrientes)

B ⁽³⁾	Cu ⁽⁴⁾	Fe ⁽⁴⁾	Mn ⁽⁴⁾	Zn ⁽⁴⁾
----- mg dm ⁻³ -----				
0,41 ⁽¹⁾	5,3	30	36,2	2,2
0,51 ⁽²⁾	2,7	13	14,1	0,6

¹ Profundidade de 0 a 20 cm; ² Profundidade de 20 a 40 cm;

³ Boro extraído em água quente.

⁴ Cobre, Ferro, Manganês e Zinco extraídos através da solução DTPA.

3.1.2 Dados climatológicos

Os dados climatológicos relativos ao período experimental são apresentados na tabela 3, sendo coletados no posto meteorológico automatizado pertencente ao departamento de Ciências exatas da ESALQ/USP, instalado em Piracicaba, SP.

Tabela 3 - Dados climatológicos relativos ao período de condução do experimento (novembro/2005 a março/2006), em Piracicaba, SP

Ano	Mês	RGM	I	P	UR	Temperatura (°C)			E
		MJ m ⁻² d ⁻¹	h d ⁻¹	mm	%	Máx	Mín	Média	mm
2005	NOV	21,13	5,8	116,8	82,5	34	13,7	22,4	5,42
	DEZ	21,38	5,3	122,4	84,9	32,3	14,2	22,8	5,11
2006	JAN	22,0	6,2	225,2	84,0	35,9	18,2	24,4	5,56
	FEV	18,93	5,0	164,8	91,3	34,6	17,5	23,8	4,30
	MAR	18,93	5,9	151,5	89,5	33,9	16,8	23,8	4,39

RGM = radiação global média; I = insolação diária média; P = precipitação total; UR = umidade relativa média do ar; E = evaporação total do tanque classe A (média diária); Máx = temperatura máxima; Mín = temperatura mínima.

3.2 Genótipo empregado

O genótipo de milho utilizado no presente experimento foi o híbrido simples 30P70 (Pioneer do Brasil Ltda), de ciclo precoce, com arquitetura de folhas semi-eretas, de coloração verde-escuro e grãos semi-duros alaranjados. Segundo a empresa produtora, o mesmo apresenta como características básicas, porte médio, com altura em torno de 2,25 m, altura de inserção de espiga de 1,20 m, sendo a população considerada ideal variável entre 60.000 e 65.000 plantas ha⁻¹ em áreas irrigadas. Ainda, cabe salientar que, a escolha deste material genético ocorreu em função da sua ampla adaptação e distribuição nas principais regiões produtoras do país, bem como pelo seu alto potencial produtivo e características agronômicas desejáveis.

3.3 Tratamentos estudados

Os tratamentos estudados no presente experimento estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 - Épocas (estádios fenológicos) de submissão do milho, híbrido 30P70, aos estresses por água, luz e água e luz

Tratamentos	Época (estádio fenológico)	Fatores de estresse
1	V4 (quarta folha desenvolvida)	Água
2	V4	Luz
3	V4	Água e Luz
4	V8 (oitava folha desenvolvida)	Água
5	V8	Luz
6	V8	Água e Luz
7	V12 (décima segunda folha desenvolvida)	Água
8	V12	Luz
9	V12	Água e Luz
10	Testemunha	Testemunha

Para a simulação dos estresses, as parcelas foram cobertas com uma estrutura de madeira revestida com: (i) filme plástico transparente (para simulação de estresse por água); (ii) sombrite-50 % (para simulação de estresse por luz) e (iii) filme plástico transparente e sombrite-50% (para simulação de estresses por água e luz). A mencionada estrutura apresentava 3,0 m de largura, 6,5 m de comprimento e 1,8 m de altura. O filme plástico e/ou o sombrite-50 % revestiram a estrutura externamente de modo a manter 1 m de abertura em todas as laterais, a partir da superfície do solo, visando impedir o aumento excessivo da temperatura no interior das parcelas, conforme evidenciado na figuras 3 e 4.

A cobertura das parcelas foi efetuada do seguinte modo:

a) Estresse no estágio V4 (tratamentos 1, 2 e 3): a colocação da cobertura foi realizada quando 50% das plantas das respectivas parcelas apresentaram a segunda folha completamente desenvolvida (V2), sendo retiradas por ocasião do estágio V5.

b) Estresse no estágio V8 (tratamentos 4, 5 e 6): a colocação da cobertura foi efetuada quando 50% das plantas das respectivas parcelas apresentaram a sexta folha completamente desenvolvida (V6), sendo retiradas por ocasião do estágio V9.

c) Estresse no estágio V12 (tratamentos 7, 8 e 9): a colocação da cobertura foi realizada quando 50% das plantas das respectivas parcelas apresentaram a 10^a folha desenvolvida (V10), sendo retiradas por ocasião do estágio V13.

Figura 3 – Estrutura de madeira utilizada para cobertura das parcelas visando a submissão das plantas aos estresses de ambiente

Figura 4 – Distribuição das estruturas utilizadas para cobertura das parcelas no campo antes da colocação dos plásticos e/ou sombrites

3.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado no presente trabalho foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 3 X 3, com 3 repetições, mais um tratamento testemunha, totalizando 30 parcelas. As unidades experimentais foram compostas por quatro linhas de 5 m de comprimento, totalizando uma área total de 14,0 m², sendo utilizadas para futuras avaliações apenas as duas linhas centrais da referida parcela. Ainda, cabe ressaltar que, das duas linhas centrais das parcelas, foram desconsiderados 0,5 m das duas extremidades, totalizando uma área útil de 7 m².

Os dados referentes às avaliações realizadas foram submetidos à análise de variância pelo teste F (Tabela 5), com comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, segundo esquema abaixo apresentado.

Tabela 5 - Esquema da análise de variância para os resultados das variáveis estudadas

Causas da variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	9
Blocos	2
Resíduo	18
TOTAL	29

3.5 Condução do experimento

3.5.1 Preparo do solo

O preparo do solo foi realizado na área total do ensaio e consistiu na operação de gradeação, mediante o uso de grade aradora, seguida de escarificação efetuada à profundidade média de 40 cm, sendo ambas realizadas no início do mês de outubro.

Ainda, imediatamente antes da semeadura do milho, em novembro, efetuou-se outra gradeação, com grade niveladora, objetivando a eliminação de torrões e plantas daninhas.

3.5.2 Adubação

A adubação de semeadura foi realizada manualmente no sulco de semeadura, em quantidade equivalente de N, P_2O_5 e K_2O de 45, 90 e 45 kg ha⁻¹, respectivamente, com base nos resultados da análise de solo (tabelas 1 e 2), na eficiência das fontes utilizadas e nos valores de extração e exportação desses nutrientes pela cultura do milho, segundo Fancelli e Dourado Neto (2000). A adubação de cobertura foi efetuada quando o milho apresentava duas folhas totalmente expandidas, de forma incorporada, na entrelinha da cultura e na quantidade equivalente a 100 kg ha⁻¹ de N e K_2O , na forma de nitrato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente.

3.5.3 Semeadura

A semeadura do milho foi realizada no dia 17 de novembro de 2005, empregando-se o espaçamento entre linhas de 0,7 m, sendo as sementes distribuídas, manualmente, a uma profundidade de 3 cm da superfície do solo e distantes 10 cm do fertilizante utilizado. Para tanto, foram distribuídas 8,5 sementes por metro, visando o estande final de 4,2 plantas m⁻¹ ou 60.000 plantas ha⁻¹. Imediatamente após a emergência foi realizado o desbaste para adequar a população de plantas á desejada.

Figura 5 – Croqui da unidade experimental adotada

3.5.4 Tratos culturais

Após a emergência das plântulas, quando o milho apresentava duas folhas totalmente expandidas, realizou-se o desbaste objetivando assegurar a população equivalente a 60.000 pl ha⁻¹.

O controle de plantas daninhas foi realizado em duas etapas, através de capinas manuais, quando o milho apresentava 2 e 4 folhas totalmente expandidas (estádios V2 e V4).

Para o controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) foram efetuadas duas aplicações com os inseticidas Spinosad (0,05 l ha⁻¹ do produto comercial) e Lufenuron (0,3 l ha⁻¹ do produto comercial), nos estádios V4 e V8, respectivamente, quando 20% das plantas apresentaram folhas danificadas pela mencionada praga (folhas “raspadas”).

3.5.5 Colheita

A colheita do referido experimento foi realizada no dia 30 de março de 2006, após os grãos atingirem o ponto de maturidade fisiológica. A referida operação foi realizada manualmente coletando-se todas as espigas presentes na área útil das parcelas, acompanhada da determinação do teor de água (umidade) dos grãos.

3.6 Avaliações agronômicas da cultura do milho

3.6.1 Altura das plantas

A altura das plantas foi determinada nos estádios V13 e no pleno florescimento (R1) do milho, medindo-se quatro plantas, aleatoriamente, por parcela, considerando-se para tanto a distância compreendida entre o nível do solo e o ponto de inserção da última folha. O resultado foi expresso em metros (m).

3.6.2 Número de folhas

A determinação do número de folhas foi realizada por ocasião do florescimento pleno, mediante a contagem do número de folhas fotossinteticamente ativas, em quatro plantas apresentando lígula visível.

3.6.3 Índice de área foliar

O índice de área foliar (IAF) do milho foi determinado mediante a avaliação de quatro plantas por parcela quando o milho se apresentava em pleno florescimento. A

avaliação da área foliar necessária para a determinação do IAF médio das plantas amostradas foi efetuada mediante a utilização do medidor eletrônico LI-3100, da LICOR Nebraska.

As plantas foram retiradas da área experimental e transportadas ao laboratório, onde, em seguida, tiveram suas folhas destacadas na região da lígula e analisadas no mencionado equipamento.

3.6.4 Diâmetro médio do colmo

Para a determinação do diâmetro médio do colmo, avaliou-se a região central do segundo internódio a partir do colo da planta, através do uso de um paquímetro digital. A citada determinação foi efetuada por ocasião do estágio V13 e do pleno florescimento.

3.6.5 Componentes de produção

3.6.5.1 Número médio de grãos por espiga

O número de grãos por espiga foi o resultado do produto do número médio de grãos presentes em cada fileira, pelo número médio de fileiras evidenciado em cada espiga (média de 20 espigas).

3.6.5.1.1 Número médio de grãos por fileira

O número médio de grãos por fileira foi determinado em 20 espigas amostradas aleatoriamente, de cada parcela experimental, mediante simples contagem.

3.6.5.1.2 Número médio de fileiras por espiga

O número médio de fileiras de grãos na espiga foi determinado pela contagem de 20 espigas amostradas aleatoriamente de cada parcela, valendo-se das mesmas espigas utilizadas na determinação anterior.

3.6.5.2 Massa de mil grãos

Do total de grãos oriundos da debulha de cada parcela, retirou-se 8 amostras ao acaso, as quais foram submetidas à pesagem e ao cálculo de variância, além da determinação imediata de umidade, possibilitando estimar assim a massa de mil grãos, corrigida para 13% de umidade, segundo metodologia apresentada nas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 1992).

3.6.6 Produtividade

A produtividade foi obtida a partir da massa dos grãos, oriundas da área útil das parcelas (debulhados e limpos) e expressa em kg parcela⁻¹. A determinação do teor de água (umidade) foi efetuada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), utilizando-se o método da estufa à 105°C ± 3°C por 24 horas, com três repetições para cada lote. Este método é considerado preciso e baseia-se na secagem de uma amostra de sementes, com peso conhecido e no cálculo da quantidade de água através da perda de peso da amostra. Posteriormente os valores obtidos foram corrigidos para kg ha⁻¹ e para a umidade de 13%, utilizando-se a seguinte expressão matemática:

$$P_{13\%} = [PC (1-U) / 0,87]$$

onde:

$P_{13\%}$: produtividade de grãos a 13 % de umidade, em $t\ ha^{-1}$;

PC: produtividade de grãos no campo;

U: umidade do grão observada na colheita.

3.7 Análises anatômicas e morfológicas das plantas de milho

3.7.1 Anatomia da folha

As avaliações anatômicas de folhas foram realizadas quando da emissão da 13ª folha, ou seja, no estágio V13. Secções da parte mediana das folhas número 4, 8 e 12 foram coletadas de duas plantas em cada parcela, sendo imediatamente levadas ao Laboratório de Morfogênese e Ecologia Reprodutiva da ESALQ/USP. Os itens avaliados foram: (i) número de estômatos; (ii) espessura das epidermes; (iii) diâmetro das bainhas do feixe (μm); (iv) diâmetro dos vasos do xilema (μm); (v) diâmetro dos vasos do floema; (vi) espessura do mesofilo (μm); (vii) distância entre as linhas de células buliformes (μm) e (vi) tamanho das linhas de células buliformes (μm).

Para avaliação do número de estômatos, efetuada por ocasião do estágio V13, secções da parte mediana da 4ª, 8ª e 12ª folhas foram retiradas e levadas ao microscópio óptico com uma das objetivas munida de escala micrométrica apropriada para essa finalidade.

Para as demais avaliações morfológicas, os primórdios foliares foram coletados e fixados em solução de Karnovsky. Após a fixação, o material foi levado ao laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa/ Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA/ESALQ/USP).

Posteriormente, o material vegetal foi fragmentado após congelamento em nitrogênio líquido e fixado em série cetônica (30, 50, 70, 90 e 100%), permanecendo 10 minutos em cada uma das concentrações. A última lavagem em acetona (100%) foi

utilizada para a condução ao ponto crítico 'Balzers CPD 030' tendo como meio para desidratação o CO₂. Todos os fragmentos foram colados em 'stubs' metálicos utilizando-se fita dupla face de carbono e metalizados com ouro em metalizador 'Bal-Tec SCD 050'.

Finalmente, foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura modelo Zeiss CD 900, sendo que para a mensuração das características anatômicas citadas efetuou-se 10 medições para cada característica em fragmentos diferentes da folha.

3.7.2 Anatomia de estruturas reprodutivas e determinação do potencial produtivo

Quanto às inflorescências femininas, foi avaliado o seu número por planta, o número de primórdios de espiga viáveis, o número de fileiras de ovários e o número de ovários por fileira, conseguindo-se, assim, quantificar o número potencial de grãos por inflorescência e por planta por ocasião do estágio V13. Ainda, foi verificado o aparecimento de possíveis anomalias que por ventura poderiam ter ocorrido em função dos tratamentos estudados. Para esta avaliação foram retiradas duas plantas de cada unidade experimental.

Os primórdios de espiga foram destacados de cada planta, tiveram suas respectivas brácteas retiradas. Em seguida, foram acondicionados em frascos contendo solução de Karnovsky, objetivando suas avaliações com o auxílio de um microscópio estereoscópio.

3.7.3 Análise anatômica dos colmos

Para as avaliações anatômicas dos colmos foram utilizadas as mesmas plantas das avaliações agronômicas. Secções dos colmos foram coletadas na mesma região

onde se avaliou o diâmetro dos mesmos e, em seguida, fixados em solução de Karnovsky.

Os colmos foram cortados à mão-livre e empregados na confecção de lâminas semi-permanentes. As secções foram clarificadas utilizando-se hipoclorito de sódio comercial a 20% (v/v), lavadas com água destilada e coradas com vermelho congo 1% (v/v) e azul de toluidina 0,05% (v/v) em tampão fosfato e ácido cítrico durante 1 minuto. Posteriormente foram montadas em lâminas com solução de gelatina glicerizada.

Nas figuras 6, 7, 8 e 9 pode-se observar o número e aspectos dos primórdios de espigas destacados das plantas de milho no estágio V13, para quantificação do número de espigas e ovários por planta, bem como para a determinação do potencial produtivo da espécie.

Figura 6 - Primórdios viáveis de espiga coletados de uma planta de milho que não sofreu estresse para quantificação do número de espigas e ovários por planta

Figura 7 - Primórdios viáveis de espiga coletados de uma planta de milho submetida ao estresse por luz, entre os estádios V2 e V5, para quantificação do número de espigas e ovários por planta

Figura 8 - Primórdios viáveis de espiga coletados de uma planta de milho submetida ao estresse por água, entre os estádios V2 e V5, para quantificação do número de espigas e ovários por planta

Figura 9 - Primórdios viáveis de espiga coletados de uma planta de milho submetida aos estresses por água e luz, entre os estádios V10 e V13, para quantificação do número de espigas e ovários por planta

3.8 Análises fisiológicas das plantas de milho

3.8.1 Assimilação de dióxido de carbono (CO₂) e respiração de escuro

A taxa de assimilação máxima de CO₂ (Am) e a respiração de escuro foram medidas através de equipamento portátil LI-6400 da Li-Cor (LI-COR, Lincoln, NE).

As medidas de taxa máxima de assimilação de CO₂ e respiração de escuro foram realizadas semanalmente, iniciando-se após a retirada das estruturas de coberturas das últimas unidades experimentais, sendo efetuadas três avaliações até o estágio de desenvolvimento R2 (grãos bolha d'água).

Em todas as avaliações foram analisadas as folhas de número 4, determinada no sentido descendente. Foram realizadas 4 repetições por tratamento, sendo que cada repetição representava a medida de uma folha.

Ainda, a respiração de escuro foi determinada com a luz da câmara do equipamento desligada. A assimilação máxima de CO_2 (A_m) foi determinada com intensidade de luz saturante de $\pm 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de prótons e temperatura de $\pm 30^\circ\text{C}$.

No que se refere à calibração do mencionado equipamento, ressalta-se que todos os procedimentos recomendados foram rigorosamente respeitados, sempre antes da realização de cada determinação. As avaliações sempre foram iniciadas por volta das 9:30hs, em função do molhamento foliar e terminadas por volta das 10:30hs. O reduzido intervalo de tempo entre o início e o término das avaliações reveste-se de fundamental para a diminuição da variabilidade de intensidade dos processos fisiológicos analisados, contribuindo para a confiabilidade dos resultados obtidos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliações anatômicas

4.1.1 Características anatômicas do colmo

A observação das figuras de 10 a 19 permite evidenciar o acúmulo de lignina ao redor das bainhas do feixe nos tratamentos que envolveram o estresse hídrico, evidenciado pela coloração mais escura ao redor dessas estruturas. Além disso, nos mesmos tratamentos observa-se também o acúmulo de lignina na porção mais externa dos colmos. Este fato pode ser explicado pela necessidade de maior resistência do colmo dos tratamentos que envolveram o estresse hídrico, já que essas estruturas foram submetidas ao mencionado fator de estresse nos períodos de sua maior expansão, comprometendo o seu desenvolvimento e plena formação. Estes resultados concordam com as afirmações e resultados obtidos por Tollennar et al. (1979), Aldrich et al. (1982), Ritchie; Hanway (1989), Iowa State University (1993), Magalhães et al. (1994) e Fancelli e Dourado Neto (2000).

Ainda, o maior acúmulo de lignina verificado nos tratamentos que envolveram o estresse hídrico constituem-se num dos fatores que podem ter contribuído, de forma geral, para menor produtividade, pois parte dos fotoassimilados produzidos tiveram que ser destinados para a síntese dessa importante substância de sustentação, resistência e proteção dos tecidos vegetais.

Figura 10 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse hídrico entre os estádios V2 e V5 (tratamento 1) (50x)

Figura 11 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse por luz entre os estádios V2 e V5 (tratamento 2) (50x)

Figura 12 - Corte transversal de colmo de milho submetido aos estresses por água e luz entre os estádios V2 e V5 (tratamento 3) (50x)

Figura 13 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse hídrico entre os estádios V6 e V9 (tratamento 4) (50x)

Figura 14 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse por luz entre os estádios V6 e V9 (tratamento 5) (50x)

Figura 15 - Corte transversal de colmo de milho submetido aos estresses por água e luz entre os estádios V6 e V9 (tratamento 6) (50x)

Figura 16 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse hídrico entre os estádios V10 e V13 (tratamento 7) (50x)

Figura 17 - Corte transversal de colmo de milho submetido ao estresse por luz entre os estádios V10 e V13 (tratamento 8) (50x)

Figura 18 - Corte transversal de colmo de milho submetido aos estresses por água e luz entre os estádios V10 e V13 (tratamento 9) (50x)

Figura 19 - Corte transversal de colmo de milho do tratamento testemunha (tratamento 10) (50x)

4.1.2 Número de estômatos nas folha de milho

Com análise dos resultados relacionados ao número de estômatos presentes nas folhas de milho e apresentadas na tabela 18 é possível observar que há uma nítida tendência de aumento da quantidade de estômatos das folhas inferiores em comparação com as folhas superiores das plantas. Este fato pode ser explicado pela maior interceptação de radiação solar das folhas localizadas na parte superior das plantas, ocorrendo, conseqüentemente, maior atividade fotossintética, respiratória e de transpiração por parte dessas folhas, resultando na maior necessidade de trocas gasosas e liberação de vapor de água.

Tabela 6 - Quantidade de estômatos da face abaxial nas lâminas foliares de número 4, 8 e 12 de plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Estômatos		
	Folha 4	Folha 8	Folha 12
	----- n° cm ⁻² -----		
1 – Estresse hídrico em V4	67,84 ab	61,11 c	72,05 b
2 – Estresse por luz em V4	65,20 b	61,67 c	72,61 b
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	68,72 a	62,52 bc	73,45 b
4 – Estresse hídrico em V8	58,87 c	72,61 a	72,89 b
5 – Estresse por luz em V8	59,99 c	68,96 ab	73,45 b
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	59,42 c	74,29 a	71,49 b
7 – Estresse hídrico em V12	59,15 c	61,68 c	88,87 a
8 – Estresse por luz em V12	59,98 c	60,84 c	86,62 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	59,43 c	61,95 c	90,27 a
10 – Testemunha	59,43 c	64,20 bc	74,29 b
DMS	2,66	6,89	5,66
CV	8,41	11,23	9,34

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A aplicação dos três tipos de estresses por ocasião do desenvolvimento da folha, proporcionou o aumento na quantidade de seus estômatos. Isso pode ter ocorrido como medida compensatória, visando aumentar as trocas gasosas e compensar ou atenuar a diminuição da assimilação de CO_2 e a respiração.

Além disso, constatou-se que a distribuição de estômatos em folhas de milho se constituem em uma característica extremamente plástica, podendo sofrer rápidas alterações em função das condições ambientais reinantes no momento do desenvolvimento das folhas. Embora, de modo geral, não tenha ocorrido diferenças estatísticas para o número de estômatos presentes nas folhas que sofreram estresses, no momento da sua expansão, é nítido o aumento da quantidade de estômatos nas folhas que sofreram estresses mais severos. A quantidade de estômatos nas folhas que foram submetidas aos estresses por água e luz foi maior que nas folhas submetidas apenas ao estresse hídrico; que por sua vez, apresentou maior quantidade de estômatos do que as folhas submetidas apenas ao estresse por luz.

4.1.3 Características anatômicas internas das folhas de milho

Conforme observado nas tabelas 7, 8 e 9, as características anatômicas das folhas de milho (espessura da epiderme superior e inferior; diâmetro das bainhas do feixe; distância entre as bainhas do feixe; diâmetro dos vasos do xilema; diâmetro dos vasos do floema; distância entre as linhas de células buliformes; tamanho das linhas de células buliformes e espessura do mesofilo) demonstraram não apresentar plasticidade quando submetidas aos estresses por água e luz, visto que para todas as características analisadas não foram observadas diferenças estatísticas.

As únicas características anatômicas que apresentaram diferenças foi o número de estômatos, que aumentou com a submissão das plantas aos fatores de estresse já mencionados, e a deposição de lignina ao redor dos feixes vasculares e na parte mais externa dos colmos de milho.

Ainda, comparando-se as figuras 20, 21, 22, 23, 24 e 25 observa-se que realmente nenhuma alteração morfológica e/ou anatômica ocorreu nas folhas de milho decorrente dos tratamentos a elas impostos.

Portanto, é possível inferir que a perda de produtividade observada no presente trabalho foi decorrente, principalmente, do dano fisiológico irreversível que as plantas de milho sofreram, as quais apresentaram implicações diretas no desempenho agrônomo do milho. Por outro lado, pode-se constatar que as características morfológicas e anatômicas, apesar de ligeiras alterações, pouco influenciaram no desempenho produtivo do referido cereal.

Vale ressaltar que, os coeficientes de variação obtidos para as análises anatômicas foram relativamente altos quando comparados aos obtidos nas demais avaliações, podendo ser este um dos motivos da falta de diferença observada entre os tratamentos. Evidentemente que, a nível celular, as diferenças verificadas são intrinsicamente altas quando são realizadas avaliações ou medições para fins estatísticos.

Tabela 7 - Características anatômicas da quarta folha de plantas de milho submetido aos estresses por água e luz, Piracicaba, SP

Tratamentos	EI	ES	MES	DISTF	DFEI	XIL	FLO	BUL	DBUL
	----- µm -----								
1 – Estresse hídrico em V4	21,8 a	26,2 a	75,7 a	76,6 a	39,2 a	10,9 a	5,5 a	77,2 a	615 a
2 – Estresse por luz em V4	21,4 a	25,9 a	77,1 a	72,9 a	37,7 a	11,3 a	6,7 a	74,4 a	671 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	20,4 a	26,3 a	76,2 a	73,5 a	39,5 a	11,0 a	5,8 a	74,7 a	642 a
4 – Estresse hídrico em V8	21,3 a	26,9 a	75,8 a	74,6 a	36,5 a	11,2 a	5,6 a	76,0 a	682 a
5 – Estresse por luz em V8	20,7 a	25,7 a	75,7 a	74,4 a	37,7 a	12,0 a	5,7 a	75,4 a	649 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	21,1 a	26,2 a	77,1 a	74,8 a	40,2 a	10,9 a	5,3 a	74,5 a	653 a
7 – Estresse hídrico em V12	21,2 a	26,0 a	76,2 a	74,4 a	36,4 a	11,6 a	5,8 a	72,9 a	641 a
8 – Estresse por luz em V12	20,9 a	25,6 a	75,0 a	74,9 a	35,9 a	11,4 a	5,6 a	74,2 a	642 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	21,0 a	25,5 a	75,1 a	76,0 a	37,9 a	11,4 a	5,9 a	72,9 a	647 a
10 – Testemunha	20,4 a	25,7 a	79,2 a	77,3 a	35,3	10,8 a	5,6 a	73,1 a	631 a
DMS	6,36	12,12	28,94	28,10	21,78	5,00	4,39	29,80	219
CV	10,32	15,90	12,95	12,80	19,76	15,19	26,07	13,65	11,59

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

EI = espessura da epiderme inferior; ES = espessura da epiderme superior; MES = espessura do mesofilo; DISTF = distância entre os feixes vasculares; DFEI = maior medida dos feixes vasculares; XIL = maior medida do xilema; FLO = Maior medida do floema; BUL = maior medida da linha de células buliformes; DBUL = distância entre as linhas de células buliformes.

Tabela 8 - Características anatômicas da oitava folha de plantas de milho submetido aos estresses por água e luz, Piracicaba, SP

Tratamentos	EI	ES	MES	DISTF	DFEI	XIL	FLO	BUL	DBUL
	----- µm -----								
1 – Estresse hídrico em V4	20,8 a	25,6 a	75,7 a	77,6 a	38,1 a	11,7 a	5,5 a	74,3 a	693 a
2 – Estresse por luz em V4	21,5 a	23,8 a	78,6 a	78,0 a	39,7 a	11,6 a	6,0 a	75,1 a	644 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	20,7 a	24,5 a	77,4 a	73,8 a	40,5 a	11,4 a	6,4 a	76,3 a	723 a
4 – Estresse hídrico em V8	20,6 a	25,6 a	75,8 a	78,2 a	38,7 a	11,6 a	5,8 a	72,5 a	683 a
5 – Estresse por luz em V8	20,9 a	25,5 a	74,8 a	81,3 a	36,6 a	11,3 a	5,4 a	72,4 a	657 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	21,4 a	25,5 a	73,9 a	78,7 a	39,5 a	11,0 a	5,7 a	77,6 a	645 a
7 – Estresse hídrico em V12	22,1 a	25,8 a	73,9 a	77,0 a	41,4 a	12,2 a	5,4 a	74,8 a	689 a
8 – Estresse por luz em V12	21,5 a	25,6 a	75,0 a	76,8 a	37,8 a	11,2 a	5,7 a	74,5 a	682 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	21,0 a	25,9 a	78,2 a	78,5 a	39,0 a	11,3 a	5,6 a	72,8 a	659 a
10 – Testemunha	21,6 a	25,4 a	74,5	79,4 a	36,6 a	11,1 a	5,7 a	71,3 a	617 a
DMS	8,86	7,97	23,10	29,57	24,53	5,24	2,97	29,55	253
CV	14,25	10,75	10,41	12,95	21,59	15,29	17,68	13,60	12,89

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

EI = espessura da epiderme inferior; ES = espessura da epiderme superior; MES = espessura do mesofilo; DISTF = distância entre os feixes vasculares; DFEI = maior medida dos feixes vasculares; XIL = maior medida do xilema; FLO = Maior medida do floema; BUL = maior medida da linha de células buliformes; DBUL = distância entre as linhas de células buliformes.

Tabela 9 - Características anatômicas da décima segunda folha de plantas de milho submetido aos estresses por água e luz, Piracicaba, SP

Tratamentos	EI	ES	MES	DISTF	DFEI	XIL	FLO	BUL	DBUL
	----- µm -----								
1 – Estresse hídrico em V4	20,6 a	25,6 a	72,1 a	76,8 a	37,5 a	10,7 a	6,1 a	76,0 a	640 a
2 – Estresse por luz em V4	23,2 a	24,3 a	76,3 a	80,6 a	42,9 a	10,9 a	5,6 a	74,5 a	614 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	20,6 a	24,4 a	75,6 a	80,2 a	37,7 a	11,3 a	5,3 a	73,9 a	636 a
4 – Estresse hídrico em V8	21,2 a	25,2 a	75,8 a	79,9 a	34,4 a	11,6 a	5,3 a	72,1 a	628 a
5 – Estresse por luz em V8	20,7 a	26,5 a	77,2 a	76,6 a	34,4 a	11,3 a	5,8 a	74,0 a	637 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	20,8 a	25,4 a	72,6 a	78,1 a	36,7 a	11,0 a	5,6 a	76,4 a	619 a
7 – Estresse hídrico em V12	20,6 a	26,4 a	73,9 a	74,1 a	35,5 a	11,2 a	4,9 a	74,9 a	617 a
8 – Estresse por luz em V12	21,5 a	25,6 a	75,0 a	76,8 a	34,3 a	11,1 a	5,7 a	74,5 a	649 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	21,0 a	25,9 a	78,2 a	78,5 a	39,0 a	11,3 a	5,7 a	72,8 a	659 a
10 – Testemunha	21,6 a	25,4 a	74,5 a	79,4 a	36,6 a	11,1 a	5,6 a	71,3 a	657 a
DMS	8,12	9,29	21,27	19,80	20,76	5,17	4,13	23,02	305
CV	13,08	12,45	9,67	8,66	19,21	15,81	25,27	10,61	16,42

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

EI = espessura da epiderme inferior; ES = espessura da epiderme superior; MES = espessura do mesofilo; DISTF = distância entre os feixes vasculares; DFEI = maior medida dos feixes vasculares; XIL = maior medida do xilema; FLO = Maior medida do floema; BUL = maior medida da linha de células buliformes; DBUL = distância entre as linhas de células buliformes.

Figura 20 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições de estresse e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 4 do tratamento 1; B - folha 4 do tratamento 2; C - folha 4 do tratamento 3; J - folha 12 do tratamento 10

Figura 21 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições de estresse e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 8 do tratamento 4; B - folha 8 do tratamento 5; C - folha 8 do tratamento 6; D - folha 12 do tratamento 10

Figura 22 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições de estresse e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 12 do tratamento 7; B - folha 12 do tratamento 8; C - folha 12 do tratamento 9; D - folha 12 do tratamento 10

Figura 23 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições normais e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 12 do tratamento 1; B - folha 12 do tratamento 2; C - folha 12 do tratamento 3; D - folha 12 do tratamento 10

Figura 24 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições normais e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 12 do tratamento 4; B - folha 12 do tratamento 5; C - folha 12 do tratamento 6; D - folha 12 do tratamento 10

Figura 25 - Corte transversal de folhas de milho desenvolvidas sob condições normais e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura. A – folha 4 do tratamento 7; B - folha 4 do tratamento 8; C - folha 4 do tratamento 9; D - folha 12 do tratamento 10

4.2 Avaliações fisiológicas

4.2.1 Taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO₂)

Os resultados relativos às avaliações fisiológicas demonstraram que o tratamento que apresentou os maiores valores para assimilação de CO₂ foi justamente a testemunha, cujas plantas não foram submetidas aos fatores de estresse estudados (tabela 10).

Dentre os tratamentos submetidos a estresses, aqueles que apresentaram os melhores desempenhos para a característica estudada foram os tratamentos relacionados ao estresse por luz. Dentre esses tratamentos, não se constatou diferenças nos resultados obtidos para assimilação de CO₂, em função da época de submissão das plantas ao mencionado fator de estresse.

Ainda, o estresse hídrico aplicado juntamente com o estresse por luz propiciou as maiores reduções na taxa de assimilação de CO₂ pelas plantas de milho; todavia, não foram constatadas diferenças entre as épocas de submissão das plantas aos dois fatores de estresse de forma concomitante.

A taxa de assimilação de CO₂ do tratamento que não foi submetido aos estresses estudados (testemunha) foi cerca de 17% superior às taxas verificadas nos tratamentos onde foi aplicado o estresse por luz, os quais apresentaram as menores reduções na taxa de assimilação de CO₂.

Além disso, comparando-se o tratamento testemunha com os tratamentos que foram submetidos aos dois fatores de estresse estudados foi possível observar que as diferenças na taxa de assimilação de CO₂ foram de, aproximadamente, 50%, ou seja, os dois fatores de estresse aplicados em conjunto diminuíram pela metade a taxa de assimilação de CO₂ pelas plantas de milho.

Outra constatação importante que pôde ser identificada se relaciona ao fato das plantas submetidas aos fatores de estresse estudados não recuperarem sua capacidade de assimilação de CO₂, mesmo quando as condições ambientais voltaram à normalidade e também quando os estresses foram aplicados nos estádios iniciais de

desenvolvimento (mais precisamente entre V2 e V5). Estes resultados corroboram com aqueles relatados por Larcher (2000), Fancelli (2003) e Taiz e Zeiger (2004).

Tabela 10 - Taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO₂) pelo milho nos estádios de desenvolvimento V13, V16 e VT (florescimento), em plantas submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Assimilação de CO ₂		
	V13	V16	VT
	----- $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de CO ₂ -----		
1 – Estresse hídrico em V4	30,23 cd	28,73 cd	29,33 cd
2 – Estresse por luz em V4	35,03 b	33,27 b	33,93 b
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	28,13 de	26,70 de	27,23 de
4 – Estresse hídrico em V8	30,56 cd	29,03 cd	29,63 cd
5 – Estresse por luz em V8	34,00 b	32,30 b	32,96 b
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	27,13 e	25,77 e	26,27 e
7 – Estresse hídrico em V12	30,90 c	29,37 c	29,97 c
8 – Estresse por luz em V12	34,76 b	33,06 b	33,77 b
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	27,23 e	25,87 e	26,37 e
10 – Testemunha	41,43 a	39,33 a	40,13 a
DMS	2,45	2,35	2,43
CV	2,62	2,65	2,67

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.2 Respiração de escuro

No presente experimento, os resultados obtidos para respiração de escuro apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos estudados.

Analisando-se os resultados apresentados na tabela 11 pode-se observar que a respiração de escuro do tratamento que não sofreu qualquer tipo de estresse estudado

(testemunha) foi significativamente maior que as dos demais tratamentos avaliados no presente trabalho.

A menor taxa de respiração verificada foi relacionado ao tratamento submetido aos estresses por água e luz, concomitantemente, entre os estádios de desenvolvimento V10 e V13. De forma geral, os dois fatores de estresse aplicados em conjunto, no milho, propiciaram as menores taxas de respiração de escuro.

Dentre os fatores de estresse analisados, o que resultou nas menores reduções na taxa respiratória foi o estresse por luz, principalmente quando ocorrido entre os estádios de desenvolvimento V2 e V5.

Tabela 11 - Respiração de escuro do milho nos estádios V13, V16 e VT (florescimento), em plantas submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Respiração de escuro		
	V13	V16	VT
	----- $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de CO_2 -----		
1 – Estresse hídrico em V4	6,56 c	6,23 c	6,11 c
2 – Estresse por luz em V4	7,07 b	6,71 b	6,58 b
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	5,83 d	5,54 d	5,43 d
4 – Estresse hídrico em V8	6,53 c	6,20 c	6,08 c
5 – Estresse por luz em V8	7,12 b	6,76 b	6,63 b
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	5,82 d	5,53 d	5,42 d
7 – Estresse hídrico em V12	6,57 c	6,24 c	6,12 c
8 – Estresse por luz em V12	7,11 b	6,76 b	6,72 b
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	5,63 e	5,35 e	5,24 e
10 – Testemunha	7,61 a	7,23 a	7,29 a
DMS	0,11	0,08	0,07
CV	2,34	2,15	2,13

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Ainda, do mesmo modo que o observado para a taxa de assimilação de CO₂, verificou-se que as plantas submetidas aos estresses por água e luz, independentemente do estágio de desenvolvimento, não recuperaram a taxa de respiração ao longo do tempo, mesmo com o retorno das condições ambientais à normalidade. Este fato, juntamente com a taxa de assimilação de CO₂, demonstrou o elevado nível de comprometimento fisiológico sofrido pela cultura do milho com os fatores de estresse ocorridos nos estádios de desenvolvimento estudados.

4.3 Avaliações agronômicas

4.3.1 Altura de plantas

A análise dos resultados do referido estudo, apresentados na tabela 12, evidenciam que a ocorrência de estresse hídrico e estresse por água e luz, conjuntamente, entre os estádios V6 - V9 e V10 - V13, afetou negativamente a elongação dos colmos de milho, contribuindo para a diminuição do porte das plantas.

Iowa State University (1993), Fancelli e Dourado Neto (2000), Magalhães (2003) e Fancelli (2003), ressaltam a importância da disponibilidade de luz e, principalmente, água, entre os estádios V6 e V10 para o pleno desdobramento de folhas e elongação do colmo. Tais evidências puderam ser constatadas no presente experimento culminando nos piores resultados quando da ocorrência de estresses entre os estádios V6 e V9.

Resultados semelhantes foram obtidos por O'Neill et al. (2004), Katerji et al. (2004), Hashemi et al. (2005) e Moser et al. (2006) que também observaram sensível redução na altura das plantas em função da ocorrência de estresse hídrico entre os estádios V4 e V14.

Tabela 12 - Altura de plantas de milho nos estádios V13 e VT (florescimento), submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios de desenvolvimento. Piracicaba, SP

Tratamentos	Altura em V13 (m)	Altura em VT (m)
1 – Estresse hídrico em V4	1,48 c	2,16 ab
2 – Estresse por luz em V4	1,59 bc	2,32 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	1,41 cde	2,14 ab
4 – Estresse hídrico em V8	1,32 cde	2,00 bc
5 – Estresse por luz em V8	1,37 cde	2,09 ab
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	1,15 de	1,77 cd
7 – Estresse hídrico em V12	1,45 cd	1,79 cd
8 – Estresse por luz em V12	2,00 a	2,38 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	1,09 e	1,54 d
10 – Testemunha	1,87 ab	2,25 ab
DMS	0,33	0,30
CV	7,56	4,93

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, as maiores alturas de plantas foram verificadas naquelas que sofreram estresse por luz isoladamente e no tratamento testemunha. Evidentemente que este fato se deve ao estiolamento sofrido pelas plantas em função da busca pela luz para realização do processo vital para sobrevivência das plantas, a fotossíntese (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

4.3.2 Diâmetro do colmo

Os resultados da determinação do diâmetro dos colmos (tabela 13) evidenciaram que os dois fatores de estresses estudados, ocorridos isoladamente ou associados,

entre os estádios V6 e V9, provocaram significativa redução no diâmetro dos colmos das plantas, o mesmo ocorrendo entre os estádios V10 e V13, com a associação dos estresses por água e luz.

Para Aldrich et al. (1982), Ritchie e Hanway (1989), Fancelli e Dourado Neto (2000), entre os estádios V4 e V14 o colmo apresenta sua máxima taxa de expansão. Além disso, não atua somente como suporte de folhas e inflorescências, mas principalmente como estrutura destinada ao armazenamento de sólidos solúveis. Assim, de acordo com os resultados obtidos, o estresse hídrico nessa etapa afetou o comprimento dos internódios e o diâmetro do colmo, provavelmente pela inibição da alongação das células em desenvolvimento. Tal fato pode dificultar o atendimento, por parte da planta, de situações de emergência, sobretudo na etapa de enchimento.

Tabela 13 - Diâmetro de colmos de milho nos estádios V13 e VT (florescimento), em plantas submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Diâmetro em V13 (mm)	Diâmetro em VT (mm)
1 – Estresse hídrico em V4	24,16 ab	24,60 abc
2 – Estresse por luz em V4	21,60 bc	22,73 bcd
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	22,13 bc	22,99 bc
4 – Estresse hídrico em V8	19,67 cd	20,15 de
5 – Estresse por luz em V8	17,57 de	18,65 ef
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	15,90 e	16,27 f
7 – Estresse hídrico em V12	25,10 a	25,68 a
8 – Estresse por luz em V12	23,67 ab	24,87 ab
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	20,87 c	22,06 cd
10 – Testemunha	25,26 a	26,02 a
DMS	2,66	2,69
CV	4,20	4,11

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Além disso, foi possível observar que após a emissão da 13ª folha, a expansão do colmo em espessura foi extremamente reduzida, havendo um incremento médio de aproximadamente 1,2 mm apenas, ou seja, a fase de acentuada expansão do colmo em termos de espessura ocorreu em estádios de desenvolvimento anteriores.

4.3.3 Índice de área foliar (IAF)

O índice de área foliar (IAF) do milho foi extremamente afetado em todos os tratamentos submetidos ao estresse hídrico a partir do estádio V6. Analisando os dados apresentados na tabela 14, observa-se reduções no IAF próximas a 47%, por ocasião da ocorrência de estresse hídrico e por luz entre os estádios V6 e V9.

Tabela 14 - Índice de área foliar do milho submetido aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP.

Tratamentos	Índice de área foliar (IAF)
1 – Estresse hídrico em V4	4,44 ab
2 – Estresse por luz em V4	4,55 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	4,35 ab
4 – Estresse hídrico em V8	2,76 c
5 – Estresse por luz em V8	4,30 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	2,30 c
7 – Estresse hídrico em V12	3,77 b
8 – Estresse por luz em V12	4,69 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	3,02 c
10 – Testemunha	4,96 a
DMS	0,77
CV	7,07

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Contudo, torna-se importante salientar que o estresse por luz, isoladamente, não afetou o IAF das plantas de milho; entretanto, quando associado ao estresse hídrico provocou redução mais acentuada do mencionado índice. Os resultados observados no presente experimento estão de acordo com os obtidos por O'Neill et al. (2004), Katerji et al. (2004), Hashemi et al. (2005) e Moser et al. (2006).

Ainda, segundo Aldrich et al. (1982), Ritchie e Hanway (1989), Fancelli e Dourado Neto (2000), Fancelli (2003) e Magalhães (2003), o milho a partir dos estádios V4/V6 apresenta rápido crescimento vegetativo e, conseqüentemente, elevada taxa de emissão de folhas novas. Assim, para os mencionados autores, fatores estressantes ocorridos a partir da etapa mencionada, principalmente o estresse hídrico, pode afetar o IAF das plantas de milho, de forma irreversível.

Ainda, segundo Iowa State University (1993) e Fancelli e Dourado Neto (1999), o milho até o estágio V4 prioriza o desenvolvimento do sistema radicular, sendo tal estrutura vegetativa o seu principal dreno. Após este estágio, com o término da diferenciação do número de folhas e do número de espigas, a parte aérea passa a se constituir no principal dreno dos carboidratos sintetizados pelas folhas, culminando na aceleração do lançamento de folhas novas.

4.3.4 Número de folhas

De acordo com os resultados apresentados na tabela 15, é possível evidenciar redução significativa no número de folhas de milho devido a submissão das plantas aos estresses por água isoladamente e por água e luz em associação.

Segundo Aldrich et al. (1982), Ritchie e Hanway (1989), Iowa State University (1993), Fancelli e Dourado Neto (2000), Magalhães (2003) e Fancelli (2003), nos estádios V4/V5 ocorre o término da diferenciação de folhas e espigas, assim, estresses ocorridos antes desse estágio de desenvolvimento podem afetar a formação de folhas por parte do milho. A partir dessa fase o número total de folhas já estará definido, não podendo ser modificado por qualquer fator de estresse que possa ocorrer e prejudicar o

desenvolvimento das plantas. Todavia, a ocorrência de estresses drásticos ao longo do ciclo vegetativo poderá contribuir para perda de IAF até o florescimento.

Tabela 15 - Número de folhas produzidas pelo milho submetido aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Número de folhas
1 – Estresse hídrico em V4	18,08 b
2 – Estresse por luz em V4	19,08 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	18,00 b
4 – Estresse hídrico em V8	18,75 ab
5 – Estresse por luz em V8	18,58 ab
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	18,50 ab
7 – Estresse hídrico em V12	19,25 a
8 – Estresse por luz em V12	18,92 ab
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	18,67 ab
10 – Testemunha	19,15 a
DMS	0,83
CV	1,53

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3.5 Potencial produtivo

O potencial produtivo da cultura de milho foi significativamente afetado pelos tipos de estresses impostos às plantas no presente estudo, tanto isoladamente quanto em conjunto (tabela 16). O tratamento sem estresse (testemunha) apresentou potencial de produção cerca de 17,5% superior ao segundo melhor tratamento, correspondente àquele onde as plantas foram submetidas ao estresse por luz entre os estádios de desenvolvimento V2 e V5.

Ainda, de forma generalizada, o estresse por luz isoladamente foi o menos prejudicial ao potencial produtivo das plantas, seguido pelo estresse hídrico isoladamente e pelos dois tipos aplicados em conjunto.

Tabela 16 - Número de ovários por planta e potencial produtivo de plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Número de ovários por planta	Potencial produtivo (kg ha ⁻¹)
1 – Estresse hídrico em V4	2.052,0 c	31.778,4 c
2 – Estresse por luz em V4	2.303,3 b	35.401,6 b
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	1.740,4 d	26.415,7 d
4 – Estresse hídrico em V8	1.490,0 ef	22.587,7 ef
5 – Estresse por luz em V8	1.613,3 de	24.678,7 de
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	1.371,3 fg	21.000,7 fg
7 – Estresse hídrico em V12	1.247,3 gh	18.973,6 gh
8 – Estresse por luz em V12	1.343,3 gf	20.500,6 fg
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	1.151,3 h	17.320,6 h
10 – Testemunha	2.773,3 a	42.860,9 a
DMS	158,4	2.705,3
CV	3,16	3,53

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

No que se refere às épocas de submissão das plantas aos estresses, constatou-se que quanto mais tarde às plantas foram submetidas aos estresses por água e luz, maiores foram as perdas de potencial produtivo, como pode ser comprovado pela redução no número de ovários diferenciados por plantas e, conseqüentemente, na redução do número potencial de grãos formados por planta.

Comparando-se os dois valores extremos, ou seja, aqueles obtidos no tratamento testemunha (sem estresse) com os relacionados ao tratamento 9 onde as plantas foram submetidas aos dois fatores de estresse entre os estádios V10 e V13, a perda de potencial produtivo foi de, aproximadamente, 60%.

Outro resultado importante a ser destacado é o fato do potencial de produção da cultura do milho estar intimamente ligado ao rendimento de grãos obtido. Assim, estabelecendo um confronto entre esses dois dados é possível concluir que quanto menor foi o potencial de produção determinado, menor foi também o rendimento de grãos. De modo geral, a produtividade real do milho obtida no experimento foi entre 3 e 4 vezes menor que o potencial de produção resultante da contagem do número de ovários das plantas de milho no estágio V13.

Segundo Iowa State University (1993), Fancelli e Dourado Neto (2000) e Magalhães (2003), o potencial produtivo da cultura do milho é definido entre os estádios V4 e V12, momento que ocorre continuamente a diferenciação do tecido meristemático das espigas em estruturas reprodutivas, ou seja, em primórdios de ovários. Assim, a redução do potencial de produção da cultura, em função dos estresses que lhe foram impostos nos estádios fenológicos mencionados, pode ser confirmado.

4.3.6 Componentes de produção

Como pode ser observado na tabela 17, constatou-se redução no número de espigas por planta com a submissão do milho aos estresses por água e luz, concomitantemente, a partir do estágio V6. Do mesmo modo, todos os fatores de estresse abióticos aplicados entre os estádios V10 e V13 provocaram sensível redução no número de espigas por plantas.

Tal fato corrobora com os resultados obtidos por Cakir (2004), O'Neill et al. (2004), Katerji et al. (2004) e Moser et al. (2006) que também observaram redução do número de espigas por planta de milho em função da ocorrência de estresse hídrico a partir do estágio V6.

Ainda, Hashemi-Dezfouli e Hebert (1992), Hashemi et al. (2005) e Tollenaar et al. (2006), estudando a diminuição da incidência de radiação na cultura do milho, em estádios vegetativos de desenvolvimento, verificaram que quanto mais próximo do florescimento ocorria o mencionado fator de estresse, maior a redução do número de espigas por planta.

Quanto mais próximo do florescimento, maior é a necessidade de água e luz da cultura do milho. Assim, conforme esperado, a restrição desses fatores essenciais à produção, em estádios mais avançados de desenvolvimento, de acordo com os resultados obtidos, provocam perdas mais acentuadas nos componentes de produção do milho, de forma geral.

Tabela 17 - Número de espigas por plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Número de espigas por planta
1 – Estresse hídrico em V4	1,32 ab
2 – Estresse por luz em V4	1,31 ab
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	1,29 ab
4 – Estresse hídrico em V8	1,19 abc
5 – Estresse por luz em V8	1,23 abc
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	1,02 c
7 – Estresse hídrico em V12	1,10 bc
8 – Estresse por luz em V12	1,14 bc
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	1,00 c
10 – Testemunha	1,40 a
DMS	0,26
CV	7,29

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando os dados apresentados na tabela 18, observa-se que houve sensível redução no número de fileiras por espiga e no número de grãos por fileira, por ocasião

da submissão das plantas aos estresses por água e luz entre os estádios V10 e V13, ou seja, nos estádios de desenvolvimento mais avançados daqueles que foram submetidos aos fatores de estresse. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Hashemi-Dezfouli e Hebert (1992), Cakir (2004), O'Neill et al. (2004), Katerji et al. (2004), Moser et al. (2006), Hashemi et al. (2005) e Tollenaar et al. (2006).

Tabela 18 - Número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira de plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios de desenvolvimento. Piracicaba, SP

Tratamentos	Número de fileiras por espiga	Número de grãos por fileira
1 – Estresse hídrico em V4	12,86 a	39,90 a
2 – Estresse por luz em V4	13,06 a	40,70 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	12,53 a	39,30 a
4 – Estresse hídrico em V8	12,23 ab	38,33 a
5 – Estresse por luz em V8	12,20 ab	37,70 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	10,53 ab	37,43 a
7 – Estresse hídrico em V12	12,80 a	35,37 a
8 – Estresse por luz em V12	13,13 a	34,67 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	9,20 b	21,87 b
10 – Testemunha	13,33 a	39,53 a
DMS	3,08	7,26
CV	8,63	6,80

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto a massa de mil grãos (tabela 19), Cirillo e Andrade (1996) e Fancelli e Dourado Neto (2000) relatam que a cultura do milho é mais suscetível à redução na massa de grãos por ocasião da ocorrência de estresses hídrico e luminoso nos estádios reprodutivos. Ainda, os mesmos autores citam que a ocorrência dos mencionados fatores de estresses, nos estádios vegetativos de desenvolvimento, contribuem para

redução do índice de área foliar (IAF), da altura de plantas e do diâmetro de colmos, além de contribuir para o comprometimento da eficiência fisiológica e bioquímica das plantas, com conseqüente queda no rendimento de grãos

Assim, como o objetivo principal das plantas cultivadas se relaciona a perpetuação da espécie, a ocorrência de estresses por água e luz, no presente experimento, na fase vegetativa, não proporcionou diminuição na massa de grãos em nenhum dos tratamentos estudados, como pode ser constatado nos dados apresentados na tabela 19. Assim, apesar das plantas apresentarem redução no número de espigas por planta, no número de fileiras por espiga e no número de grãos por fileira, resultando em redução no rendimento de grãos, nada foi constatado na formação dos grãos, pois a etapa importante para definição desse componente de produção ocorre após o florescimento.

Tabela 19 – Massa de mil grãos de plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Peso de mil grãos (g)
1 – Estresse hídrico em V4	258,13 a
2 – Estresse por luz em V4	256,20 a
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	252,96 a
4 – Estresse hídrico em V8	252,76 a
5 – Estresse por luz em V8	254,93 a
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	255,56 a
7 – Estresse hídrico em V12	253,63 a
8 – Estresse por luz em V12	254,50 a
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	250,56 a
10 – Testemunha	257,73 a
DMS	10,61
CV	10,61

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3.7 Produtividade

No que se refere à produtividade de grãos, apenas o tratamento que sofreu estresse por luz entre os estádios V2 e V5 não diferiu da testemunha sem estresse. Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), quanto mais próximo do florescimento ocorrer qualquer fator de estresse, maiores as chances de ocorrerem perdas no rendimento de grãos. Do mesmo modo, Shani e Dudley (2001), O'Neill et al. (2004) e Cakir (2004) observaram maiores perdas no rendimento de grãos quando o estresse por luz foi imposto às plantas em estádios mais avançados de desenvolvimento, principalmente próximo ao florescimento das plantas.

Analisando os dados apresentados na tabela 20 observa-se que, mesmo as plantas sendo submetidas aos estresses por água e luz em estádios iniciais de desenvolvimento, os danos provocados foram irreversíveis e não compensáveis. Do mesmo modo, Moser et al. (2006), submetendo as plantas de milho ao estresse hídrico entre os estádios V2 e V6, constataram redução na produtividade de grãos de, aproximadamente, 22%, quando comparado às plantas que não sofreram estresse.

Diversos estudos têm demonstrado que, na fase vegetativa do milho, sobretudo nos estádios iniciais, as perdas no rendimento de grãos provocadas pelo estresse por luz raramente ultrapassam 10% (SWANK et al., 1982; SIMMONS; JONES, 1985). Todavia, a partir do florescimento essas perdas aumentam sensivelmente, podendo atingir valores superiores a 50% (ALLISON; WATSON, 1966; TSAI et al., 1978; HASHEMI-DEZFOULI; HERBERT, 1992; HASHEMI et al., 2005; TOLLENAAR et al., 2006). Nesse contexto, o presente experimento também possibilitou a constatação de maiores perdas de produtividade ocasionada pela diminuição da disponibilidade de radiação incidente, nos estádios fenológicos mais avançados (próximos a V12).

Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), a redução de 30 a 40% da intensidade luminosa ocasiona atraso na maturação de grãos, principalmente em genótipos de ciclo tardio, que se mostram mais sensíveis à carência de luz. Ainda, os mesmos autores afirmam que a maior sensibilidade à variação de luminosidade é verificada no início da fase reprodutiva, ou seja, no período correspondente aos primeiros 10-15 dias após o florescimento, sendo seu efeito manifestado na densidade dos grãos. Entretanto,

déficits intensos de luz ocorridos nos estádios iniciais de desenvolvimento, além de contribuir para o prolongamento do ciclo da cultura, poderão ocasionar redução do potencial de produção (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

Ainda, analisando-se os dados de produtividade constata-se que a associação dos estresses por água e luz ocasionou perdas significativas no rendimento de grãos, quando comparado à ocorrência individualizada dos fatores de estresse abiótico estudados.

Tabela 20 - Produtividade de plantas de milho submetidas aos estresses por água e luz, em diferentes estádios fenológicos. Piracicaba, SP

Tratamentos	Produtividade (kg ha ⁻¹)
1 – Estresse hídrico em V4	8.055,1 bc
2 – Estresse por luz em V4	9.084,8 ab
3 – Estresse hídrico e por luz em V4	8.034,4 bcd
4 – Estresse hídrico em V8	7.236,6 cde
5 – Estresse por luz em V8	7.569,3 bcde
6 – Estresse hídrico e por luz em V8	7.094,4 de
7 – Estresse hídrico em V12	6.311,6 e
8 – Estresse por luz em V12	7.163,7 cde
9 – Estresse hídrico e por luz em V12	5.954,6 e
10 – Testemunha	10.194,5 a
DMS	1.627,2
CV	7,18

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.4 Considerações Finais

No presente experimento evidenciou-se que a maior parte dos parâmetros avaliados, exceto para a maioria das características anatômicas, o estresse hídrico e luminoso aplicados concomitantemente, afetou negativamente o desempenho da planta, seguido pelo estresse hídrico e por luz aplicados de forma isolada, respectivamente.

Ainda, cumpre ressaltar que as primeiras variáveis a serem afetadas negativamente foram aquelas relacionadas às características fisiológicas das plantas de milho, determinados no presente experimento pela assimilação de CO₂ e respiração de escuro. Assim, em decorrência do comprometimento fisiológico da planta e, provavelmente, bioquímico, houve o comprometimento dos resultados obtidos para as características agrônômicas, tais como: altura de plantas, diâmetro do colmo, índice de área foliar e número de folhas por planta.

Ainda, a redução do desempenho fisiológico das plantas e do comprometimento do desenvolvimento das mesmas, resultou na interferência negativa em seus componentes de produção e, consequentemente, na produtividade.

Quanto às épocas de submissão das plantas de milho aos mencionados fatores de estresses e de acordo com o constatado na literatura, quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento em que as plantas foram submetidas aos estresses, especialmente entre V10 e V13, maior foi o comprometimento produtivo das mesmas.

Diversos dados da literatura suportam que o período compreendido entre o emborrachamento e grãos leitosos é o momento em que qualquer fator de estresse, seja ele biótico ou abiótico, provoca as maiores reduções na produtividade da cultura. Assim, conforme esperado, os estresses aplicados no presente experimento entre os estádios V10 e V13 provocaram as maiores reduções no rendimento da cultura, visto a proximidade da época crítica mencionada anteriormente.

Vale ressaltar que diversos efeitos puderam ser observadas em função das épocas de ocorrência dos estresses, tais como: (i) entre os estádios V2 e V5, o estresse hídrico e por luz aplicados concomitantemente e o estresse hídrico isoladamente provocaram a redução do número de folhas por planta, visto que nessa etapa do

desenvolvimento da cultura é que se define o número de folhas e de espigas por planta; (ii) entre os estádios V6 e V9 constatou-se comprometimento significativo das características relacionadas ao crescimento e desenvolvimento das plantas, em função da ocorrência dos dois fatores de estresse avaliados; (iii) entre os estádios V6 e V9 foram verificadas as maiores reduções na altura das plantas, diâmetro dos colmos e no índice de área foliar; (iv) entre os estádios V10 e V13, o principal fator a ser destacado é a redução do potencial de produção e, evidentemente, a redução da produtividade da cultura.

Nesse contexto, objetivando a ampliação do conhecimento dos efeitos do estresse hídrico e luminoso nos diversos estádios fenológicos da cultura de milho, mostra-se fundamental a realização de novos estudos para compreensão dos mesmos. A continuidade desses estudos poderá favorecer o estabelecimento de práticas de manejo que otimizem o uso de água e de luz por parte do milho, resultando na proposição de sistemas de produção racionais, lucrativos e sustentáveis.

5 CONCLUSÕES

- Os danos fisiológicos provocados pelos estresses por água e luz são irreversíveis, comprometendo o desempenho produtivo das plantas, mesmo quando manifestado nos estádios iniciais de desenvolvimento.
- A associação do estresse por água e por luz é mais prejudicial ao desempenho da planta e ao seu potencial produtivo, quando ocorrido nos estádios de desenvolvimento mais avançados.
- O diâmetro do colmo, altura de plantas e o índice de área foliar são prejudicados por estresses hídricos e luminosos ocorridos entre os estádios V6 e V13.
- Estresses por água e luz até o estágio V12, propicia o aumento do número de estômatos e da taxa de deposição de lignina no colmo.
- A perda de produtividade provocada pelos estresses por água e luz até o estágio V12 é função da redução do número de espigas por planta, do número de fileiras de grãos por espiga e do número de grãos por fileira.
- Estresses por água e luz até o V12 não afeta a massa de grãos.
- Quanto mais tardiamente ocorre o estresse, dentre as épocas estudadas, maior a perda de produtividade da cultura.

REFERÊNCIAS

ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, R.E. **Modern corn production**. 2th ed. Champaign, IL: A & L Publication, 1982. 371p.

ALLISON, J.C.S.; WATSON, D.J. The production and distribution of dry matter in maize after flowering. **Annals of Botany**, London, v. 30, p. 365-381, 1966.

ALQUINI, Y; LOURO, R.P. The ultrastructural analysis of the leaf of *Musa rosacea* Jacq. (Musaceae). In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BOTÂNICA, 5. **Resumos...**, Caracas, 1990. p. 23.

ANDRADE, F.H. **Radiación y temperature determinan los rendimientos máximos de maíz**. Balcarce: Instituto Nacional de tecnología agropecuária, 1992. 34p. (Boletín Técnico, 106).

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa. 2006. 438 p.

BOYER, J.S. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. **Plant Physiology**, Rockville, v. 46, p. 233-235, 1970.

CAKIR, R. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, p. 1-16, 2004.

CIRILO, A.G.; ANDRADE, F.H. Sowing date and maize productivity: II. Kernel number determination. **Crop Science**, Madison, v.34, p.1044-1046, 1994.

COSTA, A.F.S. da. **Influência das condições climáticas no crescimento e desenvolvimento de plantas de milho (*Zea mays* L.), avaliadas em diferentes épocas de plantio**. 1994. 109p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

COSTA, J.O.; FERREIRA, L.G.R.; SOUZA, F. Produção do milho submetido a diferentes níveis de estresse hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 1255-1261, 1988.

DAKER, A. **A água na agricultura**: manual de hidráulica agrícola, irrigação e drenagem. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1970. 453p

DAVIES, W.J.; WILKINSON, S.; LOVEYS, B. Stomata control by chemical signaling and the exploitation of this mechanism to increase water-use efficiency in agriculture. **Plant Physiology**, Rockville, v. 131, p. 230-235, 2002.

DOURADO NETO, D. **Modelos fitotécnicos referentes à cultura de milho**. 1999. 202p. Tese (Livre-Docente) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

DUNCAN, W.G.; WILLIAMS, W.R.; LOOMIS, R.S. Maize production. **Crop Science**, Madison, v.7, p.361-405, 1976.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2th ed. New York:John Wiley & Sons, 550p, 1977.

FANCELLI, A.L. Milho: ambiente e produtividade. In: FANCELLI, A.L; DOURADO NETO, D. (Ed.). **Milho**: estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba: LPV; ESALQ, Departamento de Produção Vegetal, 2003. p. 174-197.

_____. **Plantas alimentícias**: guia para aula, estudo e discussão. Centro Acadêmico "Luiz de Queiroz". ESALQ/USP, 1986. 131p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Gerenciamento da cultura de milho**. Piracicaba: LPV; ESALQ, Departamento de Produção Vegetal, 1999.

_____. **Produção de milho**. – Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

_____. **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: LPV; ESALQ, Departamento de Produção Vegetal, 1999.

FERRAZ, E.C. Fisiologia do milho. In: **Cultura e adubação do milho**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa.1966. p. 369-379.

FRATTINI, J.A. **Cultura do milho**: instruções sumárias. Campinas: CATI/COT.1975. 26p.

GOUDRIAAN, J.; LAAR, H.H. van. **Modelling potencial crop growth processes**: textbook with exercises. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. 238p. (Current Issues in Production Ecology, 2).

HASHEMI, A.M.; HERBERT, S.J.; PUTNAM, D.H. Yield response of corn to crowding stress. **Agronomy Journal**, Madison, v.97, p.839-846, 2005.

HASHEMI-DEZFOULI, A.; HERBERT, S.J. Intensifying plant density response of corn with artificial shade. **Agronomy Journal**, Madison, v. 84, p. 547-551, 1992.

HSIAO, T.C. Plants responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p.519-570, 1973.

IOWA STATE UNIVERSITY. **National corn handbook**. Ames: Cooperative extension Service. 1993. 612p.

JONG, S.K.; BREWBAKER, J.L.; LEE, C.H. Effects of solar radiation on the performance of maize in 41 successive monthly planting in Hawaii. **Crop Science**, Madison, n.22, p.13-18, 1982.

KATERJI, N.; HAMDY, A.; MASTRORILLI, M. Comparison of corn yield response to plant water stress caused by salinity and by drought. **Agricultural Water Management**. Orlando, v. 65, p. 95-101, 2004.

KINIRY, J.R.; BONHOMME. Predicting maize phenology. In: HODGES, C. (Ed.) **Predicting Crop Phenology**. Boca Raton: CRC Press. 1991. p.115-131.

KINIRY, J.R.; KNIEVEL, D.P. Response of maize seed number to solar radiation intercepted soon after anthesis. **Agronomy Journal**, Madison, v. 77, p. 711-715, 1985.

KRAMER, P.J. Fifty years of progress in water relations research. **Plant Physiology**, Rockville, v.54, p.463-471, 1974.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima-Artes & Textos, 2000. 531p.

LOOMIS, R.S.; WILLIAMS, W.A. Maximum crop productivity: na estimate. **Crop Science**, Madison, v.3, n.1, p.67-72, 1963.

MAGALHÃES, P.C. Aspectos fisiológicos da cultura do milho irrigado. In: RESENDE, M; ALBUQUERQUE, P.E.P.; COUTO, L. (Ed.) **A cultura do milho irrigado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 317p.

MAGALHÃES, P.C.; RESENDE, M.; OLIVEIRA, A.C. de.; DURÃES, F.O.M.; SANS, L.M. A caracterização morfológica de milho de diferentes ciclos. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia, GO. Centro-Oeste: cinturão do milho e do sorgo no Brasil. **Anais...** Goiânia: Abms/Embrapa-CNPMS/UFG/Emater-GO, 1994.190p.

MANSFIELD, T.A.; McAINSH, M.R. Hormones as regulators of water balance. In: **Plants hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. 2th ed. Davies: P.J. Dordrecht 1995. p. 598-616.

MAUSETH, J.D. **Plant anatomy**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing. 1988. 345p.

McCREE, K.J.; RICHARDSON, S.G. Stomatal closure vs. osmotic adjustment: A comparison of stress responses. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 539-543, 1987.

MORGAN, J.M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v.35, p.299-319, 1984.

MOSER, S.B.; FEIL, B.; JAMPATONG, S.; STAMP, P. Effects of pre-anthesis drought, nitrogen fertilizer rate, and variety on grain yield, yield components, and harvest index of tropical maize. **Agricultural Water Management**, Orlando, v.81, p.41-58, 2006.

MUCHOW, R.C.; DAVIS, R. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment. II. Radiation interception and biomass accumulation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 18, p.17-30, 1988.

NEL, P.C.; SMIT, N.S.H. Growth and development stages in the growing maize plant. **Farming in South Africa**, Cidade do Cabo, v. 6, 1978. p.1-7.

O'NEILL, P.M.; SHANAHAN, J.F.; SCHEPERS, J.S.; CALDWELL, B. Agronomic responses of corn hybrids from different eras to deficit and adequate levels of water and nitrogen. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, p. 1660-1667, 2004.

OMETTO, F.C.F. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: Ceres, 1981, 440p.

PANDEY, R.K.; MARANVILLE, J.W.; ADMOU, A. Deficit irrigation and nitrogen effects of maize in a Sahelian environment. I: Grain yield and yield components. **Agricultural Water Management**, Orlando, v. 46, p. 1-13.

PAYERO, J.O.; MELVIN, S.R.; IRMAK, S.; TARKALSON, D. Yield response of corn to deficit irrigation in a semiarid climate. **Agricultural Water Management**, Orlando, v.84, p.101-112, 2006.

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

REED, A.J.; SINGLETARY, G.W.; SCHUSSLER, D.R.; WILLIAMSON.; CHRISTY, A.L. Shading effects on dry matter and nitrogen partitioning, kernel number, and yield of maize. **Crop Science**, Madison, v. 28, p. 819-825, 1988.

RITCHIE, S.; HANWAY, J.J. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology/Cooperative Extension Service, 1989. 21p. (Special Report, 48).

ROMANO, M.R. **Desempenho fisiológico da cultura de milho com plantas de arquitetura contrastante**: parâmetros para modelos de crescimento. 2005. 115p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SCHROEDER, J.I.; ALLEN, G.J.; HUGOUIVIEUX, V.; KWAK, J.M.; WANER, D. Guard cell signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v. 52, p. 627-658, 2001.

SEYLE, H. The evolution of the stress concept. **American Science**, Boston, v.61, p.693-699. 1973.

SHANI, U.; DUDLEY, L.M. Field studies of crop response to water and salt stress. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 1522-1528, 2001.

SIMMONS, S.R.; JONES, R.J. Contributions of pre-silking assimilate to grain yield in maize. **Crop Science**, Madison, v. 25, p. 1004-1006, 1985.

SINCLAIR, T.R.; MUCHOW, R.C. Radiation use efficiency. **Advances in Agronomy**, Amsterdam, v.65, p.215-265, 1999.

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

SUNG, F.J.; KRIEG, D.R. Relative sensitivity of photosynthetic assimilation and translocation of ¹⁴carbon to water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 64, p. 852-856, 1979.

SWANK, J.C.; BELOW, F.E.; LAMBERT, R.J.; HAGEMAN, R.H. Interection of carbon and nitrogen metabolism in the productivity of maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 70, p. 1185-1190, 1982.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. – Porto Alegre: Artmed. 2004. p.139-145.

TOLLENAAR, M.; DAYNARD, T.B. Relationship between assimilate source and reproductive sink in maize grown in a short-season environment. **Agronomy Journal**, Madison, v. 70, p. 219-223, 1978.

TOLLENAAR, M.; DENN, W.; ECHART, L.; LIU, W.D. Effect of crowding stress on dry matter accumulation and harvest index in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 930-937, 2006.

TOLLENNAR, M.; DAYNARD, T.B.; HUNTER, T.B. Effect of temperature sensitive period for leaf number of maize. **Crop Science**, Madison, v.23, p.457-460, 1979.

TSAI, C.Y.; HUBER, D.M.; WARREN, H.L. Relationship of the kernel sink for N to maize productivity. **Crop Science**, Madison, v. 18, p. 399-404, 1978.

UHART, S.A.; ANDRADE, F.H. Nitrogen and carbon accumulation and immobilization during grain filling in maize under different source/sink rations. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 183-190, 1995.