

# **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 12

Anatomia foliar nos sucessivos ciclos  
de seleção do milho Saracura sob  
alagamento intermitente do solo

Paulo César Magalhães  
Thiago C. de Souza  
Fabrício J. Pereira  
Evaristo M. de Castro  
Sidney N. Parentoni

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Milho e Sorgo**

Rod. MG 424 Km 45 CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Caixa Postal 151

Fone: (31) 3027 1100

Fax: (31) 3027 1188

Home page: [www.cnpms.embrapa.br](http://www.cnpms.embrapa.br)

E-mail: [sac@cnpms.embrapa.br](mailto:sac@cnpms.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Antônio Álvaro Corsetti Purcino

Secretário-Executivo: Flávia Cristina dos Santos

Membros: Elena Charlotte Landau, Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes,  
Paulo Afonso Viana e Clenio Araujo

Revisor de texto: Clenio Araujo

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Editoração eletrônica: Communique Comunicação

**1ª edição**

1ª impressão (2009): 200 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Milho e Sorgo

---

Anatomia foliar nos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura sob alagamento intermitente do solo / Paulo César Magalhães ... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2009.  
27 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1217-1981; 12).

1. Milho. 2. Zea mays. 3. Folha. 4. Água no solo. I. Magalhães, Paulo César. II. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

# Sumário

Resumo.....	6
Introdução .....	6
Material e métodos .....	8
Resultados .....	11
Discussão .....	18
Referências.....	23

# Anatomia foliar nos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura sob alagamento intermitente do solo

---

*Paulo César Magalhães<sup>1</sup>*

*Thiago C. de Souza<sup>2</sup>*

*Fabricio J. Pereira<sup>2</sup>*

*Evaristo M. de Castro<sup>3</sup>*

*Sidney N. Parentoni<sup>1</sup>*

Abreviações: DE - densidade estomática; IE - índice estomático; FUN - funcionabilidade estomática; POL - diâmetro polar dos estômatos; NF - número de feixes vasculares; SV - soma do número de vasos do metaxilema nos feixes vasculares; DV - diâmetro dos vasos de metaxilema na nervura central; IV - índice de vulnerabilidade de Carlquist; FL - espessura do floema dos feixes vasculares na nervura central; CP - diâmetro das células parenquimáticas; EC - área de esclerênquima; EAD - espessura da epiderme adaxial; EAB - espessura da epiderme abaxial; EMF – espessura do mesofilo; CUT - espessura da cutícula da face adaxial; EFL - espessura do floema dos feixes vasculares no limbo foliar; DVM - diâmetro dos vasos do metaxilema na nervura do limbo; DVA - distância entre os feixes vasculares; NCB - número de células buliformes a cada 2 mm; DPB - diâmetro polar das células buliformes.

---

<sup>1</sup> *Pesquisadores Embrapa Milho e Sorgo. Caixa postal 151, 35701.970 - Sete Lagoas, MG, pcesar@cnpms.embrapa.br*

<sup>2</sup> *Doutorandos em Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras, MG - Departamento de Biologia*

<sup>3</sup> *Professor Anatomia Vegetal, UFLA, Lavras, MG - Departamento de Biologia*

## Resumo

No Brasil, as planícies de inundação ou áreas de várzeas trazem restrições à produtividade de milho. Por esse motivo, a Embrapa Milho e Sorgo desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho conhecida como Saracura - BRS 4154, com capacidade de sobreviver e produzir em períodos temporários de alagamento do solo. Esse trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer a plasticidade foliar adquirida pelo efeito dos sucessivos ciclos de seleção do milho BRS 4154 - Saracura sob alagamento intermitente do solo em condições de campo. O alagamento do solo iniciou-se no estágio de seis folhas, com a aplicação de uma lâmina de 20 cm de água três vezes por semana. No florescimento, amostras de folhas foram retiradas e fixadas, realizando-se seções paradérmicas e transversais para observação em microscópio fotônico. Foram observados, ao longo dos ciclos de seleção, modificações no número e tamanho dos estômatos, maior quantidade de feixes vasculares, metaxilema menores, diminuição da cutícula e da epiderme, diminuição no número e tamanho das células buliformes, aumento da espessura do floema, menor área de esclerênquima e diminuição da distância entre os feixes no limbo foliar. Os sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura, portanto, levaram a mudanças na plasticidade foliar, as quais favorecem sua tolerância ao alagamento intermitente do solo.

## Introdução

O excesso de água no solo leva a consequências dramáticas no processo difusivo dos gases, pois esses se difundem 10.000 vezes mais rápido no ar do que na água e, com isso, há um empobrecimento da disponibilidade de oxigênio (hipoxia), tanto no solo quanto nas partes do vegetal (DAT et al.,

2004). Ocorrendo restrição do oxigênio, o ciclo dos ácidos tricarbóxicos é interrompido pela falta de poder redutor e o metabolismo anaeróbico é ativado (SAIRAM et al., 2008).

Essa situação pode ser encontrada em solos encharcados. No entanto, nesses, estudam-se mais os mecanismos adaptativos das raízes do que das folhas (BRAGINA et al., 2004). Poucos estudos até agora mostram alterações foliares devido ao alagamento radicular. Porém, algumas alterações morfológicas (HUBER et al., 2009) e anatômicas têm sido encontradas (STOYANOVA et al., 2002; YORDANOVA et al., 2005). No milho Saracura – BRS 4154, sob alagamento radicular em casa de vegetação, também foram observadas variações foliares no diâmetro dos vasos condutores, no tamanho e na quantidade de estômatos (MELO et al., 2004). Comparativamente, evidências de plasticidade foliar estão sendo mais conhecidas em plantas completamente alagadas. Tanto alterações fisiológicas quanto anatômicas têm sido observadas nessas plantas, também chamadas de anfíbias (MOMMER et al., 2005, 2007; VOESENEK et al., 2006).

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

A inabilidade da cultura do milho para baixa disponibilidade de oxigênio na rizosfera, causada pelo alagamento radicular, resulta em substanciais perdas na produtividade (ZAIDI et al., 2007). No Brasil, grandes limitações agrícolas pelo alagamento são encontradas nas planícies de inundação ou áreas de várzeas (solos aluviais e hidromórficos), em que inundações temporárias restringem a agricultura, com exceção para o arroz (cultura mais adaptada) (SILVA et al., 2007). Preocupados com esse fato e pensando na possibilidade de o milho ser uma boa opção para a cultura

em várzeas brasileiras, a Embrapa Milho e Sorgo desenvolveu, por meio da seleção recorrente fenotípica estratificada, uma variedade de milho conhecida por Saracura - BRS-4154, com capacidade de sobreviver, produzir e suportar períodos temporários de encharcamento do solo (FERREIRA et al., 2007). O nome Saracura é uma referência a ave comumente encontrada em terrenos alagadiços brasileiros. Atualmente, essa variedade se encontra no 18<sup>o</sup> ciclo anual de seleção. Sua capacidade em tolerar períodos intermitentes de alagamento deve-se à presença de diferentes mecanismos bioquímicos e fisiológicos e também a modificações morfoanatômicas radiculares, como a formação de aerênquima e modificações no cilindro vascular (FERREIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2008).

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

## **Material e métodos**

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

Com a finalidade de facilitar o alagamento, a área foi nivelada e dividida em talhões. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições. As parcelas experimentais foram constituídas de quatro fileiras de 5 m de comprimento e espaçadas em 0,9 m. A

distância entre as plantas na linha da parcela foi de 0,2 m e a área útil correspondeu a 2 fileiras centrais. Para o alagamento, foi utilizada a água de um reservatório próximo, que foi conduzida por bombas até o local do experimento. A adubação do solo, classificado como Neossolo Flúvico Tb, Eutrófico Típico, textura argilosa, fase relevo plano campos de várzeas, foi realizada de acordo com a recomendação da análise química. Aplicou-se adubação básica com 5-20-20 + Zn em doses de 400 kg/ha no momento do plantio e, após a germinação das cariopses, realizaram-se duas coberturas com sulfato de amônio, em doses de 20 g/m linear, no estágio de seis folhas e a segunda no estágio de oito folhas. Todos os tratamentos fitossanitários necessários à cultura foram aplicados.

O alagamento foi iniciado no estágio de seis folhas, quando o meristema de crescimento das plantas já se encontra acima da superfície do solo (MAGALHÃES et al., 2007), e terminado na maturidade fisiológica, recebendo uma lâmina de 20 cm de água 3 vezes por semana. O material genético utilizado constituiu-se dos ciclos de seleção do milho 'Saracura - BRS 4154 intercalados: C1, C3, C5, C7, C9, C11, C13, C15, C17 e C18 e uma variedade BR 107 como testemunha, conhecida pela susceptibilidade ao encharcamento.

No florescimento, fase de maior susceptibilidade ao estresse por excesso de água (ZAIDI et al., 2004), foi coletada, em duas plantas em cada repetição, uma amostra na região do terço médio de uma folha totalmente expandida abaixo da folha bandeira. As amostras foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70 % (FAA 70), por 48 h e, em seguida, preservadas em etanol 70 %. Secções transversais do mesófilo e da nervura foram feitas com micrótomo de mesa e as secções paradérmicas realizadas manualmente nas faces adaxial e abaxial no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. As secções transversais foram clarificadas com hipoclorito de sódio 5 %, por 10 min, reidratadas por 10 min, coradas com astrablau (solução de safranina e azul de astra 7,5:2,5) e montadas em lâminas com glicerina 50 %. As paradérmicas foram também clarificadas com hipoclorito de sódio 5



%, por 10 min, reidratadas por 10 min, coradas com safranina 2 % e montadas em lâminas com glicerina 50 %.

As secções foram fotografadas em microscópio óptico de luz Olympus BX-60 acoplado a uma câmara digital. Os parâmetros medidos nas secções paradermicas nas faces adaxial e abaxial foram: densidade estomática (DE) (número de estômatos/mm<sup>2</sup>), índice estomático (IE) [(número de estômatos/mm<sup>2</sup>)/número de células epidérmicas]\*100, diâmetro polar dos estômatos (POL) e funcionalidade estomática (FUN) (diâmetro polar/diâmetro equatorial). Os parâmetros avaliados para a nervura central foram: números de feixes vasculares (NF), soma do número de vasos de metaxilema nos feixes vasculares (SV), diâmetro dos vasos de metaxilema (DV), índice de vulnerabilidade de Carlquist (IV) (DV/NV), espessura do floema dos feixes vasculares (FL), diâmetro das células parenquimáticas (CP) e área de esclerênquima (EC). Para o limbo foliar, foram medidos: espessura da epiderme adaxial (EAD) e abaxial (EAB), espessura do mesofilo (EMF), espessura da cutícula da face adaxial (CUT), espessura do floema dos feixes vasculares (EFL), diâmetro dos vasos do metaxilema (DVM), distância entre os feixes vasculares (DVA), número de células buliformes a cada 2 mm (NCB) e diâmetro polar das células buliformes (DPB). As avaliações na lâmina foliar foram realizadas após quatro feixes vasculares de maior calibre, partindo da região da nervura mediana em direção à borda foliar, onde havia uma maior uniformidade da espessura da lâmina foliar. Como padrão para as avaliações nos feixes vasculares, utilizaram-se aqueles presentes na nervura central de maior calibre e, no mesofilo, o quarto feixe de maior calibre após a nervura.

As medições foram feitas pelo programa de análise de imagens UTHSCSA ImageTool (University of Texas, San Antonio, USA), utilizando-se calibrações feitas com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotomicrografias. Para a determinação do dado final, realizou-se uma média das folhas de duas plantas de cada repetição, tendo, em cada folha, sido feitas cinco medições de cada característica anatômica. Para análise estatística dos resultados, utilizaram-se a análise

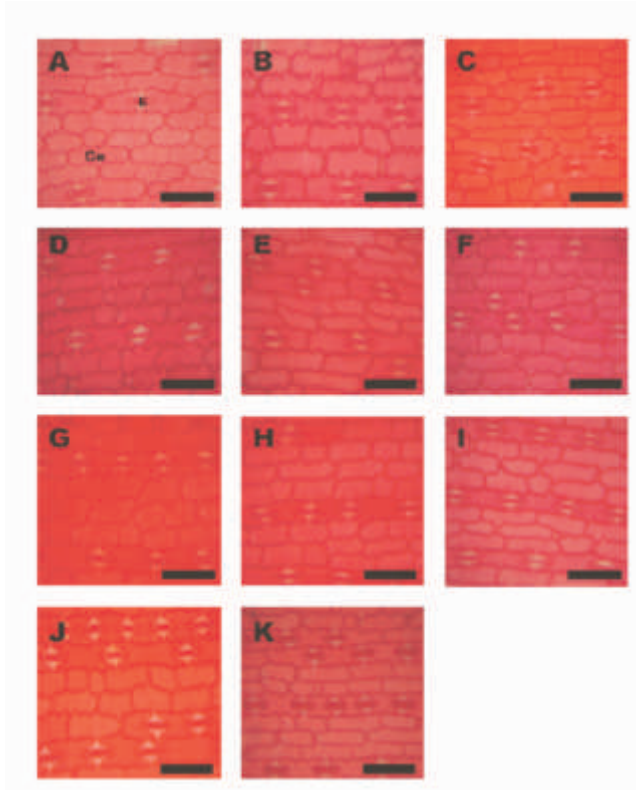
de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 0,05 de significância, no programa Sisvar versão 4.3 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil).

## **Resultados**

Foram observadas alterações nas secções paradérmicas, tanto na face adaxial quanto na abaxial da folha. A DE na face adaxial foi estatisticamente maior nos ciclos 17 e 18 em relação aos demais ciclos e à testemunha (Tabela 1, Figura 1). O ciclo 18 apresentou na face adaxial aumento na DE de 45,2 % e 41,9 % em relação à variedade BR107 e ao C1, respectivamente. O IE, nessa mesma face, também foi maior nos últimos ciclos e menor na testemunha, tendo o C18 apresentado um aumento de 42,76 % em relação à testemunha e 30,4 % em relação ao primeiro ciclo (Tabela 1, Figura 1). A FUN adaxial foi maior no C15, C17 e C18 em relação aos demais ciclos e à testemunha, os quais não apresentaram diferenças entre si. O C18 apresentou 29,4 % mais funcionabilidade que a testemunha e 25,4 % que o C1. O diâmetro polar dos estômatos da face adaxial foi maior nos ciclos 13, 15, 17 e 18 em relação aos ciclos iniciais e à testemunha (Tabela 1). Na face abaxial, apesar da densidade estomática resultar em maiores valores do que na face adaxial, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Já o índice estomático da face abaxial apresentou diferença e maiores valores nos ciclos 9, 11, 15, 17 e 18. O ciclo de maior média (C9) apresentou um IE de 59,9 % a mais que a testemunha e 26,4 % que o C1. Não houve diferença significativa na funcionabilidade da face abaxial; porém, no diâmetro polar, a testemunha, juntamente com o C1, foi significativamente menor que os demais ciclos de seleção.

**Tabela 1.** Características medidas nas secções paradérmicas nas faces adaxial e abaxial das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho 'Saracura' submetido a alagamento intermitente. \* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade; densidade estomática (DE); índice estomático (IE); funcionalidade estomática (FUN); diâmetro polar dos estômatos (POL).

Tratamento	Face Adaxial				Face Abaxial			
	DE	IE	FUN	POL ( $\mu\text{m}$ )	DE	IE	FUN	POL
BR107	059,81b*	09,72c	1,25b	43,18b	077,41a	10,61b	1,18a	41,83b
C1	063,33b	11,81c	1,32b	42,94b	084,44a	13,04b	1,45a	42,32b
C3	063,30b	11,53c	1,30b	44,28b	091,48a	13,70b	1,53a	44,56a
C5	063,33b	11,81c	1,42b	44,57b	084,44a	13,04b	1,51a	45,83a
C7	070,37b	13,80b	1,38b	45,01b	087,96a	13,62b	1,60a	45,76a
C9	063,33b	12,13c	1,42b	44,22b	105,55a	17,73a	1,42a	46,07a
C11	066,85b	12,71c	1,50b	45,78b	109,07a	16,13a	1,55a	46,44a
C13	077,41b	14,58b	1,45b	46,66a	095,00a	12,68b	1,49a	46,63a
C15	077,41b	13,95b	1,74a	48,02a	095,00a	14,87a	1,58a	46,52a
C17	098,52a	17,51a	1,74a	48,55a	098,54a	17,18a	1,56a	46,12a
C18	109,07a	16,98a	1,77a	48,26a	110,55a	15,96a	1,65a	47,57a
CV(%)	18,15	12,69	14,91	4,18	15,81	13,67	9,78	3,96



**Figura 1.** Presença de estômatos na folha adaxial, ao longo dos ciclos de seleção do milho Saracura submetido ao alagamento intermitente. A = BR 107; B = C1; C = C3; D = C5; E = C7, F = C9; G = C11; H = C13; I = C15; J = C17; K = C18. A barra corresponde a 100  $\mu$ m

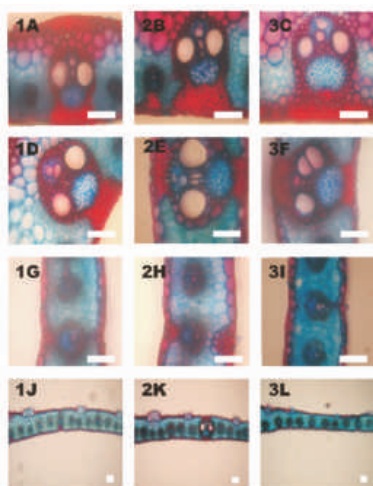
Observa-se que o número de feixes vasculares (NF) aumentou ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 2). O C3 e a testemunha apresentaram as menores médias e C15 e C18 as maiores. Houve um aumento de 31,5 % no ciclo 18 em relação à testemunha e de 37 % em relação ao C3. A soma do número de vasos de metaxilema nos feixes vasculares (SV) também aumentou ao longo dos ciclos (Tabela 2), tendo C1, C3 e a testemunha

sido estatisticamente semelhantes, com as menores médias, e os ciclos 13, 15, 17 e 18 foram aqueles que resultaram nas maiores somas do número de vasos de metaxilema nos feixes (SV). A SV do C1 correspondeu a 42 % da soma do C18. Com relação ao diâmetro dos vasos de metaxilema (DV), pode-se observar que C1, C3, C5 e a testemunha apresentaram as menores médias e C13, C15, C17 e C18 as maiores (Tabela 2). O diâmetro dos vasos do metaxilema do C18 diminuíram 37,9 % em relação ao C1 (Figura 2A, 2B, 2C). O maior valor do IV foi encontrado na testemunha e os ciclos 13, 15, 17 e 18

**Tabela 2.** Característica anatômica da nervura central das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura submetido a alagamento intermitente. \* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5 % de probabilidade; números de feixes vasculares (NF); soma do número de vasos de xilema nos feixes (SV); diâmetros dos vasos de metaxilema (DV); índice de vulnerabilidade de Carlquist (IVC); espessura do floema nos feixes vasculares (FL); diâmetro das células parenquimáticas (CP); área de esclerênquima (EC)

Tratamento	NF	SV	DV µm	IVC	FL µm	CP µm	EC µm <sup>2</sup>
BR107	12,33d*	07,17c	74,55a	10,67a	53,62b	075,90a	35027,67a
C1	13,50c	07,50c	66,85a	09,00b	54,91b	095,03a	33977,50a
C3	11,33d	07,67c	68,22a	09,00b	60,78b	075,72a	29179,10b
C5	13,50c	09,33b	65,83a	07,33c	65,09a	090,47a	29988,61b
C7	13,17c	10,33b	56,72b	05,67d	64,60a	093,99a	27496,26c
C9	14,50b	11,00b	53,88b	05,00d	65,67a	099,10a	26759,92c
C11	15,17b	11,17b	52,82b	04,67d	67,65a	104,03a	25268,84c
C13	15,33b	14,00a	47,24c	03,33e	66,75a	102,91a	26113,09c
C15	16,67a	15,17a	44,00c	02,67e	65,81a	094,02a	24380,54c
C17	16,00b	15,17a	46,24c	03,00e	67,00a	093,80a	24253,33c
C18	18,00a	17,83a	41,52c	02,33e	72,57a	095,71a	23845,13c
CV(%)	06,48	16,16	07,79	16,93	7,33	18,49	08,43

corresponderam aos menores índices, sendo estatisticamente semelhantes entre si (Tabela 2). Ainda sobre os feixes vasculares da nervura, observou-se um aumento na espessura do floema (FL) a partir do quinto ciclo (Tabela 2). O C18 teve um aumento de 26,1 % em relação à testemunha e de 24,3 % em relação ao C1. (Figura 2A, 2B, 2C). Não houve diferença entre o diâmetro das células parenquimáticas (CP) (Tabela 2). Já em relação à área do esclerênquima na nervura (EC), ocorreu diminuição ao longo dos ciclos. As maiores espessuras foram encontradas na testemunha e em C1. Do ciclo 7 ao 18, não foram detectadas diferenças estatísticas. A área de esclerênquima do C18 correspondeu a 68 % da área da testemunha e 70,1 % da área do ciclo 1.



**Figura 2.** Características anatômicas dos cortes transversais da nervura e limbo foliar. Na horizontal: secção transversal da nervura central, com detalhe no feixe vascular (A, B, C); secção transversal do limbo foliar, com detalhe no feixe vascular (D, E, F); secção transversal do limbo foliar, evidenciando epiderme e cutícula (G, H, I); secção transversal do limbo foliar, evidenciando as células buliformes (J, K, L). Na vertical: testemunha BR 107 (A, D, G, J); ciclo de seleção 1 (B, E, H, K); ciclo de seleção 18 (C, F, I, L). A barra corresponde a 100  $\mu$ m

A espessura das epidermes adaxial (EAD) e abaxial (EAB) diminuiu significativamente ao longo dos ciclos de seleção (Tabela 3). No mesofilo do C18, houve redução da epiderme adaxial de 28,7 % em relação à testemunha e de 20,1 % em relação ao C1 (Figura 2G, 2H, 2I). Já a epiderme abaxial do C18 diminuiu 24,4 % em relação à testemunha e 15,9 % em relação ao C1. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para a espessura do mesofilo (EMF) (Tabela 3). Com relação à cutícula (CUT), a partir do quinto ciclo ocorreu diminuição significativa, sendo os ciclos 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 e 18 semelhantes entre si (Tabela 3).

**Tabela 3.** Característica anatômica do limbo foliar das folhas dos sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura submetido a alagamento intermitente. \* Médias seguidas por mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5 % de probabilidade; espessura da epiderme adaxial (EAD); espessura da epiderme abaxial (EAB); espessura do mesofilo (MF); espessura da cutícula da face adaxial (CUT); espessura do floema nos feixes vasculares (FL); diâmetro dos vasos do metaxilema (DV); distância entre os feixes vasculares (DV); número de células buliformes a cada 2 mm (NCB); diâmetro polar das células buliformes (DB)

Tratamento	EAD µm	EAB µm	MF µm	CUT µm	FL µm	DV µm	NCB µm	DB µm
BR107	26,96a*	24,15a	181,45a	14,57a	48,94b	66,50a	8,50a	68,95a
C1	24,57a	22,86a	182,28a	14,55a	52,93b	65,95a	8,33a	73,35a
C3	27,28a	22,55a	177,73a	14,12a	43,74b	64,83a	8,50a	66,90a
C5	27,02a	24,30a	178,29a	11,44b	50,79b	66,28a	8,33a	55,85b
C7	27,26a	22,00a	164,77a	11,64b	49,36b	70,11a	6,67b	61,70a
C9	23,82a	22,84a	174,15a	11,95b	49,73b	61,85b	7,33b	61,47a
C11	23,61a	20,76b	167,66a	10,78b	55,92a	59,67b	7,33b	53,36b
C13	20,69b	20,28b	170,18a	10,75b	57,35a	62,43b	5,67b	52,41b
C15	20,82b	21,42b	171,37a	10,66b	61,65a	59,89b	6,33b	49,72b
C17	20,77b	19,69b	175,26a	10,24b	66,20a	56,80b	6,17b	57,66b
C18	19,62b	19,22b	156,61a	09,53b	65,89a	54,05b	5,83b	49,68b
CV(%)	09,18	07,96	04,52	9,69	12,27	06,38	14,38	10,31

A cutícula do ciclo 18 diminuiu aproximadamente 34,5 % em relação à testemunha e ao ciclo 1. Já a espessura do floema dos feixes vasculares no limbo foliar (EFL) apresentou valores estatisticamente maiores do ciclo 11 até o 18. O último ciclo resultou num aumento de 25,72 % em relação à testemunha e de 19,67 % em relação ao C1 (Figura 2D, 2E, 2F).

Observou-se, no limbo foliar, diminuição do diâmetro dos vasos do metaxilema (DVM) ao longo dos ciclos de seleção (Figura 2D, 2 E, 2 F). O maior diâmetro de metaxilema foi encontrado na testemunha (66,50), o qual foi estatisticamente semelhante aos dos ciclos 1, 3, 5 e 7. (Tabela 3). O C18, juntamente com os ciclos 9, 11, 13, 15, e 17, resultou no menor diâmetro (Tabela 3). Os ciclos 1 e 3 e a variedade sensível BR 107 apresentaram as maiores distâncias entre os feixes vasculares (DVA) (Tabela 3) e foram semelhantes entre si. Do C5 ao C18, houve uma diminuição nessa distância, sendo que entre ciclos não foram detectadas diferenças. O C18, em relação ao BR 107 e ao C1, apresentou, respectivamente, uma redução de 15,49 % e 12,14 %.

O número de células buliformes (NCB) da testemunha foi estatisticamente semelhante ao dos ciclos 1, 3 e 5. A partir do C7 até o C18, as médias foram iguais e com menores valores. O C18 teve diminuição de 31,4 % em relação à testemunha e de 30 % em relação ao ciclo 1 (Figura 2J, 2K, 2L).

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

## **Discussão**

A densidade de estômatos pode variar também em outros tipos de estresse abióticos, como a seca, em que ocorre diminuição na densidade estomática (BERGMANN, 2004). Plantas resistentes a esses ambientes,



entretanto, tendem a apresentar maior densidade de estômatos com menor tamanho, o que favorece a eficiência no uso da água (CHAERLE et al., 2005). O fechamento estomático é uma das mais proeminentes respostas ao alagamento, levando à diminuição das trocas gasosas (NICOLAS et al., 2005) e, conseqüentemente, da fotossíntese e da condutância estomática. Porém, maior otimização pelo aumento do número de estômatos pode favorecer maior entrada de gás carbônico, diminuindo as resistências estomáticas e facilitando o processo de assimilação do carbono. Isso foi observado no milho Saracura, pois houve um aumento de estômatos, tanto por área quanto por número de células epidérmicas nos últimos ciclos de seleção, podendo, portanto, beneficiar as trocas gasosas. Alterações no tamanho de estômatos de cevada foram observadas em estudos de alagamento (YORDANOVA et al., 2005). Porém, outros autores não observaram mudanças na quantidade e no tamanho de estômatos em legumes de regiões alagadas (*Lotus corniculatus* L. e *Lotus glaber* Mill) (STRIKER et al., 2005), mostrando que as modificações estomáticas não são muito claras em todas as espécies expostas a esse tipo de estresse.

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

Todas essas características podem favorecer uma maior absorção de CO<sub>2</sub>, fator importante e que pode aumentar a quantidade de carbono interno, predispondo uma maior produção de energia para a sobrevivência e o crescimento da cultura em áreas alagadas. Estudos ecofisiológicos e bioquímicos, contudo, devem ser feitos para comprovar tais sugestões, pois em algumas espécies (inclusive o milho), em ambiente alagado, pode ocorrer uma inibição na carboxilação (ASHRAF; HABIB-UR-REHMAN, 1999, YORDANOVA et al., 2005).

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

Um aumento no número e na espessura dos vasos de floema pode ser uma importante adaptação para as plantas submetidas ao alagamento. Com a hipoxia, o transporte de fotossintatos para a raiz é inibido e, concomitantemente, ocorre menor produção de energia devido ao bloqueio do ciclo do ácido tricarbóxico. Além disso, a diminuição do fluxo de fotossintatos para a raiz pode acarretar um acúmulo de carboidratos nos cloroplastos, o que leva a uma inibição da fotossíntese e diminuição de açúcares. As raízes, em resposta à falta de açúcares, esgotam suas reservas de carboidratos, necessitando, ainda, de uma maior entrada de fotossintatos (LIAO; LIN, 2001). O aumento de NF e de FL nos últimos ciclos de seleção do milho Saracura poderia aumentar o transporte de fotossintatos da folha para o restante da planta, além de evitar inibição da fotossíntese.

O diâmetro das células parenquimáticas pode influenciar o espaço

intercelular, aumentando a área de gases como o oxigênio. Além disso, a morte de células maiores na formação de aerênquimas poderia originar espaços maiores na folha; porém, não foi verificado um aumento do diâmetro dessas células e nem formação de aerênquima ao longo dos ciclos de seleção.

Vários estudos têm mostrado o aumento de esclerênquima em resposta à baixa disponibilidade hídrica (BACELAR et al., 2004; BUSSOTI et al., 2002), sendo essa alteração importante para as plantas esquivarem-se da perda de água. Os primeiros ciclos produziram maior quantidade desse tecido, evidenciando uma possível tentativa de economizar água, já que esses ciclos mostraram um sistema vascular mais vulnerável em relação aos últimos ciclos. Menor investimento em área de esclerênquima ocorreu a partir do ciclo 7. A redução de esclerênquima pode levar à produção de outros tecidos mais importantes, como o floema, facilitando a sobrevivência dos ciclos do milho Saracura no ambiente encharcado.

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

Com as folhas em ambientes completamente alagados, o mesofilo pode se modificar, ficando mais fino. Com isso, diminui a perda de água e aumenta a difusão de gases (MOMMER et al., 2007). Stoyanova et al. (2002) não encontraram diferenças no mesofilo da cultivar de milho Knezha 6112L submetida a alagamento. Apesar de, no presente trabalho, não terem ocorrido diferenças significativas no mesofilo dos ciclos de seleção do milho Saracura, Melo et al. (2004) encontraram diferenças significativas trabalhando em casa de vegetação quando submeteram o ciclo 14 dessa mesma variedade ao alagamento.

Um maior número de células buliformes com diâmetro polar maior nos

ciclos iniciais possivelmente está relacionado ao enrolamento foliar, que leva a uma redução na área de superfície de transpiração (MOULIA, 2000; ALVAREZ et al., 2008), sendo importante para os ciclos iniciais, que são mais sensíveis ao alagamento. De acordo com Esau (1977), as células buliformes são células motoras que proporcionam um dobramento e um enrolamento das folhas. Os últimos ciclos de seleção possivelmente estão mais adaptados fisiologicamente ao alagamento intermitente, permitindo um desenrolamento foliar com aumento da superfície fotossintética sem acréscimo na transpiração.

No presente estudo, os ciclos de seleção do milho Saracura sob alagamento apresentaram características típicas de plantas C4 mais intensificadas como mecanismos estomáticos para aumento da concentração de gás carbônico e de maior uso eficiente de água (discutidos anteriormente) e maior habilidade nos tecidos de condução (tanto floema quanto xilema). Observou-se que, do ciclo 5 ao 18, houve menor distância entre os feixes vasculares (DVA) e, conseqüentemente, menor espaço internerval e maior densidade venal (ROTH-NEBELSICK et al., 2001). A distância entre os feixes pode estar relacionada com o transporte e a distribuição mais eficiente de carboidratos e água para as células do mesófilo. Estudos sobre os feixes vasculares paralelos em gramíneas mostraram que espécie do tipo C4 possuem menor distância entre os feixes que as do tipo C3 (UENO et al., 2006). Essa característica presente nas plantas do tipo C4 fornecem maior habilidade na translocação de fotossintatos e maior distribuição de água em ambientes com restrição hídrica e altas temperaturas (SAGE, 2004). Como uma maior espessura do floema poderia aumentar o fluxo de fotossíntese, da mesma forma, um espaço reduzido entre os feixes nos ciclos de seleção do milho Saracura poderia também aumentar esse fluxo, pois proporcionaria maior distribuição de fotossintatos (ROTH-NEBELSICK et al., 2001), além de uma maior distribuição de água. Finalmente, pode-se concluir que os sucessivos ciclos de seleção do milho Saracura apresentaram modificações na plasticidade foliar que, provavelmente, estão favorecendo

sua tolerância ao alagamento intermitente do solo. Dentre essas várias modificações na plasticidade foliar, destacam-se a densidade estomática, o índice estomático, a funcionalidade estomática e o diâmetro polar dos estômatos.

## Referências

ALVAREZ, J. M.; ROCHA, J. F.; MACHADO, S. R. Bulliform cells in *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert and *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae): structure in relation to function. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v, 51, p. 113-119, 2008.

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

BACELAR, E. A.; CORREIA, C. M.; MOUTINHO-PEREIRA, J. M.; GONÇALVES, B. C.; LOPES, J. I.; TORRES-PEREIRA, J. M. G. Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olives cultivars growing under drought conditions. **Tree Physiology**, Oxford, v. 24, p. 233-239, 2004.

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

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

BUSSOTI, F.; BETTINI, D.; GROSSONI, P.; MANSUINO, S.; NIBBI, R.; SODA, C.; TANI, C. Structural and functional traits of *Quercus ilex* in response to water availability **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 11-23, 2002.

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

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

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

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. New York: J. Wiley and Sons, 1977.

FERREIRA, J. L.; COELHO, C. H. M.; MAGALHÃES, P. C.; FAMA, E. E. G.; BORÉM, A. Genetic variability and morphological modifications in flooding tolerance in maize, variety BRS-4154. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 7, p. 314-320, 2007.

FERREIRA, J. L.; MAGALHÃES, P. C.; BORÉM, A. Avaliação de três características fisiológicas em 4 ciclos de seleção no cultivar de milho BRS-4154 sob o solo encharcado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1719-1723, 2008.

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

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

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

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

MOMMER, L.; PONS, T. L.; WOLTERS-ARTS, M.; VENEMA, J. H.; VISSER, E. J. W. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical

responses in a terrestrial species affect gas diffusion resistance and photosynthetic performance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 139, p. 497-508, 2005.

MOMMER, L.; WOLTERS-ARTS, M.; ANDERSEN, C.; VISSER, E. J. W.; PEDERSON, O. Submergence-induced leaf acclimation in terrestrial species varying in flooding tolerance. **New Phytologist**, Oxford, v. 176, n. 2, p. 337-345, 2007.

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

MOULIA, B. Leaves as shell structures: double curvature, auto-stresses, and minimal mechanical energy constraints on leaf rolling in grasses. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 19, p. 19-30, 2000.

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

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

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

ROTH-NEBELSICK, A.; UHL, D.; MOSBRUGGER, V.; KERP, H. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. **Annals of Botany**, London, v. 87, p. 553-566, 2001.

SAGE, R. F. The evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis. **New Phytologist**, Oxford, v. 161, p. 341-370, 2004.

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



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

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

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

UENO, O.; KAWANO, Y.; WAKAYAMA, M.; TAKEDA, T. Leaf vascular systems in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> grasses: a two-dimensional analysis. **Annals of Botany**, London, v. 97, p. 611-621, 2006.

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

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

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

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

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

YORDANOVA, R. Y.; UZUNOVA, A.; POPOVA, L. P. Effects of short-term soil

flooding on stomata behaviour and leaf gas exchange in barley plants.  
**Biologia Plantarum**, Prague, v. 49, p. 317-319, 2005.