

Influência do Ácido Abscísico na Fotossíntese e Fluorescência da Clorofila em Híbridos de Milho Tolerantes à Seca



ISSN 1679-0154

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 52

Influência do Ácido Abscísico na Fotossíntese e Fluorescência da Clorofila em Híbridos de Milho Tolerantes à Seca

Paulo César Magalhães
Thiago Correa de Souza
Paulo Emílio P. de Albuquerque

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
Home page: www.cnpms.embrapa.br
E-mail: sac@cnpms.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau
Membros: Flávia Cristina dos Santos Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo Afonso Viana, Guilherme Ferreira Viana e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro
Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa
Foto(s) da capa: Paulo César Magalhães

1ª edição

1ª impressão (2012): on line

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**

Magalhães, Paulo César

Influência do ácido abscísico na fotossíntese e fluorescência da clorofila em híbridos de milho tolerantes à seca / Paulo César Magalhães, Thiago Correa de Souza, Paulo Emilio Pereira de Albuquerque -- Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012.

39 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679- 0154; 52).

1. *Zea mays*. 2. Resistência a seca. I. Souza, Thiago Correa. II. Albuquerque, Paulo Emílio Pereira de Albuquerque. III. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

© Embrapa 2012

Sumário

Resumo	5
Introdução	6
Material e Métodos	8
Resultados	13
Discussão	27
Referências	32

Influência do Ácido Abscísico na Fotossíntese e Fluorescência da Clorofila em Híbridos de Milho Tolerantes à Seca

Paulo César Magalhães¹

Thiago Correa de Souza²

Paulo Emílio P. de Albuquerque¹

Resumo

A seca é uma das principais limitações no cultivo de milho no Brasil, e práticas agronômicas e fisiológicas têm fortemente sido buscadas para superar esse estresse e conseqüentemente aumentar a produção. O presente estudo investigou o papel da aplicação do ácido abscísico (ABA) na tolerância à seca em dois híbridos contrastantes à seca (DKB 390 e BRS 1030, tolerante e sensível, respectivamente). A deficiência hídrica foi imposta por 10 dias no estágio de florescimento associada a uma dose de 100 μ M de ácido abscísico aplicada na parte aérea. Avaliações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila, teor relativo de água (RWC) e teor endógeno de ABA foram realizadas nos dias de estresse e também na recuperação hídrica (volta da irrigação). A relação funcional entre RWC com parâmetros de trocas gasosas e fluorescência também foi realizada e observou-se uma significativa relação. Na

¹Eng.-Agr., Phd, Pesquisador em Fisiologia da Produção, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. pcesar@cnpmc.embrapa.br

²Pós-doutorando na Unifal, Alfenas, MG. thiagonepre@hotmail.com

³ Eng.-Agr., Phd, Pesquisador em Manejo de Irrigação, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. emilio@cnpmc.embrapa.br

recuperação hídrica não foram observadas diferenças entre os tratamentos. O DKB 390 apresentou maior taxa fotossintética (P_n) e taxa de transporte de elétrons (ETR) frente ao estresse hídrico, enquanto que o BRS 1030 resultou na maior concentração de carbono interno (C_i), menor *quenching* fotoquímico (qP) e não fotoquímico (NPQ) e menor relação Fv/Fm. O DKB 390 foi mais responsivo a aplicação de ABA do que o BRS 1030, apresentando maior teor endógeno de ABA no primeiro dia de estresse. O tratamento com ABA no DKB 390 aliviou o efeito do estresse hídrico através da manutenção do status hídrico, do aumento dos parâmetros fotossintéticos, e da diminuição do declínio nas funções do PSII durante o estresse.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; estresse hídrico; status hídrico; trocas gasosas.

Introdução

Nas plantas de modo geral, quando elas estão em condições de baixa disponibilidade hídrica, a perda de água excede a absorção em intensidade suficiente para causar o decréscimo no conteúdo de água e a redução do turgor, resultando numa diminuição da expansão celular. Esse fato pode também causar alterações de vários processos morfológicos e bioquímicos (CHAVES et al., 2003).

O fitormônio ABA (ácido abscísico) controla muitos processos importantes no crescimento e desenvolvimento da planta (TARDIEU et al., 2010). Além de amplas funções no desenvolvimento e crescimento ele também regula respostas adaptativas em condições adversas. Sob baixa disponibilidade hídrica há um grande acúmulo de ABA regulando a abertura e o fechamento dos estômatos. Seu acúmulo em folhas estressadas exerce um grande papel na redução

da perda de água pela transpiração (LIU et al., 2005). O fechamento estomático também pode ser causado pelo aumento do transporte de ABA (através do xilema), produzido nas raízes, em contato com o solo seco, para a parte aérea (SCHACHTMAN; GOODGER, 2008).

Condição de déficit hídrico moderado pode levar uma redução marcante na eficiência fotossintética por fatores estomáticos (fechamento dos estômatos), entretanto, com o aumento da intensidade do estresse, começam a ocorrer limitações não estomáticas, como inibição ou danificação do metabolismo bioquímico (enzimas da fotossíntese) e das reações fotoquímicas (atividade do fotossistema II) (BEYEL; BRUGGEMANN, 2005; XU et al., 2008; GUÓTH et al., 2009).

Estudos sobre a fotossíntese em milho sob diferentes condições ambientais são ferramentas importantes para uma seleção mais “refinada” de genótipos tolerantes, obtendo altas produtividades em meio a estresses abióticos (YU; SETTER, 2003; KIM et al., 2006). Juntamente com a fotossíntese, a fluorescência da clorofila (principalmente se for medida simultaneamente usando sistemas de trocas gasosas com câmara de fluorescência integrada) pode ajudar bastante na diferenciação de híbridos de milho e no entendimento fisiológico do processo em condições de seca (LONG; BERNACCHI, 2003; O’ NEILL et al., 2006).

O milho é particularmente sensível à seca, contudo seu comportamento frente a esse estresse pode variar de acordo com a severidade e a duração de imposição do estresse, estágio fenológico e material genético (SOLER et al., 2007). Uma das práticas que estão ganhando destaque nos últimos tempos é a aplicação exógena de substâncias em plantas que vem aumentando a tolerância de cultivares em áreas com deficiência hídrica. No milho, por exemplo, observou-se que a aplicação de trealose e brasinoesteroides levou a um aumento

nos parâmetros de relações hídricas e de trocas gasosas, como fotossíntese (P_n), condutância estomática (g_s), transpiração (E), concentração intercelular de CO_2 (C_i) e eficiência do uso da água (WUE) (FAROOQ et al., 2009a; ALI; ASHRAF, 2011; ANJUM et al., 2011).

Apesar de poucos trabalhos envolvendo milho com aplicação de ABA e trocas gasosas, Aroca et al. (2003), em estudos de estresse pelo frio, observaram que genótipos tratados com ABA apresentaram maior tolerância devido a maior capacidade de enfrentar o déficit hídrico (pelo decréscimo da condutância estomática) causado pelo estresse. Pouco se sabe sobre a interação entre a aplicação de ABA e genótipos de milho tolerantes e sensíveis à seca. Já com relação à aplicação de ABA e estresse oxidativo em milho, sabe-se que o ABA aumenta atividade enzimática antioxidante em genótipos tolerantes à seca (KELLOS et al., 2008). Os objetivos deste trabalho foram caracterizar dois híbridos de milho contrastantes à seca através do teor relativo de água e de ABA foliar, fluorescência da clorofila e trocas gasosas e estudar o efeito da aplicação do ABA nos dois genótipos.

Materiais e Métodos

Material vegetal e condições de crescimento

Foram utilizados dois híbridos contrastantes para tolerância à seca: DKB 390 (tolerante) e BRS 1030 (sensível), este último oriundo do Programa de Melhoramento da Embrapa. O ensaio foi conduzido, em regime de casa de vegetação, no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (Embrapa), em Sete Lagoas, estado de Minas Gerais, Brasil (altitude de 732 m, latitude Sul 19°28', longitude oeste 44°15'). As médias de temperaturas, máxima e mínima, registradas durante o

período de avaliação foram de 29,2 °C e 22,5 °C, respectivamente. A umidade relativa do ar oscilou entre 52% a 78%. Utilizaram-se duas plantas por vaso de 20 litros, preenchidos previamente com solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico Típico. A adubação foi feita de acordo com a recomendação da análise química do solo, aplicando-se no momento do plantio uma adubação básica com 5-20-20+Zn com doses de 23 g.20 Kg⁻¹ de solo. As plantas foram irrigadas regularmente mantendo uma ótima umidade do solo até a imposição do estresse. Todos os tratamentos fitossanitários necessários à cultura foram aplicados.

Imposição do estresse hídrico, aplicação de ABA e design experimental

O teor de água no solo foi monitorado diariamente nos períodos da manhã e da tarde (9 e 15 horas), com o auxílio de um sensor de umidade **Watermark** (tensiômetro) modelo 200SS – 5” (IRROMETER, Califórnia – USA), instalado no centro dos vasos de cada repetição, na profundidade de 20 cm. Estes sensores detectam a tensão de água no solo com base na resistência elétrica, e foram acoplados a medidores digitais (Watermark meter) da mesma empresa. Os valores variam de 0 kPa (totalmente úmido) a -200 kPa (totalmente seco). A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor, e a água foi repostada até a capacidade de campo (CC) durante o período que antecedeu a imposição dos tratamentos. Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita em função da curva de retenção de água do solo.

No pré-florescimento, foram impostos dois tratamentos hídricos: irrigado e estressado. No primeiro, a reposição hídrica foi realizada diariamente até o solo atingir a umidade próxima a CC, onde a tensão da água no solo é de aproximadamente -18 kPa, enquanto que no segundo tratamento, a indução do estresse hídrico foi realizada

diariamente aplicando-se no mínimo 50% da água total disponível, ou seja, até a tensão da água no solo atingir no mínimo -138 kPa, cujo valor corresponde ao solo especificado. Esse estresse foi mantido por 10 dias.

Com 12 horas da imposição do estresse as plantas foram tratadas com (+/-)-cis, trans-ABA (Sigma-Aldrich, St Louis, USA) na concentração de 100 μ M. O ABA foi primeiro dissolvido em 1 ml de etanol 70% e em seguida completado o volume para 1 litro. Logo após, a solução foi aplicada nas folhas (AROCA et al., 2003).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial com 8 tratamentos: T1: DKB 390 estressado com ABA, T2: DKB 390 estressado sem ABA, T3: DKB 390 irrigado com ABA, T4: DKB 390 irrigado sem ABA, T5: BRS 1030 estressado com aplicação de ABA exógeno, T6: BRS 1030 estressado sem ABA, T7: BRS 1030 irrigado com ABA, T8: BRS 1030 irrigado sem ABA e 4 épocas de coleta: 1 e 10 dias de estresse hídrico e 1 e 10 dias de recuperação hídrica, e 3 repetições. Para o teor relativo de água (RWC) e teor de ABA foram realizadas 6 coletas, devido a mais uma análise no 5º dia de estresse e no 5º dia de recuperação hídrica. As avaliações foram realizadas durante 10 dias na imposição do estresse hídrico, no momento em que as plantas se encontravam no florescimento pleno e durante 10 dias na recuperação hídrica das plantas (retomada da umidade do solo para a capacidade de campo).

Teor relativo de água

O estado hídrico das plantas foi avaliado através do teor relativo de água (RWC). Para determinar o RWC, 10 discos foliares (1 cm de diâmetro) por repetição foram pesados para obter o peso fresco (PF). Em seguida estes foram colocados para flutuar em água e após 18

horas a 4 °C no escuro, o peso túrgido foi determinado (PT). Esses discos então foram levados em estufa e secos a 72 °C e os peso secos (PS) foram obtidos. O cálculo para determinar o teor relativo de água foi $RWC (\%) = (PF-PS) / (PT-PS) \times 100$ (ANJUM et al., 2011).

Extração e quantificação de ABA foliar

Após a coleta dos tecidos foliares estes foram guardados em freezer a -80 °C. O método de extração do ABA foliar foi adaptado de Guóth et al. (2009). Quinhentos miligramas de tecido foliar foram macerados em nitrogênio líquido, em seguida foram adicionados 5 ml de 80% (v/v) metanol contendo 0,1 % de BHT como um antioxidante. O extrato foi incubado a 4 °C/4 h e subsequentemente centrifugado duas vezes a 4.000 rpm na mesma temperatura. O sobrenadante foi seco em rota e vaporizador a 26 °C. Para a quantificação, as amostras foram dissolvidas em tampão TBS (25 mM Tris, 100mM NaCl, 1mM MgCl₂ hexaidratado) (1,5 uL/100 mg de amostra), e a detecção foi feita utilizando Kits de ensaio imuno-enzimático (Phytodetec ABA Enzyme Immunoassay Test Kit – Sigma-Aldrich).

Medidas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila

As medidas de trocas gasosas foram feitas simultaneamente com a fluorescência da clorofila através de um sistema portátil de fotossíntese (IRGA, Model LI-6400, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) com câmara de fluorescência integrada (LI-6400-40 leaf chamber fluoremeter, Li-Cor). Todas as medidas foram realizadas no período da manhã entre 8h e 11h em uma folha totalmente expandida (folha da espiga). Os parâmetros avaliados foram taxa fotossintética foliar (P_n), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO₂ (C_i) e eficiência do uso da água (WUE, relação entre fotossíntese e transpiração). As medidas foram feitas em uma área foliar de 2

cm², com fluxo de CO₂ controlado utilizando cilindros (Licor) de 12 gramas numa concentração de 380 μmol mol⁻¹. A densidade de fluxo de fótons (PPFD) foi de 1.500 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura foliar foi controlada (26 °C).

Após uma adaptação de 30 minutos no escuro e temperatura de 26 °C, foi medida a fluorescência mínima (Fo) com uma luz suficientemente baixa evitando reações fotoquímicas e foi medida também a fluorescência máxima (Fm) aplicando-se por 0,8 segundos um pulso de luz saturante de 7.000 μmol de fótons m⁻² s⁻¹. Nas amostras adaptadas no escuro, a máxima eficiência do fotossistema (PSII) foi estimada pela razão Fv/Fm e Fv/Fo, e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no PSII foi calculada pela razão Fo/Fm (ROHÁCEK, 2002). Em seguida as folhas foram iluminadas com luz actínica com intensidade de 1.500 μmol de fótons m⁻² s⁻¹ por 20 minutos. Então a fluorescência constante (Fs) foi obtida e em seguida outro pulso de luz saturante foi aplicado por 1 s para obtenção da fluorescência máxima emitida pelas folhas (Fm'). A luz actínica foi removida e as folhas foram irradiadas com luz vermelho-distante, para obtenção de Fo adaptado a luz (Fo'). O *quenching* fotoquímico foi calculado como $qP = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo')$, e o *quenching* não fotoquímico foi calculado como $NPQ = (Fm - Fm') / Fm'$. Outros parâmetros também foram feitos, como: taxa de transporte de elétrons (ETR) = $[(Fm' - Fs) / Fm'] \times PPFD \times 0,5 \times 0,84$; mudança relativa da fluorescência da clorofila mínima (qo) = $(Fo - Fo') / Fo$; produção quântica fotoquímica efetiva adaptada à luz ($\Delta PSII$) = $Fm' - Fs / Fm' = \Delta F / Fm'$ (VAN KOOTEN; SNEL, 1990).

Análise dos dados

Para todos os parâmetros analisados foram calculadas as médias e o erro padrão. Para análise estatística dos resultados, utilizou-se a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias

Skott-Knott, a 0.05% de significância ($P \leq 0.05$), no programa Sisvar versão 4.3 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil). A relação funcional entre teor relativo de água (RWC) com parâmetros de trocas gasosas e fluorescência e a relação funcional da taxa fotossintética (P_n) com ETR e F_v/F_m foram determinadas por análise de regressão linear e não linear utilizando o programa TableCurve 2D versão 5.01, com um nível de significância de 0.05 ($P \leq 0.05$)* e de 0.01 ($P \leq 0.01$)**. Outras análises de regressão com outras características foram realizadas, porém sem evidências significativas (dados não mostrados).

Resultados

Monitoramento da umidade do solo

A Figura 1 ilustra a tensão de água no solo nos diversos tratamentos. Nos 10 primeiros dias, em todos os tratamentos estressados tanto para DKB 390 quanto para BRS 1030, com ou sem aplicação de ABA, observou-se que os valores de tensão de água no solo variaram entre -139 a -192 kPa (Figuras 1A, 1B). Nesses mesmos tratamentos, considerando os dias de avaliação das características fisiológicas (1 e 10 dias), observou-se uma diminuição gradativa da tensão de água no solo. Após os 10 dias de deficiência hídrica iniciou-se a reidratação do solo chegando a variações nas leituras entre -10 e -25 kPa, indicando umidade do solo próximas a capacidade de campo (Figuras 1A, 1B). No tratamento irrigado sem aplicação de ABA ocorreu menor controle da umidade tendo maiores variações na tensão do solo (Figura 1C). No quinto dia, observou-se maior tensão (-49 kPa) nos vasos plantados com BRS 1030. No tratamento irrigado com aplicação de ABA os valores de tensão de água do solo variaram menos e tiveram médias mais próximas da capacidade de

campo (Figura 1D).

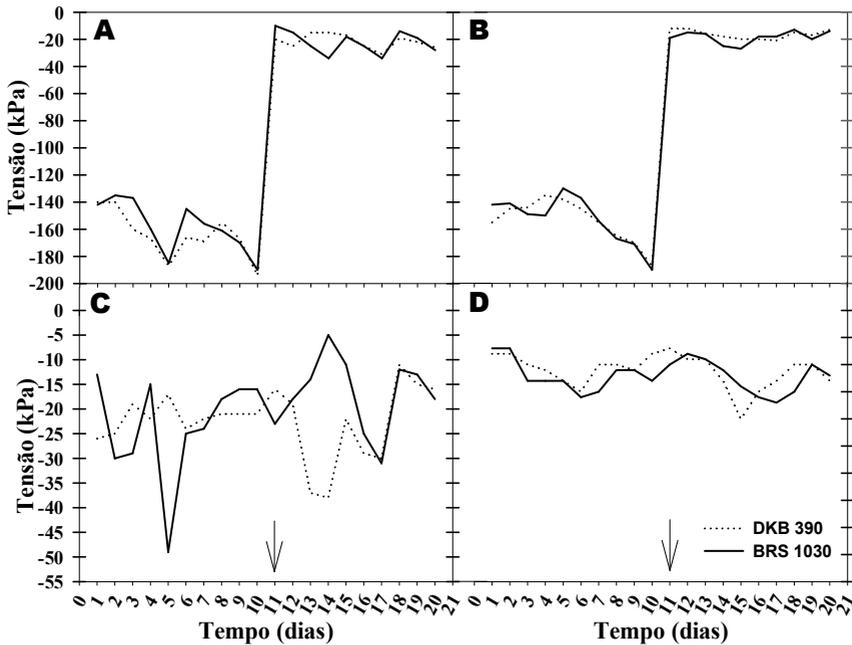


Figura 1. Valores médios da tensão da água no solo medidos com tensiômetros Watermark durante a imposição do estresse e recuperação hídrica. (A) DKB 390 e BRS1030 estressados (B) DKB 390 e BRS1030 estressados com aplicação de ABA (C) DKB 390 e BRS1030 irrigados (D) DKB 390 e BRS1030 irrigados com aplicação de ABA. Setas indicam início da recuperação hídrica

Teor relativo de água

Com relação ao teor relativo de água (RWC), para os tratamentos irrigados tanto no DKB 390 quanto no BRS 1030 e mesmo com a aplicação de ABA, não houve diferenças durante os dias de análises

(Figura 2). Contudo, para todos os tratamentos com imposição de estresse hídrico houve uma redução efetiva quando comparados aos 10 dias seguintes de reirrigação (recuperação hídrica).

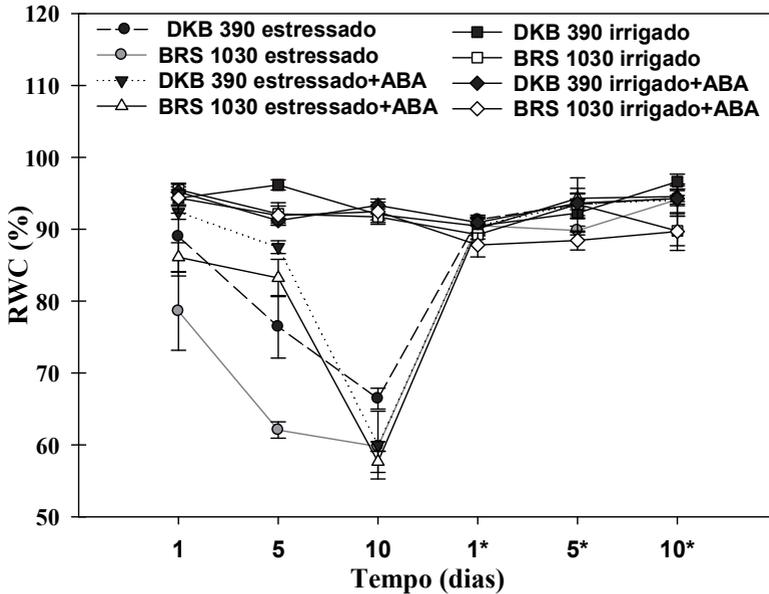


Figura 2. Teor relativo de água (RWC) durante a imposição do estresse e recuperação hídrica em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030) com e sem aplicação de ABA exógeno. Cada valor indica a média do tratamento \pm S.E e * indicam fase da recuperação hídrica.

No primeiro dia de imposição do estresse, a maior redução do teor relativo de água (RWC) foi no híbrido sensível (BRS 1030 estressado) seguido dele tratado com ABA (Figura 2). No quinto dia de estresse, o tratamento BRS 1030 estressado apresentou uma significativa redução seguida do DKB 390 estressado. Ainda no quinto dia de estresse, os dois híbridos estressados tratados com ABA tiveram maior RWC do que aqueles sem aplicação de ABA,

porém, o DKB apresentou maior RWC. Com 10 dias de imposição do estresse, o DKB 390 estressado apresentou menor redução do teor relativo de água. Não houve significativas diferenças nos tratamentos estressados na recuperação hídrica (Figura 2).

Teor de ácido abscísico (ABA)

Tratamentos irrigados tiveram menor teor de ABA do que os estressados. No primeiro dia de estresse observou-se que o DKB 390 estressado+ABA apresentou maior teor de ABA seguido dos tratamentos BRS 1030 estressado+ABA e DKB 390 estressado (Figura 3). No quinto dia sob estresse, o DKB 390 estressado+ABA apresentou significativamente maior teor, seguido dos outros tratamentos estressados. Com o aumento de dias sob estresse (10 dias) houve inversão com o BRS 1030 estressado+ABA significativamente maior, seguido do DKB 390 estressado+ABA, BRS 1030-estressado e DKB irrigado+ABA (Figura 3). No primeiro dia de recuperação hídrica os tratamentos BRS 1030 estressado e estressado+ABA apresentaram os maiores valores seguidos dos outros tratamentos. No quinto e décimo dia de recuperação hídrica não houve diferenças entre os tratamentos (Figura 3).

Trocas gasosas

Com relação à taxa fotossintética foliar (P_n) no primeiro dia, o déficit hídrico afetou significativamente os tratamentos estressados, porém, foi mais pronunciado no tratamento BRS 1030 estressado+ABA (Figura 4A). Com 10 dias de estresse, os tratamentos DKB 390 estressado e BRS 1030 estressado apresentaram menor P_n com valores médios de 5,9 e 4,0 $\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. A aplicação de ABA aumentou a taxa fotossintética sendo que o DKB 390 teve maior taxa. Não houve diferenças entre os tratamentos na recuperação hídrica (1* e 10* dias) (Figura 4A).

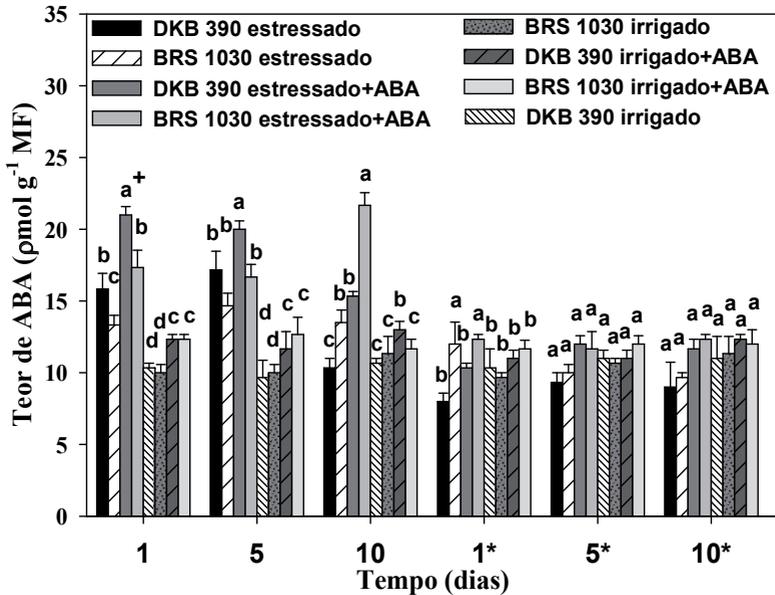


Figura 3. Teor de ácido abscísico (ABA) durante a imposição do estresse e recuperação hídrica em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030) com e sem aplicação de ABA exógeno. + Médias seguidas por mesma letra em cada dia não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ($P \leq 0.05$). Cada barra indica a média do tratamento \pm S.E e * indicam fase da recuperação hídrica.

Tanto no primeiro quanto no segundo dia de estresse, os tratamentos estressados apresentaram menor condutância estomática (g_s), apesar de não diferirem significativamente entre si. E não houve diferenças entre os tratamentos na recuperação hídrica (Figura 4B).

No primeiro dia, os tratamentos irrigados juntamente com DKB 390 estressado apresentaram menor concentração intercelular de CO_2 (C_i) (Figura 4C). A maior C_i foi verificada no BRS1030 estressado+ABA seguido dos tratamentos BRS 1030 estressado e

DKB 390 estressado+ABA. No décimo dia de estresse, o BRS 1030 estressado e estressado+ABA apresentaram a maior concentração intercelular de CO_2 (C_i) seguido dos outros tratamentos estressados. Os tratamentos irrigados foram os de menores concentrações, sendo que também não houve diferenças entre os tratamentos na recuperação hídrica (Figura 4C).

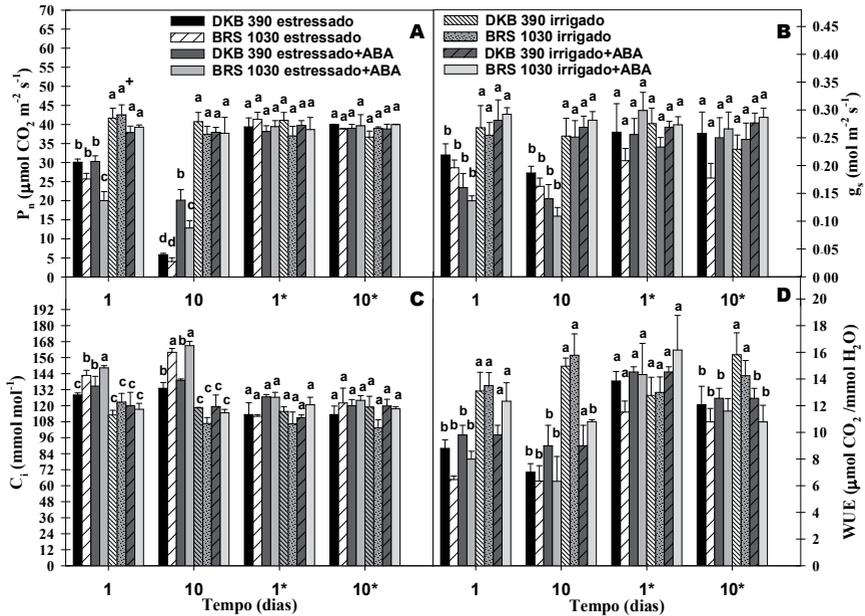


Figura 4. Parâmetros de trocas gasosas durante a imposição do estresse e recuperação hídrica em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030) com e sem aplicação de ABA exógeno. (A) taxa fotossintética (P_n), (B) condutância estomática (g_s), (C) concentração intercelular de CO_2 (C_i) e (D) eficiência do uso da água (WUE). + Médias seguidas por mesma letra em cada dia não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ($P \leq 0.05$). Cada barra indica a média do tratamento \pm S.E e * indicam fase da recuperação hídrica.

Para a eficiência do uso da água (WUE) no primeiro dia, foi verificada uma diminuição nos tratamentos estressados em relação aos irrigados (Figura 4D). E com 10 dias de estresse foi verificado o mesmo comportamento, com exceção do BRS 1030 irrigado+ABA, que foi significativamente igual aos tratamentos estressados. Já com 10 dias de recuperação hídrica, os tratamentos DKB 390 irrigado e BRS 1030 irrigado tiveram maiores WUE (Figura 4D).

Fluorescência da clorofila

Nos parâmetros de fluorescência de clorofila não foi verificada nenhuma diferença significativa na recuperação hídrica entre os tratamentos (Figura 5).

Os tratamentos BRS 1030 irrigado+ABA, BRS 1030 estressado e estressado+ABA apresentaram menor produção quântica fotoquímica efetiva adaptada à luz (Δ PSII) no primeiro dia de estresse (Figura 5A). No décimo dia, os estressados sem aplicação de ABA dos dois híbridos mais o BRS 1030 estressado+ABA resultaram nas menores médias (Figura 5A)

Observa-se na Figura 5B que no primeiro dia sob estresse o *quenching* fotoquímico (qP) diminuiu significativamente nos tratamentos BRS 1030 estressado e estressado+ABA e DKB 390 estressado+ABA. Já no décimo dia, todos os estressados incluindo os com aplicação de ABA apresentaram menor qP, mas não diferiram entre si (Figura 5B).

Para o *quenching* não fotoquímico (NPQ), tanto no primeiro quanto no décimo dia de estresse, os tratamentos BRS 1030 estressado e estressado+ABA apresentaram significativamente maiores médias em relação aos tratamentos DKB 390 estressado e estressado+ABA, contudo, as menores médias foram verificadas nos tratamentos irrigados (Figura 5C).

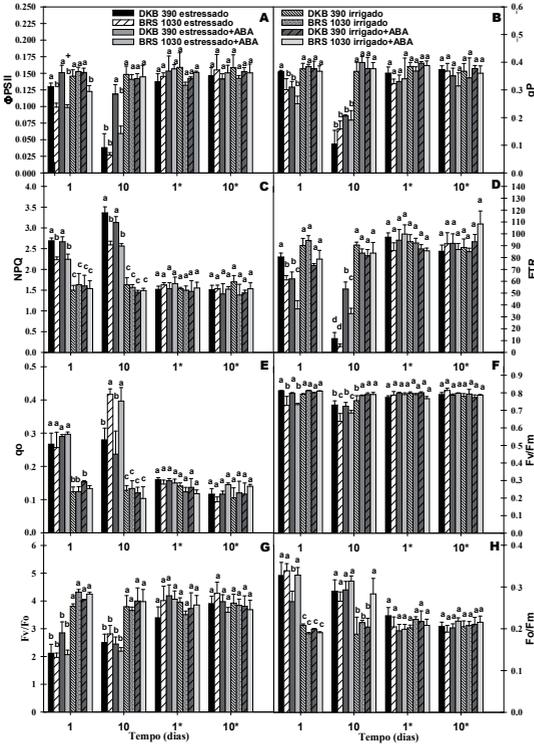


Figura 5. Parâmetros de fluorescência da clorofila durante a imposição do estresse e recuperação hídrica em dois híbridos contrastantes a seca (DKB 390 e BRS 1030) com e sem aplicação de ABA exógeno. **(A)** produção quântica fotoquímica efetiva adaptada a luz (ΦF_{II}), **(B)** quenching fotoquímico (qP), **(C)** quenching não-fotoquímico (NPQ), **(D)** taxa de transporte de elétrons, **(E)** mudança relativa da fluorescência da clorofila mínima (q_o), **(F)** a máxima eficiência do fotossistema II (F_v/F_m), **(G)** eficiência máxima do processo fotoquímico no PSII (F_v/F_o) e **(H)** produção quântica basal dos processos não-fotoquímicos no fotossistema II (F_o/F_m). + Médias seguidas por mesma letra em cada dia não diferem entre si pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade ($P \leq 0.05$). Cada barra indica a média do tratamento \pm S.E e * indicam fase da recuperação hídrica.

Na taxa de transporte de elétrons (ETR) no primeiro dia houve uma redução significativa no tratamento BRS 1030 estressado+ABA seguido dos BRS 1030 estressado e DKB 390 estressado+ABA (Figura 5D). Observa-se uma queda brusca na ETR do primeiro para o décimo dia de estresse, principalmente nos tratamentos estressados sem ABA seguido do BRS 1030 estressado+ABA (Figura 5D).

No primeiro dia, os tratamentos estressados, incluindo os com aplicação de ABA, apresentaram a maior mudança relativa da fluorescência da clorofila mínima (q_0), mas não diferiram entre si (Figura 5E). Mas com o aumento do estresse hídrico (10 dias), o BRS 1030 estressado e estressado+ABA apresentaram maior q_0 do que os outros tratamentos estressados (Figura 5E).

Com relação à máxima eficiência do fotossistema II (F_v/F_m), observou-se que no primeiro dia de estresse o híbrido BRS 1030 (estressado e estressado+ABA) apresentou uma diminuição significativa em relação aos outros tratamentos (Figura 5F). No décimo dia de estresse, houve uma maior redução da relação F_v/F_m do que no primeiro dia, contudo, ainda os tratamentos BRS 1030 estressado e estressado+ABA tiveram menor média (Figura 5F).

Os tratamentos estressados incluindo os com aplicação de ABA, no primeiro e no décimo dia de estresse, apresentaram uma menor eficiência máxima do processo fotoquímico no PSII (F_v/F_0), mas não diferiram entre si (Figura 5G).

Considerando o primeiro dia de estresse, após os tratamentos irrigados, o DKB 390 estressado+ABA apresentou a menor média da produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no PSII (F_0/F_m) (Figura 5H). E no décimo dia, os tratamentos DKB 390 irrigado e irrigado+ABA e BRS 1030 irrigado foram os que apresentaram as

menores médias (Figura 5H).

Relação entre os parâmetros de trocas gasosas e RWC

Nos tratamentos estressados, os valores de teor relativo de água (RWC) foram significativamente relacionados com a taxa fotossintética (P_n) tanto para DKB 390 ($y = -0.04x^2 + 7.89x - 330.44$; $R^2 = 0.89^{**}$) quanto para o BRS 1030 ($y = 52.40x^{0.5} - 0.01x^2 - 352.80$; $R^2 = 0.87^{**}$) (Figura 6A). Em decorrência de RWC menores, o BRS 1030 possuiu P_n maior que o DKB 390. Contudo, sob baixos RWC e com aplicação de ABA, ocorreu inversão e o DKB 390 resultou em uma maior P_n do que o BRS 1030 (Figura 6B). No tratamento estressado com ABA também houve significativa relação de RWC com taxa fotossintética (P_n) no DKB 390 ($y = -0.008x^2 + 1.80x - 56.02$; $R^2 = 0.85^{**}$) e no BRS 1030 ($y = 0.68x - 28.35$; $R^2 = 0.67^{**}$) (Figura 6B). Na relação entre RWC e concentração intercelular de CO_2 (C_i) apenas os tratamentos BRS 1030 estressado ($y = -0.0013x^{2.5} + 0.09x^{1.5} + 154.95$; $R^2 = 0.68^{**}$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y = 216.71x^{0.5} - 13.67x - 691.18$; $R^2 = 0.87^{**}$) foram significativamente correlacionados (Figura 6C, D).

Relação entre os parâmetros de fluorescência e RWC

Para o teor relativo de água (RWC) e a função da taxa de transporte de elétrons (ETR), os tratamentos DKB 390 estressado ($y = 868.43x^{0.5} - 46.07x - 4001.16$; $R^2 = 0.88^{**}$), BRS 1030 estressado ($y = -0.06x^2 + 11.54x - 466.19$; $R^2 = 0.85^{**}$), DKB 390 estressado+ABA ($y = 0.038x^2 - 4.91x + 207.88$; $R^2 = 0.50^*$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y = 0.08x^2 - 11.49x + 406.53$; $R^2 = 0.58^*$) foram significativamente relacionados (Figuras 7A e 7B). Com aplicação de ABA, o DKB 390 apresentou maiores ETR em baixos RWC (Figura 7B).

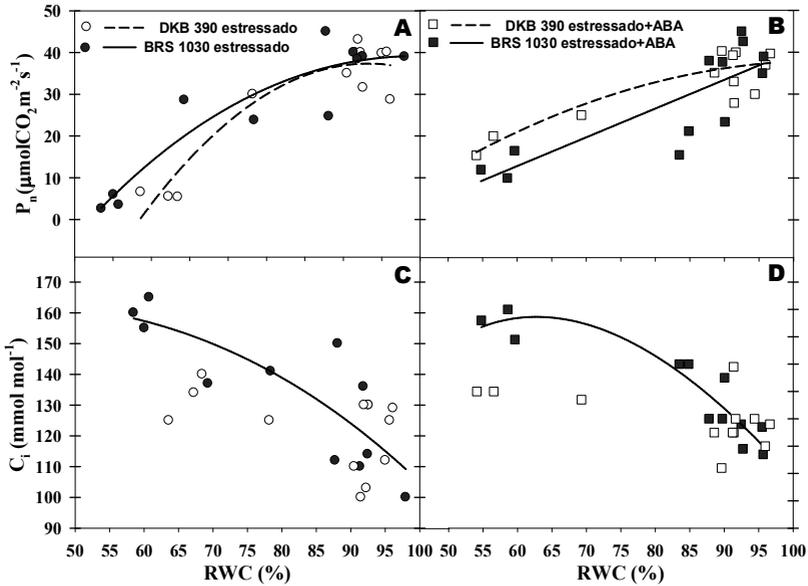


Figura 6. Teor relativo de água (RWC) relacionado com: taxa fotossintética (P_n) (A e B) e concentração intercelular de CO_2 (C_i) (C e D) em folhas do híbrido DKB 390 e BRS 1030. Ausência das retas indicam correlação não significativa.

Os valores de RWC e *quenching* fotoquímico (qP) foram significativamente relacionados nos tratamentos DKB 390 estressado ($y = 0.008x - 0.45$; $R^2 = 0.74^*$) e BRS 1030 estressado ($y = 0.005x - 0.101$; $R^2 = 0.60^*$) (Figura 7C). A aplicação de ABA afetou a relação de RWC e qP , pois levou o DKB 390 a maiores valores de qP em relação ao BRS 1030 (Figura 7D). Os valores dos tratamentos DKB 390 estressado+ABA ($y = 0.003x - 0.01$; $R^2 = 0.72^*$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y = -1.17x^{0.5} + 0.07x + 4.93$; $R^2 = 0.50^*$) também foram significativamente relacionados.

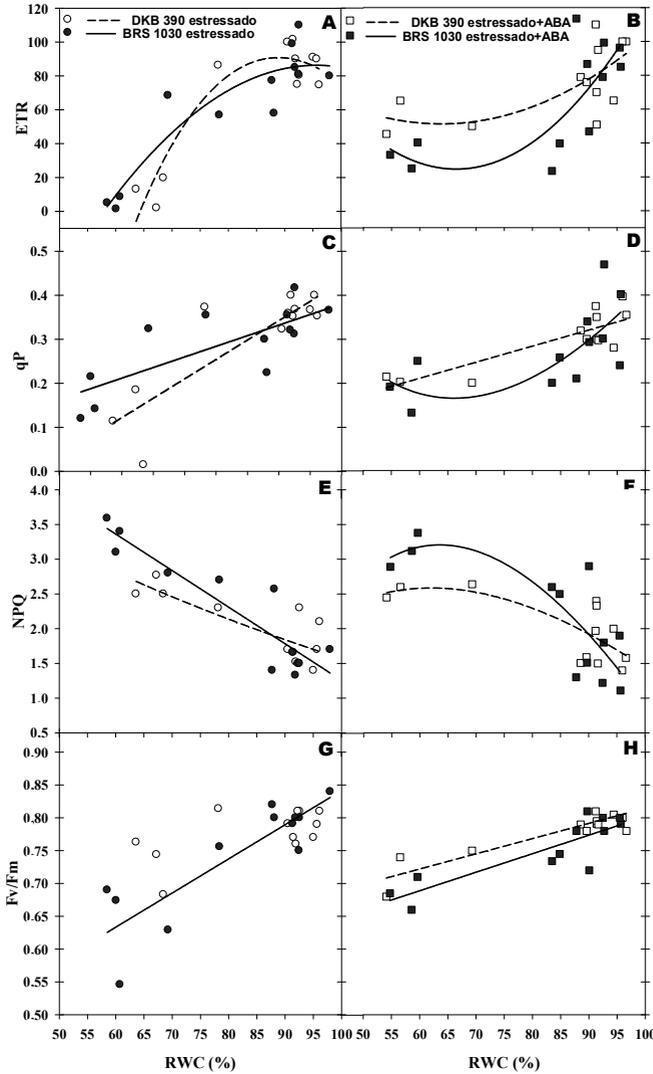


Figura 7. Teor relativo de água (RWC) relacionado com: taxa de transporte de elétrons (ETR) (A e B); quenching fotoquímico (qP) (C e D); quenching não fotoquímico (NPQ) (E e F) e máxima eficiência do fotossistema II (Fv/Fm) (G e H) em folhas do híbrido DKB 390 e BRS 1030. Ausência das retas indicam correlação não significativa.

Uma significativa relação foi encontrada entre RWC e *quenching* não fotoquímico (NPQ) nos tratamentos DKB 390 estressado ($y = -0.74x^{0.5} + 0.01x + 7.91$; $R^2 = 0.66^{**}$) e BRS 1030 estressado ($y = 0.02x^{0.5} - 0.05x + 6.42$; $R^2 = 0.85^{**}$) (Figura 7E), assim como nos tratamentos com aplicação de ABA: DKB 390 estressado+ABA ($y = 3.99x^{0.5} - 0.25x - 13.12$; $R^2 = 0.65^{**}$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y = 8.92x^{0.5} - 0.55x - 32.36$; $R^2 = 0.65^{**}$) (Figura 7F).

Nos tratamentos estressados apenas houve significância na relação entre RWC e máxima eficiência do fotossistema II (Fv/Fm) no tratamento BRS 1030 ($y = 0.005x + 0.32$; $R^2 = 0.72^{**}$) (Figura 7G). Com adição de ABA tanto o DKB 390 estressado+ABA ($y = 0.002x + 0.58$; $R^2 = 0.87^{**}$) quanto BRS 1030 estressado+ABA ($y = 0.002x + 0.51$; $R^2 = 0.75^*$) apresentaram relação significativa (Figura 7H).

Relação entre taxa fotossintética (P_n) com ETR e Fv/Fm

Houve significativa relação entre a taxa fotossintética (P_n) e a taxa de transporte de elétrons (ETR). A análise de regressão indicou uma significativa dependência entre essas duas características no DKB 390 estressado ($y = 2.31x + 1.94$; $R^2 = 0.90^{**}$) e no BRS 1030 estressado ($y = 2.25x - 1.02$; $R^2 = 0.90^{**}$) (Figura 8A). Da mesma forma para os tratamentos DKB 390 estressado+ABA ($y = 2.14x + 6.97$; $R^2 = 0.70^{**}$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y = 2.31x - 0.63$; $R^2 = 0.84^{**}$) também foram encontradas significativas dependências (Figura 8B).

Para a P_n e em função da Fv/Fm foram observadas significativas dependências entre elas em todos os tratamentos: DKB 390 estressado ($y = 0.001x + 0.73$; $R^2 = 0.75^{**}$), BRS 1030 estressado ($y = 0.004x + 0.62$; $R^2 = 0.60^{**}$) (Figura 8A), DKB 390 estressado+ABA ($y = 0.003x + 0.66$; $R^2 = 0.63^*$) e BRS 1030 estressado+ABA ($y =$

$0.003x + 0.65$; $R^2 = 0.85^{**}$) (Figura 8B).

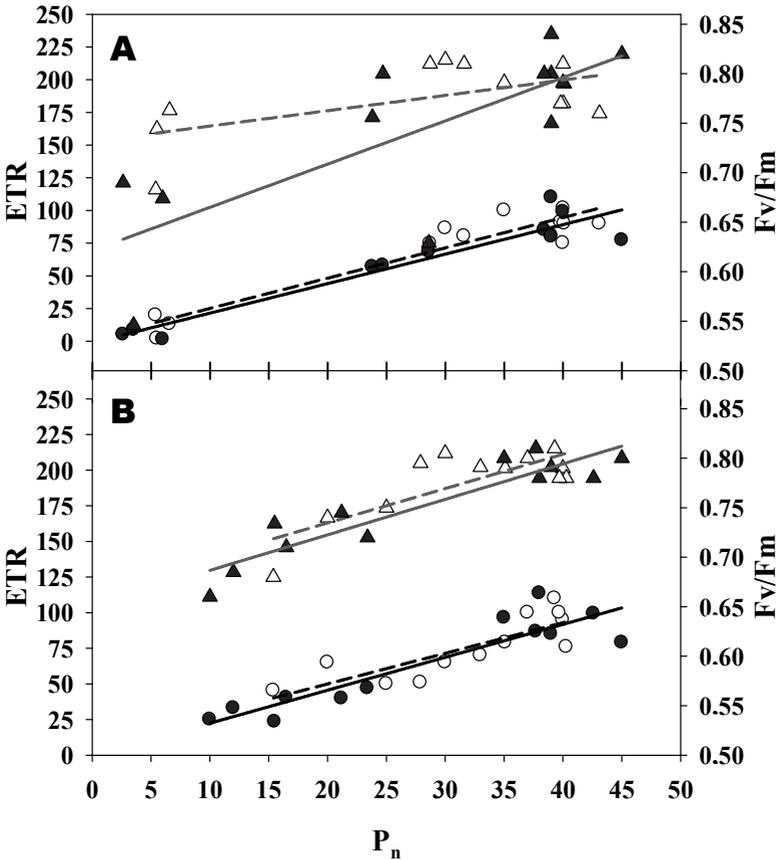


Figura 8. Taxa fotossintética (P_n) relacionada com taxa de transporte de elétrons (ETR) (triângulo) e com máxima eficiência do fotossistema II - F_v/F_m (círculo) em folhas do híbrido DKB 390 (triângulo e círculo aberto) e BRS 1030 (triângulo e círculo fechado). Reto contínua representa o híbrido BRS1030 e reto tracejada representa o híbrido DKB 390. **A** híbridos estressados e **B** híbridos estressados com aplicação de ABA.

Discussão

Foi observado neste trabalho que durante os 10 dias de restrição hídrica, a umidade foi igual ou menor a 50% da capacidade total de água disponível no solo (Figura 1), significando a presença de um estresse que pode ser descrito como entre moderado nos primeiros dias (1 e 5 dias) e severo nos últimos (10 dias) (BETTAIEB et al., 2011).

O estresse de seca significativamente afetou os teores relativos de água (RWC), teor de ABA, os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência avaliados neste trabalho, entretanto, o uso do tratamento de ABA nas folhas alterou significativamente os valores de alguns destes parâmetros.

Com aplicação de ABA na parte aérea, no primeiro dia de estresse, DKB 390 aumentou seu conteúdo interno de ABA sugerindo ser mais receptivo ao ABA exógeno do que o híbrido sensível BRS 1030. Mesmo sem o tratamento com ABA, DKB 390 apresentou maior teor de ABA foliar (Figura 2). Jiang e Zhang (2002) aplicando ABA em milho também observaram um aumento interno deste hormônio. No início do estresse hídrico uma maior quantidade de ABA foliar pode ser importante para ativação do sistema antioxidante enzimático (YE et al., 2011) que é fundamental para a sobrevivência em milho durante o estresse (CHUGH et al. 2011; TAN et al., 2011).

Com o aumento do estresse (10 dias) percebe-se que o BRS 1030 estressado+ABA apresentou maior teor de ABA do que o DKB 390 estressado+ABA. Sem aplicação de ABA, o BRS 1030 ainda resultou nos maiores teores. Esta diminuição do teor de ABA no DKB 390 durante o estresse hídrico sugere sua maior tolerância à seca, pois em alguns trabalhos é relatada uma diminuição da quantidade interna

de ABA foliar durante a seca para genótipos tolerantes (COSTA; HUANG 2007; FAN et al., 2009).

O BRS 1030 apresentou menor status hídrico (teor relativo de água) do que DKB 390. Além disso, a aplicação de ABA resultou em um aumento no teor relativo de água (RWC), principalmente no DKB 390 (Figura 3). Esta capacidade de manter o status hídrico no híbrido tolerante também foi observada em genótipos tolerantes de milho egípcios (MOUSSA; ABDEL-AZIZ, 2008). A aplicação de hormônios como brassinoesteroides em arroz (FAROOQ et al., 2009a) e ácido abscísico em *Cynodon dactylon* (LU et al., 2009) também levaram a maior RWC.

Cultivares tolerantes à seca mantendo maior turgor celular podem ter maior crescimento devido à atividade das expansinas, que são inclusive reguladas pelo ácido abscísico e pela auxina acumulados nos tecidos (ZHAO et al., 2012).

No início do estresse hídrico, um aumento do status hídrico do híbrido tolerante pode ser devido à maior quantidade de ABA encontrada em suas folhas porque o ABA pode aumentar a condutividade hidráulica quando transportado das folhas para as raízes, resultando em maior absorção de água e permitindo um melhor desempenho sob condições de seca (KUDOYAROVA et al., 2011).

Uma das primeiras respostas que ocorrem sob exposição à seca é o fechamento estomático seguido da diminuição da taxa fotossintética (P_n) (FAROOQ et al., 2009b). A P_n foi fortemente afetada pelo estresse hídrico nos genótipos estudados, e com 10 dias de estresse a aplicação de ABA levou os 2 híbridos (mas em maior intensidade no DKB 390) a um aumento da taxa fotossintética (Figura 4A). Pela análise de regressão, observa-se que o DKB 390 foi mais responsivo

à aplicação de ABA, resultando em maior fotossíntese sob baixos teores relativos de água (RWC) (Figuras 6A e B). Variabilidade genética para a tolerância à seca foi encontrada em cultivares de milho portuguesas que apresentaram maior fotossíntese (P_n) e condutância estomática (g_s) frente ao estresse (CARVALHO et al., 2011).

Nos tratamentos estressados com aplicação de ABA, ocorreu um decréscimo em RWC e um declínio da fotossíntese (Figura 6B) assim como uma tendência de aumento na taxa de transporte de elétrons (ETR) (Figura 7B) Isto sugere que em estresse mais severo nesses híbridos estudados ocorre uma ativação de um caminho alternativo para o fluxo de elétrons (exemplo redução de O_2 ; assimilação de nitrogênio) (RIPLEY et al., 2007; LAWLOR; TEZARA 2009).

O DKB 390 teve maior produção quântica fotoquímica efetiva adaptada à luz (Φ_{PSII}) do que o BRS 1030. Além disso, a aplicação de ABA levou o DKB 390 a um significativo aumento da Φ_{PSII} (Figura 5A). Assim como a ETR, a Φ_{PSII} é um indicador da capacidade fotossintética, pois mede o rendimento do transporte de elétrons no PSII (KALEFETOGLU; EKMEKÇI, 2009). Em milho, genótipos tolerantes tendem a ter maior produção quântica fotoquímica efetiva adaptada à luz (Φ_{PSII}) (DING et al., 2005; O'NEILL et al., 2006), contudo, nenhum trabalho foi encontrado envolvendo aplicação de ABA e fluorescência da clorofila.

Em todos os tratamentos estressados ocorreu uma diminuição na condutância estomática (g_s) (Figura 4B), entretanto, não houve diferenças entre os híbridos. Apesar de o ABA ser um importante hormônio relacionado com o fechamento estomático, não foram observados efeitos entre a aplicação de ABA e a g_s . O fechamento dos estômatos limita a desidratação, diminuindo o risco da cavitação

do xilema, que pode comprometer a sobrevivência da planta de milho (LI et al., 2009).

As concentrações intercelulares de CO_2 (C_i) aumentaram com o estresse hídrico, sendo marcante no BRS 1030 (Figura 4C). Este aumentou significativamente o C_i em baixos teores relativos de água (RWC) (Figuras 6C e D). Pode-se então sugerir, principalmente para o BRS 1030, que além de o fechamento estomático afetar a taxa fotossintética (P_n), houve uma limitação não estomática. Nas plantas tipo C_4 , apesar de alguns autores atribuírem a limitação estomática como fator responsável pela diminuição da fotossíntese no início do estresse, Lopes et al. (2011), em suas revisões, relatam claramente a presença também da limitação não estomática.

Pode-se observar nos dados apresentados neste trabalho que o estresse hídrico levou a uma diminuição na eficiência do uso da água (WUE), porém, sem diferenças entre os híbridos e entre os tratados com ABA. Uma maior sensibilidade dos estômatos através do controle estomático, frente ao estresse hídrico que resulta em maior WUE, é uma das importantes estratégias para a tolerância à seca em plantas tipo C_4 (ARAUS et al., 2010; LOPES et al., 2011).

Nos tratamentos estressados, a seca levou a uma diminuição na “abertura” dos centros de reação do fotossistema II medido pelo *quenching* fotoquímico (qP). No início do estresse ou quando o RWC esteve acima de 85%, o DKB 390 estressado teve maior qP em relação ao BRS 1030 estressado, porém, com a diminuição do RWC, o qP do DKB 390 caiu com maior intensidade do que no BRS 1030. Com a aplicação de ABA pode-se verificar que houve inversão com o DKB 390 sempre com maiores médias de qP (Figuras 5B, 7C e D). Esta melhor resposta do DKB 390 pode estar ligada ao seu melhor status hídrico encontrado quando foi aplicado o hormônio.

Vários trabalhos mostram diminuição de qP em milho sob estresse hídrico inclusive pelos genótipos sensíveis à seca que tendem a ter uma menor manutenção do status hídrico (EFEONGLU et al., 2009; CARVALHO et al., 2011).

Uma maior fotoinibição frente à seca pode estar ocorrendo no híbrido BRS 1030, pois além de menor qP ele apresentou um maior decréscimo da relação Fv/Fm e do *quenching* não fotoquímico (NPQ) (Figuras 5C e F). O NPQ está envolvido na dissipação do excesso de energia e um fraco aumento no BRS 1030 em relação ao DKB 390 pode ser devido a um pequeno pool do ciclo das xantofilas (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Isto pode ser comprovado pela maior qo (mudança relativa da fluorescência da clorofila mínima) encontrada no BRS 1030 (Figura 5E). Este parâmetro (qo) está relacionado com a quantificação do processo de dissipação térmica dentro dos centros de reação do PSII e também está ligado com a epoxidação das violoxantinas, com os mecanismos de fluxo regulatório e com a inativação dos centros de reação do PSII (fotoinibição) (ROHÁCEK, 2002; XU et al., 2008).

Houve uma relação linear significativa e positiva entre P_n e Fv/Fm e entre P_n e ETR (Figuras 8 A e B). Com isso pode-se concluir que um decréscimo da fotossíntese foi em parte explicado pelo declínio das funções do PSII. E que com a aplicação de ABA houve um alívio no estresse hídrico reduzindo este declínio das funções do PSII. Isto também foi evidenciado em milho por Xu et al. (2008).

Na análise da eficiência máxima do PSII neste trabalho foram utilizados dois parâmetros Fv/Fm e Fv/Fo (Figuras 5F e G), contudo, a relação Fv/Fm foi a que mais diferenciou os tratamentos. Diferentemente, Wu e Bao (2011) observaram significativas diferenças da relação Fv/Fo em genótipos de trigo contrastantes à seca e Hura et al. (2007) também observaram o mesmo em milho e triticale.

Na avaliação da produção quântica basal do processo não fotoquímico (Fo/Fm) não houve uma expressiva diferenciação entre os tratamentos estressados apesar de estes terem maiores valores do que os irrigados (Figura 5H). Alguns autores citam a utilização do aumento desta relação como indicativo de estresse, sugerindo valores normais ou padrões entre 0.14 a 0.20 (ROHÁCEK, 2002).

Os resultados deste trabalho mostram que o estresse hídrico afetou a atividade do PSII e os parâmetros de fotossíntese em ambos os híbridos, contudo, o DKB 390 apresentou melhor desempenho frente ao estresse. Conclui-se também que a aplicação de ABA nas folhas aliviou o efeito do estresse hídrico no híbrido tolerante DKB 390, através da manutenção do status hídrico, do aumento dos parâmetros fotossintéticos e da diminuição do declínio nas funções do PSII durante o estresse.

Referências

ALI, Q.; ASHRAF, M. Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: growth, photosynthesis, water relations and oxidative defense mechanism. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, p. 258-271, 2011.

ANJUM, S. A.; WANG, L. C.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; XUE, L. L.; ZOU, C. M. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, p. 177-185, 2011.

ARAUS, J. L.; SÁNCHEZ, C.; CABRERA-BOSQUET, L. Is heterosis in maize mediated through better water use? **New Phytologist**,

Oxford, v. 187, p. 392-406, 2010.

AROCA, R.; VERNIERI, P.; IRIGOYEN, J. J.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; TOGNONI, F.; PARDOSSI, A. Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling-induced water stress. **Plant Science**, Limerick, v. 165, p. 671-679, 2003.

BEYEL, V.; BRUGGEMANN, W. Differential inhibition of photosynthesis during pre-flowering drought stress in *Sorghum bicolor* genotypes with different senescence traits. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 124, p. 249-259, 2005.

BETTAIEB, I.; HAMROUNI-SELLAMI, I.; BOURGOU, S.; LIMAM, F.; MARZOUK, B. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 1103-1111, 2011. CARVALHO, R. C.; CUNHA, A.; SILVA, J. M. Photosynthesis by six Portuguese maize during drought stress and recovery. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 359-374, 2011.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 30, p. 239-264, 2003.

CHUGH, V.; KAUR, N.; GUPTA, A. K. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, New Delhi, v. 48, p. 47-53, 2011.

COSTA, M. da; HUANG, B. Drought survival and recuperative ability of bentgrass species associated with changes in abscisic acid and cytokinin production. **Journal of the American Society for**

Horticultural Science, v. 132, p. 133-141, 2007.

DING, L.; WANG, K. J.; JOANG, G. M.; LIU, M. Z.; NIU, S. L.; GAO, L. M. Post-anthesis changes in photosynthetic traits of maize hybrids released in different years. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 93, p. 108-115, 2005.

EFEOGLU, B.; EKMEKCI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**, v. 75, p. 31-42, 2009.

FAN, X. W.; LI, F. M.; SONG, L.; XIONG, Y. C.; AN, L. Z.; JIA, Y.; FANG, X. W. Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 136, p. 310-323, 2009.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; BASRA, S. M. A.; UD-DIN, I. Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, p. 262-269, 2009a.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOKAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p. 185-212, 2009b.

GUÓTH, A.; TARI, I.; GALLÉ, A.; CSISZÁR, J.; PÉCSVÁRADI, A.; CSEUZ, L.; ERDEI, L. Comparison of the drought stress responses of tolerant and sensitive wheat cultivars during grain filling: changes in flag leaf photosynthetic activity, ABA levels, and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 28, p. 167-176, 2009.

HURA, T.; HURA, K.; GRZESIAK, M.; RZEPKA, A. Effect of long-term

drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C_3 and C_4 plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 29, p. 103-113, 2007.

JIANG, M.; ZHANG, J. Involvement of plasma membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings. **Planta**, Berlin, v. 215, p. 1022-1030, 2002.

KALEFETOGLU, T.; EKMEKÇI, Y. Alterations in photochemical and physiological activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, p. 335-346, 2009.

KELLOS, T.; TÍMÁR, I.; SILÁGYI, V.; SZALAI, G.; GALIBA, G.; KOCSY, G. Stress hormones and abiotic stress have different effects on antioxidants in maize lines with different sensitivity. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 10, p. 563-572, 2008.

KIM, S. H.; SICHER, R. C.; BAE, H.; GITZ, D. C.; BAKER, J. T.; TIMLIN, D.; REDDY, V. R. Canopy photosynthesis, evapotranspiration, leaf nitrogen, and transcription profiles of maize in response to CO₂ enrichment. **Global Change Biology**, Oxford, v. 12, p. 588-600, 2006.

KUDOYAROVA, G.; VESELOVA, S.; HARTUNG, W.; FARHUTDINOV, R.; VESELOV, D.; SHARIPOVA, G. Involvement of root ABA and hydraulic conductivity in the control of water relations in wheat plants exposed to increased evaporative demand. **Planta**, Berlin, v. 233, p. 87-94, 2011.

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical

evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**, London, v. 103, p. 561-579, 2009.

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

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. A review of drought adaptation in crop plants: changes in vegetative and reproductive physiology induced by ABA-based chemical signals. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 56, p. 1245-1252, 2005.

LONG, S. P.; BERNACCHI, C. J. Gas exchange measurements, what they can tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 54, p. 2393-2401, 2003.

LOPES, M. S.; ARAUS, J. L.; VAN HEERDEN, P. D. R.; FOYER, C. H. Enhancing drought tolerance in C₄ crops. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 62, p. 3135-3153, 2011.

LU, S.; SU, W.; LI, H.; GUO, Z. Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H₂O₂- and NO-induced antioxidant enzyme activities. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 47, p. 132-138, 2009.

MAXWELL, K.; JOHNSON, N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 51, p. 659-668, 2000.

MOUSSA, H. R.; ABDEL-AZIZ, S. M. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 1, p. 31-36, 2008.

O' NEILL, P. M.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 681-687, 2006.

RIPLEY, B. S.; GILBERT, M. E.; IBRAHIM, D. G.; OSBORNE, C. P. Drought constraints on C-4 photosynthesis: stomatal and metabolic limitations in C-3 and C-4 subspecies of *Alloteropsis semialata*. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 58, p. 1351-1363, 2007.

ROHÁČEK, R. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationship. **Photosynthetica**, v. 40, p. 13-29, 2002.

SCHACHTMAN, D. P.; GOODGER, J. Q. D. Chemical root to shoot signaling under drought. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 13, p. 281-287, 2008.

SOLER, C. M. T.; HOOGENBOOM, G.; SENTELHAS, P. C.; DUARTE, A. P. Impact of water stress on maize grown off-season in a subtropical environment. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 193, p. 247-261, 2007

TAN, M.; LU, J.; ZHANG, A.; HU, B.; ZHU, X.; LI, W. The distribution and cooperation of antioxidant (Iso) enzymes and antioxidants in different subcellular compartments in maize leaves during water

stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 30, p. 255-271, 2011.

TARDIEU, F.; PARENT, B.; SIMONNEAU, T.; Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 33, p. 636-647, 2010.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. F. G. The use chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, The Hague, v. 25, p. 147-150, 1990.

WU, X.; BAO, W. Leaf growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in response to different water deficits in wheat cultivars. **Plant Production Science**, v. 14, p. 254-259, 2011.

XU, Z. Z.; ZHOU, G. S.; WANG, Y. L.; HAN, G. X.; LI, Y. J. Changes in chlorophyll fluorescence in maize plants with imposed rapid dehydration at different leaf ages. **Journal of Plant Growth Regulation**, Berlin, v. 27, p. 83-92, 2008.

YE, N.; ZHU, G.; LIU, Y.; LI, Y.; ZHANG, J. ABA Controls H₂O₂ accumulation through the induction of OsCATB in rice leaves under water stress. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 52, p. 689-698, 2011.

YU, L. X.; SETTER, T. L. Comparative transcriptional profiling of placenta and endosperm in developing maize kernels in response to water deficit. **Plant Physiology**, Washington, v. 131, p. 568-582, 2003.

ZHAO, M. R.; HAN, Y. Y.; FENG, Y. N.; LI, F.; WANG, W. Expansins are involved in cell growth mediated by abscisic acid and indole-3-

acetic acid under drought stress in wheat. **Plant Cell Reports**, New York, v. 31, n. 4, p. 671-685, 2012.

Embrapa

Milho e Sorgo



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

