

INDICADORES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA
EM TRÊS VARIEDADES DE MILHO
(*Zea mays* L.)

APRESENTADA AO DECANATO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

ROBERTO OSCAR PEREYRA ROSSIELLO

- Julho de 1978 -

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	10
II.	REVISÃO DE LITERATURA.....	50
III.	MATERIAL E MÉTODOS	50
IV.	RESULTADOS	63
	1. Teste de Germinação.....	63
	2. Resposta à Dessecação Progressiva do Solo.....	65
	2.1. Efeito da Supressão da Irrigação sobre a Mé- dia Varietal	65
	2.2. Comportamento Varietal em Resposta à Dese- cação Progressiva do Solo	89
V.	DISCUSSÃO	114
VI.	CONCLUSÕES	172
VII.	RESUMO.....	177
VIII.	SUMMARY	180
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	183

BIOGRAFIA

ROBERTO OSCAR PEREYRA ROSSIELLO, filho de Oscar Venancio Pereyra Padron e Irma Iria Rossiello Acevedo de Pereyra, nasceu em Montevideo, República Oriental del Uruguay, em 22 de abril de 1948.

Graduou-se em Engenharia Agrônômica em 1964, pela *Facultad de Agronomia, Universidad de la Republica* Montevideo, Uruguay. Na referida casa de estudos, desempenhou-se como Professor Colaborador na cadeira de Bioquímica, durante o período de 1968-1970.

Ingressou no curso de pós-graduação em Ciência do Solo, do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no ano de 1975. Durante o período de 1975-77, foi, bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) na categoria de Pós-Graduação.

A partir de agosto de 1976, integra o quadro docente do Departamento de Solos, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como Professor Colaborador a nível de Auxiliar de Ensino.

AGRADECIMENTOS

Deixamos consignados os nossos agradecimentos:

- ao Prof. Manlio Silvestre Fernandes, pela sua valiosa orientação durante a execução do presente trabalho;
- ao Prof. Antonio C. de Campo, pelos valiosos debates e pela cessão de seus laboratórios para a execução de parte do trabalho experimental;
- ao pessoal do Laboratório de Sementes e da Seção de Agrostologia da UEPAE, Itaguaí (EMBRAPA,RJ), nas dependências dos quais foi executado a maior parte do presente trabalho. Em especial, o nosso reconhecimento ao Dr. Sebastião Manhães Souto, da Seção de Agrostologia da UEPAE, pelo seu interesse no andamento do trabalho, por suas valiosas sugestões, e por ter colocado à nossa disposição bibliografia valiosa;
- aos Bolsistas do Departamento de Solos da U.F.R.R.J., João P. Osório Flores, Nelson Mazur, Carlos Pimentel, Mario S. da Silva e Antonio dos Reis S. da Cunha, pela permanente co-

laboração nas distintas fases dos experimentos, a qual muito contribuiu para a efetivação deste trabalho;

- ao Prof. Alberto de F. Penteado, pela sua valiosa orientação na análise estatística dos dados experimentais;

- aos colegas do Departamento de Solos da U.F.R.R.J., pelo estímulo e apoio constantes;

- ao Sr. Anselmo Eulacier, pela sua colaboração em parte do trabalho experimental;

- à Srta. Diva Monteiro da Silva, pelo trabalho datilográfico;

- ao Sr. Gilberto da Silva Reis, pela confecção do material gráfico;

- aos colegas de Pós-Graduação, e a quantos mais, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A meus pais,
a minha esposa,
a minha irmã
dedico

1. INTRODUÇÃO

O estudo das relações hídricas das plantas tem se tornado um campo cada vez mais desenvolvido e complexo e, a literatura científica sobre a matéria, se ampliado consideravelmente em anos recentes. Esta evolução, claro está, não é casual. Ela decorre basicamente do amplo consenso sobre a necessidade de programar o uso dos recursos naturais, tentando maximizar a eficiência de seu emprego em sistemas de produção agrícola. A produtividade de tais sistemas está decisivamente ligada ao manejo racional dos recursos hídricos os quais estão distribuídos em forma desigual na escala terrestre. O caso é particularmente dramático em regiões áridas ou semiáridas, onde a seca é um problema endêmico. Também, em regiões mais úmidas, com uma maior quantidade de precipitação anual, a distribuição errática das chuvas pode causar sérios problemas à agricultura.

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea de grande importância agrícola. Em função dessa importância, tem sido inten-

samente estudada. Conhece-se mais da genética do milho do que de qualquer outra planta ou animal de interesse econômico (JUGENHEIMER, 1976). Em adição, aspectos sanitários, fitotécnicos, nutricionais e tecnológicos do milho cobrem uma significativa parcela da literatura agronômica mundial.

Com relação ao campo das relações solo-planta-água, encontra-se uma certa fragmentação do conhecimento. Os físicos do solo tem descrito as relações hídricas entre solo e raízes de milho, os fisiologistas tem estudado algumas respostas metabólicas em ambientes controlados e, os fitotecnistas e climatologistas tem se preocupado, principalmente, com o desenvolvimento de correlações empíricas entre *stress* hídrico e rendimento, evapotranspiração e outros parâmetros mensuráveis em condições de campo.

Contudo, muito embora um volume considerável de dados tenha sido acumulado, é possível constatar uma carência de critérios adequados para a seleção de variedades de milho adaptadas à produção em nichos ecológicos mais extremos. A escolha desses critérios pressupõe uma avaliação das respostas metabólicas e fisiológicas operantes numa ampla faixa de *stress* hídrico, a determinação de sua sensibilidade como indicadores, e o nível de variação dessas respostas dentro do material genético disponível.

No país, a necessidade de desenvolvimento de tecnologia para produção de milho em regiões com deficiência hídrica, tem sido destacada (MAGNAVACA, 1976). Esta proposta tecnológi-

ca inclui a obtenção de plantas tolerantes e a adequação das práticas de manejo que possibilitem a cultura do milho em áreas deficitárias do ponto de vista de recursos hídricos (MAGNAVACA, 1976). Não obstante, é constatável uma carência significativa de trabalhos nesta direção. Por exemplo, entre trinta e dois trabalhos publicados na XXI Reunião Técnica Anual do Milho (1976), o Autor foi incapaz de identificar qualquer referência à relações hídricas em milho, com a exceção citada acima.

Em atenção a estas considerações, é objetivo geral deste trabalho testar através de técnicas de laboratório e casa de vegetação, o nível de expressão de algumas respostas ao *stress* hídrico em três variedades de milho das quais não se conhecem previamente dados específicos sobre adaptação a condições de seca. Uma das variedades incluídas na comparação, Centralmex, tem sido citada como possível material básico para obtenção de plantas tolerantes à seca (MAGNAVACA, 1976). Outra variedade, Piranão, tem respondido satisfatoriamente a eleições para velocidade de germinação e tolerância à salinidade (MILLAN et al., 1977a e b). Da outra variedade incluída, o sintético IPEACS III, tem-se referências da sua relativa estabilidade de produção em ambientes relativamente quentes (Von BULOW, 1977, comunicação pessoal).

Este trabalho, em particular, objetiva:

1. A comparação de três variedades de milho na fase de germinação e crescimento de plântula, na resposta a um nível dado de *stress* osmótico.

2. A comparação das três variedades numa fase intermediária do crescimento vegetativo (6-8 folhas), na resposta à dessecação progressiva do solo.

3. A determinação da possível associação entre as respostas em ambos os estágios de crescimento.

4. Estabelecer o grau de sensibilidade de distintas respostas metabólicas ao *stress* híbrido na fase mais avançada de desenvolvimento (6-8 folhas).

5. A determinação do nível de diferença entre variedades na resposta ao stress hídrico, e sua possível conexão com a resistência à seca. Incluído neste objetivo, está a determinação da factibilidade do uso de casa de vegetação como ambiente apropriado ao estudo da expressão de tais diferenças.

II. REVISÃO DE LITERATURA

Aspectos Gerais

Existe um amplo consenso, entre os interessados nos problemas de produtividade agrícola, de que, a disponibilidade de água é o fator que limita em maior grau a produção vegetal. De fato, tem se assinalado que os déficits hídricos estacionais são a maior limitação climática ao crescimento de pastagens com plantas do grupo C_4 em áreas tropicais e subtropicais. (COOPER, 1970).

Esta afirmação, obviamente, não é somente aplicável às pastagens. Os períodos de seca são o mais severo stress sobre a fotossíntese em condições de campo, para todas as culturas de grão (DILLEY et al., 1975). Desde que o rendimento econômico de uma cultura representa uma fração particular da matéria seca total produzida (DONALD, 1963), e a fotossíntese determina a produção de matéria seca, podem ser facilmente compreensíveis as implicações da afirmação anterior.

Em sua grande maioria, a produção de grão depende diretamente da chuva. Entretanto, a produção de grande parte da terra arável é severamente limitada por precipitação inadequada e/ou pobremente distribuída através da estação de crescimento (ARNON, 1975a). Nas regiões semiáridas (aproximadamente 36% das terras agrícolas do mundo, HURD, 1976), este problema é particularmente dramático. Quanto mais seco é o clima, maior a variabilidade das precipitações, de tal forma que anos de escassa precipitação podem se alternar com estações de precipitação acima da média, e as linhas divisórias entre árido, semiárido e úmido podem mudar de ano para ano. (ARNON, 1975a) WOLF (1975) analisou a ocorrência de períodos secos dentro da estação de chuvas no Brasil Central. Observou que a probabilidade de ocorrência de um período seco de pelo menos 14 dias sem chuvas significativas poderia ser de 50%, enquanto que para uma boa distribuição é somente de 8%, isto é, uma duração de 8 dias ou menos. Os solos predominantes na região (Latosolos vermelho-escuros, textura argilosa), apresentam uma capacidade de armazenamento de água limitada (34 - 44 mm / 30 cm de profundidade) (WOLF, 1975). Uma cultura crescendo a esta profundidade, esgotará esta reserva em 6 ou 7 dias de alta de demanda evaporação (6 mm/dia) (WOLF, 1975). Mesmo nos trópicos úmidos, as plantas podem sofrer breves períodos de deficiência, devido a mudanças dinâmicas no ambiente energético (COSTER, 1927, citado por HSIAO et al., 1976a).

A conclusão básica é de que, a produção agrícola em regiões de seca freqüente, requer métodos e práticas capazes de

fornecer ou manter água disponível em quantidade suficiente para o crescimento vegetal (LARSON, 1975).

VIETS (1971) destaca que o controle efetivo da seca poderia ser logrado pela seleção de culturas capazes de escapar ou resistir a períodos de umidade insuficiente; utilização de técnicas de manejo do solo e culturas tendentes a incrementar o armazenamento de água do solo, ou de diminuir sua taxa de uso; e, o desenvolvimento de métodos que reduzam a evapotranspiração.

As técnicas de irrigação (e o manejo de solos e microclima) dispõem hoje de um considerável corpo teórico prático de conhecimentos (BIERHUIZEN, 1976). A seleção de culturas capazes de resistir à seca, não tem mostrado o mesmo grau de avanço (HURD, 1976). Tem sido postulado que o trabalho, relativamente escasso nesta área, está limitado pela falta de conhecimento das respostas fisiológicas ao stress hídrico (DONALD, 1963; SULLIVAN e EASTIN, 1974; HURD, 1976). É possível verificar, no entanto, que os fisiologistas tem detectado muitas respostas metabólicas à deficiência hídrica, e tem sido assinalado que, embora ainda faltem respostas a muitas questões fundamentais, existe suficiente informação básica disponível para permitir o desenvolvimento de critérios metabólicos realísticos para seleção de plantas tolerantes ao stress (DILLEY et al., 1975).

O melhoramento para resistência à seca, envolve a seleção por rendimento em ambientes dominados por deficiência hídrica (HURD, 1976). Desafortunadamente, muito do trabalho rea-

lizado não pode ser extrapolado, devido à forte interação genótipo x ambiente (BOYER e McPHERSON, 1975).

O reconhecimento formal desta limitação, tem fomentado o desenvolvimento de técnicas de laboratório, a maioria das quais podem ser qualificadas de "empíricas" (LEVITT, 1972). Contrastando com esta abordagem empírica, um novo enfoque tem sido aberto através de estudos tendentes a obter correlações entre rendimento (produção de matéria seca) e o nível de expressão de processos metabólicos.

O critério prevalescente é de que, se duas ou mais variedades mostram diferentes níveis de expressão para um mesmo evento metabólico, e se a tendência geral do processo é decrescer (ou aumentar) em resposta ao stress aquela variedade que apresenta menor taxa de decréscimo (ou maior incremento) pode ser vista como mais resistente (NEYRA, 1976, comunicação pessoal). Este critério não está livre de exceções, como alguns dados recentes sobre acumulação de prolina parecem demonstrar (HANSON et al., 1977).

A nomenclatura relativa à expressão do status híbrido em solo e planta tem sofrido muitas modificações (SLAVÍK, 1974).

Nesta revisão, emprega-se a expressão:

$$\Psi_{H_2O} = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m$$

de KRAMER et al. (1966) (Citado por SLAVÍK, 1974).

H_2O representa a energia livre total da água no sis-

tema. O sistema em questão pode ser uma célula, um tecido, estruturas sub-celulares ou uma camada de solo (SLAVÍK, 1974). Quando aplicado a plantas, pode-se representar como Ψ (potencial da folha) ou Ψ (potencial da raiz) e quando aplicado no solo como Ψ_{solo} (LANGE et al., 1976).

O termo Ψ_s é chamado potencial osmótico, e representa o decréscimo do potencial hídrico total devido à pressão osmótica das soluções aquosas, seja no suco celular ou na solução do solo (SLAVÍK, 1974). Potencial de pressão Ψ_p (ou potencial de turgência Ψ_T), representa o incremento em potencial hídrico total devido à pressão hidrostática (SLAVIK, 1974). O potencial mátrico (Ψ_m), representa o componente da energia livre específica da água que está associado com o *status* hídrico sobre os bordos interfaciais, por exemplo, nas estruturas coloidais do citoplasma, estruturas micelares da parede celular ou em sistemas capilares ou micro-capilares no solo (SLAVIK, 1974). Como pode ser visto a partir da equação anterior, o potencial hídrico consiste de, ao menos, três componentes independentes (SLAVÍK, 1974; KRAMER, 1974 e LANGE et al., 1976).

Embora KRAMER (1974), tenha apontado a aceitação do termo potencial hídrico como um dos mais importantes avanços no campo das relações hídricas, algumas restrições ao emprego desta expressão tem sido feitas na literatura mais recente. Por um lado, DAINTY (1976) expressou dúvidas quanto à validade da subdivisão de $\Psi_{\text{H}_2\text{O}}$ em parcelas discretas; e opinou que a partição poderia ser tomada num sentido operacional, e não como uma representação real das distintas parcelas contribuintes ao

potencial hídrico total. A equação expressa a contribuição em termos aditivos o qual é muito improvável (DAINTY, 1976). Em particular, se os efeitos "osmóticos" e "mátricos" são definidos em função do tamanho das partículas envolvidas, a separação pode ser totalmente artificial (DAINTY, 1976). Talvez seja por esta razão que, na prática, ambos os componentes (Ψ_s e Ψ_m) são avaliados conjuntamente, e a equação de partição se transforma em : $\Psi_{H_2O} = \Psi_p + \Psi_\pi$; onde Ψ_π é explicitamente a somatória do potencial mátrico e o potencial osmótico (ALLAWAY e MILYHORPE, 1976). A questão subjacente é que, do ponto de vista termodinâmico, o potencial químico da água é determinado inequivocamente pela entalpia livre por unidade molar de água (SLAVIK, 1974), e o uso de equação geral supõe uma contribuição entálpica e uma contribuição entrópica, largamente representada pelo potencial osmótico (DAINTY, 1976).

Baseados em considerações diferentes, HSIAO et al., (1976a e b) tem criticado o emprego da expressão Ψ_{H_2O} como indicador de status hídrico. Eles tem enfatizado a importância da osmorregulação, isto é, a possibilidade de ajuste do valor do potencial hídrico interno através de variações no nível de Ψ_s . O uso da redução em Ψ_{H_2O} como indicador de *status* hídrico, assume, implicitamente, uma virtual ausência de ajustamento osmótico (HSIAO et al., 1976a). Mais precisamente, existe evidência de que os distintos processos de fluxo, tanto de água quanto metabólicos, podem responder ao efeito de componentes individuais tais como Ψ_p ou Ψ_s melhor que a uma redução global em Ψ_{H_2O} (DAINTY, 1976; HSIAO et al., 1976a; CRAM, 1976). HSIAO et

al.(1976a e b) indicaram que, por esta razão, um melhor indicador do status hídrico poderia ser Ψ_p ou ainda o conteúdo hídrico relativo. Com relação a este último termo, ele tem sido usado freqüentemente como uma medida de conteúdo hídrico, e é análogo ao termo déficit de saturação de água, já que ambos são expressos sobre uma base de conteúdo hídrico em condições de turgência total (CASTSKY, 1974).

Em atenção a estas considerações, no presente trabalho usou-se o conteúdo hídrico relativo (C.H.R.) como indicador do *status* hídrico foliar.

Finalmente, torna-se necessário esclarecer o termo *stress* largamente empregado neste trabalho. Ele é usado no sentido definido por LEVITT (1972), significando "qualquer fator ambiental potencialmente desfavorável para um organismo vivo". Por extensão, pode-se falar de uma resistência ao *stress* entendendo-se por tal, a habilidade de uma planta para sobreviver ao fator desfavorável.

Por analogia com sistemas físicos, LEVITT (1972) expressou a magnitude de um *stress* atuando sobre um corpo, em termos de força por unidade de superfície (pressão). Quando um corpo está submetido a um *stress* (pressão), encontra-se em estado de *strain* (tensão). Em sistemas puramente físicos, a magnitude do *strain* pode ser avaliada por mudanças dimensionais (longitude ou volume) do corpo. Acima de um ponto, específico para cada corpo, uma tensão pode se tornar completamente irreversível (tensão plástica). Debaiixo desse ponto, a tensão po-

de ser reversível (tensão elástica). Ao extrapolar a conceituação para sistemas biológicos, LEVITT (1972), destaca dois pontos de diferença: 1) as plantas são capazes de erigir barreiras entre sua matéria viva e o *stress* ambiental; 2) O termo *stress*, em biologia, tem sempre uma possível conotação de injúria, portanto, um *stress* biológico, pode ser definido como qualquer fator ambiental potencialmente capaz de produzir uma tensão injuriosa em organismos vivos.

Respostas a déficits hídricos

Uma volumosa literatura sobre respostas vegetais ao *stress* hídrico tem sido publicada nos últimos anos. Dois volumes da série editada por KOZLOWSKI (1972, 1976) cobrem particularmente aspectos relativos a respostas metabólicas. LEVITT (1972) escreveu uma extensa monografia, muito freqüentemente citada. Outras contribuições tem sido feitas por SLATYER (1969); HSIAO (1973); HSIAO e ACEVEDO (1974); HSIAO et al. (1976 a e b), SULLIVAN e EASTIN (1974) e BOYER e McPHERSON (1975), sendo esta última dedicada a cereais. Também pertinentes ao estudo da deficiência hídrica, são as revisões de HEBER e SANTARIUS (1976) sobre congelamento e de KYLIN e QUATRANO (1975) sobre aspectos metabólicos e bioquímicos da tolerância a sais. É realístico assumir que, na atualidade, pelo menos três novas publicações neste campo, estão aparecendo diariamente (LANGE et al., 1976).

As razões para esta profusão de literatura são aparentes se se considerar o número imenso de lugares no complexo ve-

getal onde a água desempenha um papel crucial, desde a fotólise da água na fotossíntese, até ligações hidrofóbicas em macromoléculas, e a manutenção da forma em tecidos não lenhosos (HSIAO, 1973). Em conseqüência, a maioria dos processos e parâmetros vegetais podem ser modificados por um déficit hídrico severo e bastante prolongado (HSIAO e ACEVEDO, 1974). Isto torna de pouca utilidade catalogar todas as mudanças metabólicas e fisiológicas observadas sob *stress* (HSIAO e ACEVEDO, 1974). Mais informativo resulta diferenciar os vários processos em termos de sensibilidade ao *stress* e determinar a seqüência de eventos desencadeados a partir do começo do *stress* (HSIAO e ACEVEDO, 1974).

A planta, sendo um organismo altamente integrado, com numerosos controles, exhibe extensivas alterações secundárias e terciárias, em adição aos efeitos primários, se o *stress* é imposto por um lapso apreciável (HSIAO, 1973). As causas primárias do déficit hídrico são menos conhecidas do que estas alterações secundárias (LEVITT, 1972).

Natureza das Respostas

Recentemente, LANGE et al. (1976) colocaram a seguinte questão: "Quais são os sintomas primários do *stress* hídrico nas plantas? São eles de natureza mecânica, devido a uma perda de turgência e a mudanças espaciais na posição dos compartimentos, ou são, primariamente, de natureza química, devido a altas concentrações iônicas ou mudanças nas relações hormonais"?

De acordo com a resposta a esta questão básica, duas

tendências à primeira vista incompatíveis (LANGE et al., 1976), podem ser destacadas. De um lado, estão aqueles que admitem um efeito específico da deficiência hídrica sobre a turgência celular (LEVITT, 1972; HSIAO, 1973; BOYER, 1976; CRAM, 1976) conduzindo as alterações metabólicas. Tais alterações são vistas como respostas regulatórias antes que como sintomas de injúria (HSIAO, 1973).

Por outro lado, ITAI e BENZONI (1976) expressam dúvidas sobre essa visão, e postulam um conceito mais geral (o qual exclui efeitos especiais de qualquer tipo de *stress*), no qual os efeitos primários podem ser explicados através de modificações no balanço hormonal.

HSIAO (1973) examinou as seguintes possibilidades como possíveis razões primárias:

1) Redução no potencial químico () ou atividade da água. 2) Redução na pressão de turgência celular. 3) Efeitos de concentração molecular por perda de água. 4) Alterações das relações espaciais no plasmalema, onoplasto e membranas de organelas por mudanças de volume. 5) As macromoléculas podem ser afetadas através da remoção da água de hidratação ou através da modificação da estrutura da água adjacente. A seguir, estas alternativas, serão revisadas brevemente.

Para a alternativa 1; HSIAO (1973) calculou que, as diferenças em atividades da água, deveriam ser de apenas 3-4%, a 20°C, para valores de Ψ compreendidos entre -10 e -30 bars. Concluiu que, as explicações para os efeitos metabólicos basea-

dos em atividades reduzidas de água, limitando reações hidrolíticas, são aparentemente insustentáveis. Para a alternativa 2, HSIAO destacou que, embora existam poucos estudos, a evidência indica que a estrutura de muitas macromoléculas biológicas não parece ser alterada por efeitos de incrementos, de poucos bars de pressão. Entretanto, permanece como possibilidade que a turgência (ou mais propriamente, o componente Ψ_p) seja o sinal primário de um sistema de feedback tendente a regular ao número de partículas osmoticamente ativas, e por esta via, o volume citoplasmático (CRAM, 1976). O volume citoplasmático poderia ser mantido constante a partir de um sinal de Ψ_p que afetaria o transporte de sais ou a produção de substâncias orgânicas como por exemplo, prolina (CHU et al., 1976a; CRAM, 1976). Se isto for assim, um aumento na pressão de turgência poderia conduzir a alterações metabólicas que operassem como respostas osmoregulatórias, ao menos a níveis de *stress* moderado (HSIAO et al., 1976a).

BARLOW et al. (1976b) observaram que após 3 horas de *stress* osmótico (carbowax 6000), plantas de milho exibiram uma drástica queda na elongação foliar e Ψ_p . No mesmo período, a concentração de ATP foi reduzida a 40%. Estes autores postularam que a queda no nível do ATP poderia ser uma explicação "à intrigante questão de como uma pequena redução numa força física pode causar alterações metabólicas tão marcantes". Eles lembraram que, o nível de ATP, é o modulador universal da atividade metabólica e do crescimento, e como tal, se constitui em um pré-requisito comum a todas as vias biossintéticas dentro da célula.

HSIAO (1973) calculou que, uma redução em conteúdo hídrico relativo de 95 para 80%, corresponde a uma redução de 16% no volume celular ou um incremento de aproximadamente 19% em concentração. Então, os efeitos de concentração (possibilidade 3) podem ser operativos, provavelmente, só se as reações químicas envolvidas são catalizadas por enzimas alostéricas extremadamente sensíveis a pequenas alterações na concentração de efetores específicos. A enzima Δ^1 - pirrolino - 5 - carboxilato- deshidrogenase, que atua na passagem de prolina para glutamato foi extraída de cevada (*Hordeum vulgare*) por BOGGES et al. (1975). Estes autores demonstraram que sua atividade *in vitro* foi inibida por NaCl, e especularam que esta inibição poderia favorecer a acumulação de prolina *in vivo*. Em oposição, CHU et al. (1976b), também trabalhando com plantas de cevada, observaram que Na^+ , K^+ , e $\text{SO}_4^{=}$ aparentemente inibem a acumulação de prolina, enquanto que Mg^{++} e provavelmente Ca^{++} tendem a promovê-la. Contudo, a maioria de evidências indicam que os sistemas enzimáticos, *per se*, são relativamente insensíveis a incrementos moderados na concentração salina do meio. KYLIN e QUATRANO (1975) assinalaram que, nos casos em que enzimas provenientes de plantas glicofitas e de halofitas foram testadas para resistência à salinidade, *in vitro*, não mostraram, em geral, grandes diferenças. HSIAO (1973) também lembrou, que na prática bioquímica corrente de desnaturação de proteínas com o emprego de uréia, tem que ser usada uma concentração muito alta (6 a 8 M).

Discutindo o assunto, HSIAO (1973) conclui que não

existem evidências para admitir que uma mudança no volume de organelas e membranas seja a razão primária dos efeitos do *stress* hídrico (possibilidade 4) levando em consideração a natureza não estática das membranas. Assumindo uma perda de água de 20% do protoplasma de uma célula túrgida esférica, o decréscimo na área superficial do plasmalema seria de aproximadamente 14% e o decréscimo em dimensão linear, 7%. HSIAO (1973) destacou que, tais mudanças ocorrem rotineira e freqüentemente durante a vida da célula, independente de situações de *stress*. É interessante destacar o fato de que as conceituações de HSIAO (1973) em geral, são aplicadas a casos de *stress* leves a moderados.

Em casos de *stress* mais severo (redução em C.H.R. maior que 20% segundo HSIAO, 1973), existem evidências de danificação estrutural de organelas. Usando duas espécies de algodão, *G. hirsutum* e *G. anomalum*, a primeira sensível e a segunda resistente à seca, VIEIRA DA SILVA (1976) demonstrou que as diferenças entre ambas poderiam ser correlacionadas com sua resistência relativa à solubilização de enzimas hidrolíticas ligadas a membranas, principalmente fosfatase ácida, ribonuclease ácida, fructofuranosidase, e amilases e lipases ácida e alcalina. Em conseqüência, postulou que o *stress* hídrico resulta, em espécies sensíveis, em uma disrupção de compartimentalização das células foliares. Hidrolases ácidas liberadas nestas condições (a partir de lisossomos) poderiam explicar a maioria dos efeitos metabólicos observados.

A última das possibilidades discutidas por HSIAO (1973) diz respeito a possíveis efeitos da modificação estrutural da

água adjacente às macromoléculas. Esta água, freqüentemente designada como *bound water* é normalmente expressa através do conceito de potencial métrico () (HSIAO, 1973; SLAVIK, 1974). durante muito tempo foi especulado que, maior parte da água em soluções concentradas de macromoléculas (ou na própria célula), está fortemente imobilizada, numa estrutura conhecida como *icelike* (HSIAO, 1973). Avaliando a natureza da informação disponível sobre este tópico, este autor qualificou-a de "confusa", mas salientou que esta situação não era surpreendente, citando a opinião de FRANK (1970) de que o próprio modelo estrutural da água pura não está ainda definitivamente estabelecido, sendo sujeito a mudança sem prévio aviso. Contudo, a maioria de evidências disponíveis em plantas, contraria a hipótese do *icelike*, e portanto a idéia, de que o stress hídrico afete a funcionalidade macromolecular através desta estrutura especial da água torna-se discutível (HSIAO, 1973). Após o exame de possibilidades, HSIAO (1973) favoreceu a alternativa 2, concluindo que, o mais factível, é que a deficiência hídrica induza uma redução da turgência celular, a qual causa pela sua vez, um retardamento do crescimento, conduzindo às alterações metabólicas subseqüentes.

ITAI e BENZONI (1976), que tem trabalhado principalmente com respostas hormonais à deficiência hídrica, questionam, como já foi salientado, o ponto de vista de HSIAO (1973). A objeção principal é que a ênfase em turgência separa as respostas operativas em caso de stress hídrico de outros tipos de stress tais como calor, salinidade, carências nutricionais ou toxidez por boro, os quais causam respostas metabólicas similares, e on-

de a turgência permanece inalterada. Entretanto, todos estes tipos de stresses causam mudanças hormonais características, e outros tipos de sintomas similares à deficiência hídrica. Especificamente, estes autores constataram que: 1) A deficiência hídrica causa alterações hormonais no nível de ácido abscísico (ABA) e citokininas (CK), conhecidos reguladores do crescimento; 2) Estas mudanças, nas relações hormonais podem modificar as características das membranas celulares, tais como a permeabilidade para água e solutos; 3) A modificação nas características das membranas pode causar fechamento estomático, mudanças nos *pools* metabólicos e na atividade de enzimas ligadas a membranas, facilitando os processos de degradação e retardando os processos sintéticos; 4) O *stress* pode causar algumas modificações de carácter irreversível, como indução de floração e senescência as quais operam sob regulação hormonal.

Pode ser concluído que, é difícil, no estado atual de conhecimentos, estabelecer relações causais definitivas entre deficiência hídrica e respostas metabólicas. Isto é decorrente de dificuldades várias, operando a distintos níveis: 1) Intensidade e duração do *stress* imposto. A níveis leves ou moderados as respostas parecem ser regulatórias (HSIAO, 1973) (tensão elástica, na terminologia de LEVITT, 1972). A níveis mais severos do *stress* a própria integridade das membranas parece ser afetada (tensão plástica, segundo LEVITT, 1972). Distintos autores têm trabalhado em faixas diferentes, induzindo *stress* por métodos diversos (LANGE et al., 1976); 2) A manutenção de turgência celular é um pré-requisito para o crescimento (HSIAO, 1973). Os

efeitos secundários poderiam ser devido a um retardamento do crescimento, induzido por quedas em p . Entretanto, as respostas específicas observadas sob deficiência hídrica podem ser determinadas por um sistema mais geral de resposta (dependente de hormônios), operativo em amplas faixas de *stress* ambiental.

3) A aceitação do item anterior divide a opinião dos autores, e introduz diferenças bastante radicais quanto às hipóteses globais de interpretação.

Metabolismo de Nitrogênio

N-Proteico

O teor de proteína em tecidos submetidos a deficiência hídrica é normalmente reduzido, embora por vezes, tenham-se encontrado incrementos (CHEN et al., 1964; RENA e MASCIOTTI, 1976). Já em 1926, MOTHEs (citado por RICHARDS e WADLEIGH, 1952) sugeriu, que a injúria causada por *stress* não era devida somente à remoção de água, mas também, a uma perda hidrolítica de proteínas.

Para GATES (1964), muitos dos postulados sobre proteólise, poderiam estar sujeitos a revisão. Segundo este autor, isto é devido ao fato de que a síntese proteica pode estar interrompida em plantas dessecadas, mas não nos controles, dando, portanto, a impressão de que, uma atividade proteolítica tem se processado nas plantas sob *stress*. HSIAO (1970) obteve evidência para a hipótese de GATES (1964). Trabalhando com plân-

tulas de milho, demonstrou a existência de uma mudança das formas poliméricas (sinteticamente ativas) de ribossomos para as monoméricas (inativas), dentro de um período de 30 minutos após a indução do stress. Seus resultados foram confirmados por MORILLA et al. (1973).

ITAÍ e BENZIONI (1976) revisaram resultados indicando que a biossíntese proteica parece ser retardada por ABA, citokinina tem aparentemente o efeito oposto. É sabido que ABA acumula a níveis dramáticos como resposta ao stress hídrico (HSIAO, 1973).

ARAD e RICHMOND (1976) concluíram que, ambos os hormônios podem afetar a biossíntese proteica de maneira indireta, através de seu efeito sobre o conteúdo hídrico. Estes autores encontraram também uma correlação linear direta entre o déficit de saturação de água (ou Ψ_f) e o nível de atividade de ribonucleases e proteases, em plantas de cevada submetidas a stress osmótico.

HSIAO (1973), argüiu contra a evidência do envolvimento de ambos os fatores, ribonuclease e citokinina. Na sua conceituação, a biossíntese proteica é alterada estritamente ao nível translacional, e não por restrição de biossíntese (ou hidrólise incrementada) de mRNA. MORILLA et al. (1973) também observaram que, a redução em polirribossomos não pareceu estar associada com mudanças na atividade da ribonuclease.

A níveis severos de stress, a atividade proteolítica pode ser incrementada (VIEIRA DA SILVA, 1976). TODD (1972), co-

municou que, proteases de folhas destacadas de tabaco e intactas de trigo incrementaram seu nível de atividade em resposta à níveis crescentes de deficiência hídrica. MOTES (1928, citado por RICHARDS e WADLEIGH, 1952) observou uma associação entre proteólise e folhas em murchamento as quais exibiram senescência após rehidratação. Senescência é uma resposta induzida por stress hídrico (ITAÍ e BENZONI, 1976). Apesar do muito que é conhecido sobre a fisiologia da senescência, seu significado funcional não é claro. Não é sabido se a senescência representa um mecanismo pelo qual as plantas reduzem a sua superfície transpirante, ou se é um processo que reflete um sacrifício de carboidratos e compostos nitrogenados das folhas senescentes em favor da manutenção de pontos de crescimento (BOYER e McPHERSON, 1975). A senescência pode conduzir a uma importante perda de N-foliar (HANSON et al., 1977).

Aminoácidos

A deficiência hídrica promove uma acumulação de aminoácidos (NAYLOR, 1972, HSIAO, 1973). Amidas também tendem a incrementar (KEMBLE e MacPHERSON, 1954; CHEN et al., 1964).

A acumulação de aminoácidos reflete o fato de que a biossíntese proteica é inibida (SLATTER, 1969 HSIAO, 1973) ou a proteólise é incrementada (LEVITT, 1972; NAYLOR, 1972).

Examinando a composição do pool acumulado, um aspecto marcante é o acúmulo de prolina, o qual foi observado pela primeira vez por KEMBLE e MacPHERSON (1954). Posteriormente, mui-

tos autores observaram incrementos tão elevados que, em alguns casos, podem atingir até 1% da matéria seca total da folha (HSIAO, 1973).

Os acúmulos de prolina são originados por biossíntese de novo (STEWART et al., 1966), usando glutamato ou cetoglutarato como precursor. O acúmulo parece ser devido a uma supressão dos mecanismos normais de *feedback* que regulam sua síntese em folhas túrgidas (BOGGES et al., 1976), e somente tem lugar se os tecidos apresentam níveis adequados de carboidratos (STEWART et al., 1966).

Outra linha de evidência tende a mostrar a acumulação de prolina como uma resposta secundária, mediada por níveis endógenos incrementados de ABA (ITAÍ e BENZONI, 1976). HUBBER (1974, citado por CHU et al., 1976b), observou que ABA promoveu, *in vitro*, a atividade da enzima Δ^1 -pirroline-5-carboxilato-redutase, e sugeriu que a biossíntese resultante poderia explicar sua acumulação *in vivo*.

É de destacar que, semelhante a outras alterações metabólicas que se verificam sob *stress* hídrico, a acumulação de prolina não parece ser uma característica específica desse tipo de *stress*. Têm sido detectadas acumulações de prolina em resposta a elevada temperatura, (CHU et al., 1974), e salinidade (KYLIN e QUATRANO, 1975; CRAM, 1976; CHU et al., 1976a) e baixa temperatura (DRAPER, 1975, HEBER e SANTARIUS, 1976). Foram registrados incrementos em prolina em distintos gêneros de bactérias não halofílicas, crescendo em um meio de muito baixa

atividade de água (0,93-0,86) (MEASURES, 1975). Uma espécie de camarão (*Penaeus stylirostrus*) mostrou uma correlação positiva entre o nível de prolina no abdome e o nível de salinidade do meio (COBB III et al, 1975). Todos estes resultados têm sido interpretados como indicações de que a prolina pode funcionar como um metabólito ligado a processos de osmorregulação no caso de sistemas biológicos, que normalmente se desenvolvem em habitats salinos. A acumulação de prolina pode ser vantajosa nestas condições, porque não requer a acumulação de um cátion neutralizante (MEASURES, 1975).

Em adição a esta função fisiológica, tem se postulado que, prolina poderia funcionar como um metabólito de bloqueio de níveis tóxicos de amônia (KEMBLE e MacPHERSON, 1954; PARKER, 1972; LEVITT, 1972), um protetor contra danificação de membranas (DRAPER, 1975), ou como um substrato respiratório (via oxidação e glutamato) e fonte de N para biossíntese após o *stress* (SINGH et al., 1973; BLUM e EBERCON, 1976), embora nenhuma destas especulações tenha o suporte de dados inequívocos (HANSON et al., 1977).

A despeito dos altos níveis de acumulação, prolina não parece ser um indicador sensível de deficiência hídrica (HSIAO, 1973). O modelo típico de acumulação é exponencial (McMICHEL e ELMORE, 1977) e prolina não se acumula em soja até valores de Ψ_f em torno de -20 bars (WALDREN e TEARE, 1974). Nestas condições, as plantas mostram sintomas de severo murchamento. Neste mesmo experimento, os autores observaram que o fechamento estomático ocorreu por volta de $\Psi_f = -15$ bars, precedendo,

obviamente, a acumulação de prolina.

Não é sabido se a acumulação de prolina é de valor adaptativo, como parte de uma estratégia tendente a resistir aos efeitos da dessecação (HANSON et al., 1977), mas alguns resultados têm mostrado uma correlação entre resistência à seca e acumulação de prolina. Este aspecto será revisado posteriormente.

Redução de Nitrato

Nitrato é a forma mais comum de nitrogênio disponível às plantas (EILRICH e HAGEMAN, 1973). Uma vez absorvido pela planta, o nitrato deve ser reduzido à forma amoniacal, antes de ser incorporado a aminoácidos, os quais por sua vez são utilizados em biossíntese proteica (EILRICH e HAGEMAN, 1973). O passo limitante da redução do nitrato é a atividade da enzima Nitrato-reductase (NRase), que é sustrato-induzível (MORILLA et al., 1973). Isto implica que uma série de etapas acopladas absorção, redução, assimilação e translocação tem que ser operativas para que o nitrato seja incorporado aos tecidos das plantas. Existe um conhecimento amplo de cada um desses processos e a literatura pertinente foi revisada recentemente por FERNANDES (1977). Menos freqüente é a medição dos efeitos do stress hídrico sobre tais processos.

O teor de nitrato tem mostrado tendências variáveis, quando dosado em tecidos foliares submetidos a dessecação. Ní-

veis variáveis e acumulação foram observados em trigo (PLAUT, 1973). Em milho, MATTAS e PAULL (1965) encontraram também níveis elevados, mas MORILLA et al. (1973) observaram reduções de nitrato foliar. HUFFAKER et al. (1970) observaram que, plantas de cevada, após 4 dias de stress hídrico, tinham 24,6% menos nitrato que as normalmente irrigadas.

A atividade da NRase é extremadamente sensível a pequenas reduções no conteúdo hídrico das folhas. HUFFAKER et al. (1970) observaram uma redução de 50% em atividade, após três dias de supressão da irrigação. Neste mesmo experimento, Nitrito-reductase pareceu menos sensível, já que a redução de atividade, nas mesmas condições, foi de 20%. Nos experimentos de MORILLA et al. (1973); folhas de milho, a valores de Ψ_f de -13 bars, mostraram uma redução de atividade de 75%. BARDZIK et al. (1971) trabalhando com plântulas de milho, observaram que a uma redução de 50% na atividade da NRase correspondeu um déficit hídrico foliar de 10%.

Poder-se-ia pensar que, ao menos em casos em que existe redução do nitrato foliar, a atividade da NRase poderia ser limitada por esta causa (MORILLA et al., 1973), visto que a enzima é sustrato-induzível.

Existem, contudo, evidências de que, o decréscimo em atividade é o resultado direto de inibição da biossíntese proteica. Nitrato reductase é uma enzima de rápido turnover, com uma curta vida média (HUFFAKER e PETERSON, 1974). A capacidade de indução de NRase por nitrato foi correlacionada com o nível

de polirribossomos citoplasmáticos sob variadas condições experimentais (TRAVIS et al., 1970). Isto poderia ser ligado à demonstração por HSIAO (1970) de que o stress hídrico causa mudança das formas poliméricas de ribossomos para as formas monoméricas, e também com os resultados de MORILLA et al. (1973).

Estes autores verificaram que, após a rehidratação de seu material experimental, tanto o conteúdo de polirribossomos quanto a atividade de NRase recuperaram-se aos níveis de *pré-stress*. No entanto, o incremento em polirribossomos precedeu a recuperação da atividade da NRase. Tal recuperação (NRase) foi inibida quando ciclohexamide foi adicionado ao meio de crescimento. Concluíram então que a recuperação de atividade de NRase, aparentemente, foi devida a síntese de novo de polirribossomos.

Muito do interesse na atividade desta enzima é decorrente dos trabalhos do grupo de HAGEMAN (CROY e HAGEMAN, 1970; DECKARD et al., 1973; EILRICH e HAGEMAN, 1973) que encontraram correlações entre o nível de atividade da enzima e o rendimento de matéria seca e proteína em milho e trigo. A utilização de NRase como indicador metabólico de resistência à seca será posteriormente discutida.

Metabolismo de Carbohidratos

Fotossíntese

Em primeira aproximação o metabolismo de carboidratos é afetado por deficiência hídrica ao nível do sistema de pro-

dução de fotossintatos. Parecem existir efeitos diretos e indiretos sobre fotossíntese e sobre numerosos processos e componentes relacionados (SLATYER, 1969).

É pertinente a transcrição dos princípios gerais deduzidos por BOYER (1976) após uma extensa revisão de literatura:

1. Quando o dessecamento é muito severo, a fotossíntese pode ser tão afetada; que a fixação líquida de CO_2 pode cessar completamente.

2. Parte da limitação fotossintética pode ser causada por redução em crescimento foliar ou por senescência, e parte pode ser causada por inibição da atividade fotossintética nas folhas. Os efeitos sobre a área foliar resultam, primariamente, de uma redução em turgência. A inibição de atividade fotossintética resulta do fechamento estomático ou, mais diretamente, de alterações na atividade (ou estrutura) dos cloroplastos.

3. Reduções em fotossíntese, induzidas por stress hídrico, não somente decrescem a matéria seca total da planta, mas também limitam a produção de grãos.

Em princípio, um incremento na respiração ou na fotorrespiração poderiam explicar as reduções na taxa líquida de fotossíntese durante a dessecação (BOYER, 1976).

RICHARDS e WADLEIGH (1952) concluíram, a partir dos dados disponíveis até então, que os decréscimos em fotossíntese poderiam ser atribuídos a incrementos na respiração. Não es-

tá excluída a possibilidade de que a níveis leves de dessecação, a respiração possa aumentar, dependendo da espécie (BOYER, 1976), embora muitos dos dados iniciais devam ser reavaliados, em virtude do fracasso de muitos pesquisadores em separar respiração de fotorrespiração, naquelas espécies onde este último processo é evidente (SLATYER, 1969).

A fotorrespiração também é inibida pela ação da deficiência hídrica (BOYER e McPHERSON, 1975; VIEIRA DA SILVA, 1976) e, em folhas de girassol, mostra uma pendente mais pronunciada que a respiração (BOYER, 1976).

LUDLOW (1976) destacou, depois de analisar dados de varias fontes, que as respostas de troca de CO_2 e expansão foliar a déficits hídricos de muitas gramíneas do grupo C_4 , não diferem grandemente de uma ampla gama de plantas do grupo C_3 lenhosas e herbáceas. Ambos os grupos, por sua vez, diferem amplamente de plantas adaptadas a zonas áridas ou semiáridas independentemente de que elas sejam dos grupos C_3 ou C_4 . A conclusão deste autor, é que o mecanismo do grupo C_4 não parece estar associado a respostas à deficiência hídrica. Como grupo, as plantas C_4 não podem sobreviver por muito tempo a potenciais hídricos muito reduzidos quando o suprimento de água às raízes é limitado (HSIAO e ACEVEDO, 1974). O único mecanismo fotossintético associado a economia hídrica (e portanto a resistência à seca) é o exibido pelas plantas suculentas (HSIAO e ACEVEDO, 1974). Pela restrição da abertura estomática à noite, as plantas possuindo metabolismo CAM mantém o uso de água no mínimo

e, entretanto, sacrificam somente uma parte de sua taxa de fotossíntese (HSIAO e ACEVEDO, 1974). Contudo, muitas plantas do C_4 são mais eficientes no uso de água que as do grupo C_3 (HSIAO e ACEVEDO, 1974), embora isto, provavelmente, seja decorrente de taxas de fotossíntese mais elevadas, e não de taxas de transpiração mais reduzidas (LUDLOW, 1976). Concebivelmente, a manutenção de uma alta atividade de PEP-carboxilase em células mesofílicas de folhas de plantas C_4 , pode funcionar no sentido de recuperar o CO_2 fotorrespirado, evitando seu escape à atmosfera (KLUGE, 1976). Irregularidade no suprimento de CO_2 , como poderiam acontecer durante um stress hídrico intermitente, poderiam ser tamponados por reservatórios de CO_2 sob a forma de ácidos C_4 , numa forma similar, embora em escala menor, à acumulação de malato no metabolismo CAM (KLUGE, 1976).

Nos experimentos de HUFFAKER et al.(1970) com cevada, foi constatado que, após 3 dias de deficiência hídrica moderada, PEP-carboxilase foi afetada, embora não muito marcadamente (10% de decréscimo), mas nenhuma mudança em atividade foi constatada na Ribulose-1,5-diP-carboxilase.

Carboidratos Não Estruturais

Sob condições onde a umidade do solo é o principal fator controlando o crescimento, poderia ser esperada uma relação inversa entre taxa de crescimento e carboidratos solúveis, se processos, tais como divisão e expansão celular, são afetados em maior grau que a fixação de CO_2 (BROWN e BLASER, 1970).

BARLOW et al.(1976a) verificaram que, após 6 horas de *stress* moderado, a taxa de fotossíntese em plantas de milho decresceu 46%, enquanto que, os níveis de fotossintatos nas mesmas folhas foram 28% superiores aos do controle. Neste experimento, foi observado que o alongamento foliar caiu a zero quando Ψ_f aproximou-se a -6 bars, enquanto que a fotossíntese não foi significativamente afetada até valores de -12 bars. Estes autores concluíram que, provavelmente, o tamanho reduzido da área foliar (depósito de fotossintatos), resultado da cessação do alongamento poderia conduzir a uma inibição por *feedback* de fotossíntese. As evidências de um mecanismo deste tipo foram revisados por NEALES e INCOLL (1968, citados por BARLOW et al., 1976b) os quais concluíram que, a hipótese tem uma bem fundada base fisiológica, mas sofre de falta de dados bioquímicos para a validade.

O desaparecimento de amido em plantas sob deficiência hídrica, tem sido observado muito freqüentemente. RICHARDS e WADLEIGH (1952) citam resultados de ROSA (1921) que observou incremento de pentosanas e açúcares reductores e decréscimo de amido. O desaparecimento de amido é atribuído a atividade amilolítica (HSIAO; 1973). EATON e EAGLE (1949, citados por RICHARDS e WADLEIGH, 1952), verificaram que folhas de algodão em murchamento diário continham 4 vezes mais atividade amilolítica que os controles normalmente irrigados. Incrementos em A e B amilases em algodão, também foram observados por VIEIRA DA SILVA (1976). Desde que, na maioria dos experimentos acima mencionados, as plantas mostraram sintomas de murchamento antes de ser verificada uma atividade amilolítica apreciável, pode ser

concluído que tais mudanças se verificam a níveis relativamente severos de *stress*.

Translocação

Evidências recentes, envolvendo a manipulação das relações source-sink em milho e trigo, têm demonstrado que as reduzidas taxas de translocação observadas sob deficiência hídrica são devidas, basicamente, a uma redução na quantidade de fotossintatos disponíveis para transporte e não a uma inibição direta do mecanismo. Translocação *per se* parece não ser relativamente afetada, a níveis de dessecação suficientes para reduzir em forma apreciável a produção de fotossintatos (BOYER e McPHERSON, 1975; BOYER, 1976).

Efeito do *stress* hídrico sobre milho

Efeitos da Deficiência Hídrica a Diferentes Estágios de Crescimento.

Do ponto de vista de suprimento hídrico, existem quatro períodos no crescimento do milho: crescimento rápido do sistema radicular, crescimento vegetativo, floração do grão, e maturação do grão (ARNON, 1975b). Existe acordo em atribuir as maiores diminuições em rendimento à ocorrência de períodos secos durante a floração (ROBINS e DOMINGO, 1953; DENMEAD e SHAW, 1960). Durante a fase de crescimento vegetativo, um *stress* moderado de 7 dias pode acarretar perdas em rendimento final da

ordem de 25% (DENMEAD e SHAW, 1960). Durante esta fase, o efeito retardante de um *stress* de umidade pode ser compensado pelas rápidas taxas de crescimento após a remoção do *stress*. Isto tem sido atribuído a uma acumulação de açúcares simples durante o período de *stress* (ARNON, 1975b). A falta de um adequado suprimento hídrico durante o ciclo vegetativo reduz o comprimento dos entrenós, deprime a altura do caule, fomenta o crescimento de raízes e reduz o crescimento foliar (ROBINS e DOMINGO, 1953). De todas as partes vegetativas, a que mais rapidamente responde, em condições de campo, é o crescimento foliar (ROBINS e DOMINGO, 1953). Isto está de acordo com observações feitas em ambientes controlados (Tabela 1, abaixo).

Respostas Fisiológicas e Bioquímicas

Uma compilação tabular dos efeitos do *stress* hídrico sobre processos ou parâmetros fisiológicos ou bioquímicos do milho é apresentada abaixo (Tabelas 1 e 2). Na tabela 1, os processos foram listados, dentro do possível, de acordo com a seqüência de sensibilidade proposta por HSIAO (1973). Contudo, pode-se observar que nem sempre os processos podem ser colocados segundo uma gradação harmônica de Ψ_f . Várias dificuldades estão envolvidas. A mais marcante, é a diversidade de métodos empregados para induzir a restrição hídrica. Para efeitos da tabulação, os métodos foram agrupados em duas categorias: 1) aqueles em que o abaixamento de Ψ_f é logrado pela adição de diferentes *osmoticum* (excluindo sais solúveis) ao meio de cres-

cimento; 2) aqueles em que o abaixamento de Ψ_f (ou Ψ solo) é logrado via supressão de irrigação. Distintos métodos de indução do stress hídrico, freqüentemente conduzem a resultados diferentes. Um exemplo marcante desta situação, são os resultados de KOEPPE et al. (1973) relativos a respiração (Tabela 1).

Por outro lado, algumas pesquisas têm sido feitas com plantas inteiras, outras com folhas destacadas, e outras com discos foliares destacados. MACNICOL (1976), trabalhando com discos foliares de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) demonstrou que se processam drásticas alterações no pool de metabólitos ligados a glicólise, em períodos muito curtos, após abscisão (p. ex.: a relação ATP/ADP se incrementa, significativamente, depois de um minuto da abscisão), associando-se estas alterações a um marcado incremento em respiração. Este autor concluiu que é inadmissível o trabalho com discos foliares destacados, se a intenção é representar a conduta da folha inteira.

Com relação aos efeitos sobre as atividades enzimáticas, as informações, surpreendentemente, são relativamente escassas (Tabela 2). Muitas das informações mais antigas, não foram acompanhadas de uma avaliação precisa do teor de umidade (tanto no solo quanto na planta) (TODD, 1972).

Em adição à informação apresentada nas tabelas, poderia-se destacar que em casos de deficiência hídrica relativamente severa, têm sido observadas alterações ultraestruturais. A valores de Ψ_f de -18.5 bars (ou 55% em C.H.R.), GILES et al.

Tabela 1. Efeito da Deficiência Hídrica sobre Processos ou Parâmetros Fisiológicos ou Bioquímicos em Milho

Parâmetro ou Processo	Ψ_f (bars)	C.H.R. (%)	Observações	Referências
Expansão Foliar	- 7		Reduzida em 100% (2)	ACEVEDO <u>et al.</u> (1971)
	- 8	-	(1)	BARLOW (1970a)
	- 9		(2)	BOYER (1970a)
Potencial de Turgência	- 10	-	$\Psi_p = 0$ <i>Stress</i> atmosférico	JOHNSON e BROWN (1977)
	- 15		Campo	TURNER (1974)
Biossíntese Proteica	- 10	-	Polirribossomos reduzidos em 40% (1), (2)	HSIAO (1970), MORILLA <u>et al.</u> (1973)
Carboidratos Solúveis	- 7	-	28% de incremento (1)	BARLOW <u>et al.</u> (1976a)
Resistência Estomática	- 10	-	Incrementa (2)	BOYER (1970b), GILLES <u>et al.</u> (1974)
	- 17		Campo	TURNER (1974)
Teor de ABA	- 10.5	80	Incrementa 14 vezes (2)	GILES <u>et al.</u> (1974)
Absorção de ^{32}P por raiz	- 12	-	Absorção inibida (2)	DOVE (1969)
Teor de Amido	- 13.5	73	Ausente. Microscopia eletrônica (2)	GILES <u>et al.</u> (1974)
	-	75	Decresce 50% (2)	MARANVILLE e PAULSEN (1970)
Transpiração	- 16	-	Reduzida em 75% (2)	BOYER (1970b)
Clorofila Total (a+b)	-	55	Decresce 40% (2)	MARANVILLE e PAULSEN (1970)
Fotossíntese Líquida	- 20	-	Reduzida em 100% (2)	BOYER (1976)
Respiração Escura	- 35	-	<i>Stress</i> por dessecação ao ar. De <u>cre</u> ce em 100%	KOEPPE <u>et al.</u> (1973)
	- 16	-	Incrementa duas vezes. (1)	KOEPPE <u>et al.</u> (1973)

OBS.: (1) Ambiente controlado. *Stress* osmótico

(2) Ambiente controlado. *Stress* por supressão de irrigação em solo ou suportes similares.

Tabela 2. Efeito da Deficiência Hídrica sobre a Atividade Enzimática em Milho

Enzima	Efeito da Dessecação e Condições do Stress	Referências
<u>Oxidoreductases</u>		
Nitrato reductase	Ver pp.25-27	
Peroxidase	Incrementos máximos no ponto de murchamento permanente.	Revisado por TODD (1972)
Ácido ascórbico-oxidase	Atividade aumentada	Idem
Polifenoloxidase	Atividade duplicada no ponto de murchamento permanente.	Idem
Citocromooxidase	Incrementa 4.5 vezes (*)	NIR et al. (1970)
<u>Hidrolases</u>		
a-Amilase	Incrementa 100% a C. H.R. de 75% (**)	MARANVILLE e PAULSEN (1970)
Invertase	Decresce 84% a C. H. R. de 55% (**)	Idem
Ribonuclease	Incrementa 50% a $\Psi_f = -15$ bars (***)	MORILLA et al. (1973)
<u>outras</u>		
Enzimas glicolíticas	Atividade quase completamente suprimida	Revisado por TODD (1972)
Aldolase	Decresce 65% a C.H.R. de 75% (**)	MARANVILLE e PAULSEN (1970)

(*) - Atividade determinada a partir de mitocôndrios isolados de raízes, mantidos por 16 hs sobre uma solução de NaCl 22 M.

(**) - Stress induzido por supressão da irrigação do solo

(***) - 3 hs de dessecação ao ar em plântulas de 8-9 dias

(1974) observaram que 25% das células mesofílica apresentavam tonoplastos fragmentados, resultando numa disrupção celular completa. NIR et al. (1970), trabalhando com células corticais de raiz, submetidas ao stress severo (nas condições especificadas na Tabela 2), encontraram numerosos corpos lipídios citoplasmáticos, e especularam que o stress hídrico poderia atuar em forma similar a um detergente, solubilizando lipídios e deslocando-os de várias membranas. A resistência à ação lipolítica nas membranas, parece ser um fator importante na resistência à seca (VIEIRA DASILVA, 1976). Tem sido demonstrado que, as membranas de sorgo e milho apresentam uma sensibilidade diferencial (GILES et al., 1974, 1976), e isto poderia explicar parte das respostas à seca destas espécies, observadas no campo.

Resistência à Seca

Natureza da Resistência

Resistência à seca é um caracter complexo que envolve parâmetros fisiológicos, ontogênicos e morfológicos (HSIAO, 1976b). As plantas desenvolveram uma variedade de estratégias para enfrentar condições de deficiência hídrica, então, a base da resistência à seca pode diferir de espécie para espécie (HSIAO e ACEVEDO, 1974). É possível encontrar na literatura, associações entre resistência à seca e estabilidade de clorofila sob tratamento térmico (KILEN e ANDREW, 1969); sensibilidade estomática (HENZELL et al., 1975); padrões de desenvolvimento radicular (HURD, 1976); cessação de crescimento (MIRANDA,

1972); transpiração cuticular reduzida (LEVITT, 1972) atividade lissosomal (VIEIRA DA SILVA, 1976); concentração de açúcares (MURTY e SRINIVASULU, 1968, citado por LEVITT; 1972); teor de ABA (LARQUE-SAAVADDRA e WAIN, 1974); maior absorção de água (SLATYER, 1955, citado por LEVITT, 1972) isto, para citar apenas uns poucos exemplos contrastantes.

LEVITT (1972) estabeleceu que, a resistência à seca é a somatória de dois mecanismos básicos: 1) aqueles que possibilitam evitar a seca (drought avoidance); 2) aqueles que permitem tolerar a seca (drought tolerance). Estes mecanismos, deveriam ser distinguidos dos mecanismos que possibilitam o escape à seca, por exemplo, a capacidade de completar o ciclo reprodutivo antes da ocorrência de períodos secos. Este autor elaborou uma teoria geral de resistência a *stress* ambiental, baseado na similitude de respostas dos vegetais a distintos tipos de *stress* (frio, calor, seca).

As semelhanças entre injúria por dessecação, congelamento e altas temperaturas, podem ser discutidas sobre uma base protoplasmática comum (PARKER, 1972; LEVITT, 1972). Pode-se falar, então, de uma resistência protoplasmática a dessecação, devido a que, ao menos em casos de seca severa, é o próprio protoplasma que é colocado em perigo de injúria (PARKER, 1972). Reconhece-se que, pode ser um excesso de simplificação igualar resistência à seca com a capacidade do protoplasma de suportar desidratação (PARKER, 1972).

Em contraste com os mecanismos envolvidos na tolerân-

cia à seca, os mecanismos que possibilitam evitar a seca são, principalmente, de natureza anátomo-morfológica, embora nestes casos a resistência se desenvolve devido aos e feitos da seca sobre os processos fisiológicos (LEVITT, 1972). Mais precisamente, existe ampla evidência de que o mecanismo que governa a abertura e fechamento de estômatos (o qual está relacionado, primariamente, com drought avoidance) sofre considerável controle metabólico. Foi mencionado o papel de ABA no movimento estomático (ITAÍ e BENZIONI, 1976) e de fluxos de K^+ controlando a turgência das células guardiãs (HSIAO, 1973). Outro exemplo é a relação da parte aérea/raiz, que sofre um decréscimo quando sob deficiência hídrica (LARSON, 1975). Existe considerável variação nos padrões de desenvolvimento radicular em resposta à deficiência hídrica (HURD, 1976), e diferenças em resistência à seca entre espécies e variedades podem ser explicadas pelo tamanho do sistema radicular (LEVITT, 1972). O maior crescimento relativo de raízes ocorre a despeito do efeito duplo do dessecamento do solo: não somente o potencial hídrico decresce, mas também a resistência mecânica do solo à penetração de raízes aumenta (HSIAO et al., 1976b). HSIAO (1973) destacou que, as raízes podem ter uma capacidade superior à parte aérea para ajustar osmoticamente seu potencial hídrico em resposta a flutuações no potencial hídrico do solo. Isto somente pode ser logrado por modificações nos padrões de translocação de assimilatos (HSIAO et al., 1976b).

Avaliação da Resistência

Testes de Campo

Existem muitas tentativas de selecionar para resistência à seca através de ensaios de campo, onde o rendimento observado é tomado como o indicador. Mais precisamente, tem se afirmado que o teste essencial da resistência à seca é uma comparação de rendimento no campo sob condições típicas de seca (HURD, 1976).

Esta aproximação, embora muitas vezes necessária por causa da urgência, sofre inevitáveis desvantagens (BOYER e Mc PHERSON, 1975).

A seca acontece, em geral, em etapas discretas do crescimento vegetativo, porém, a cultura está programada para crescer e produzir antes, durante e depois de um período seco (LEVITT, 1972). Então, quando avaliada através do critério de rendimento, a resistência observada é função de muitos fatores, devido a que o rendimento não é somente uma função da capacidade da planta para sobreviver à seca (LEVITT, 1972). Do ponto de vista da genética do rendimento, a produção é determinada pela ação de muitos genes, e é o produto de muitos processos fisiológicos, interagindo entre si e com o ambiente (HURD, 1976). A seleção, via um dado caracter, só é efetiva quando o caracter em causa é facilmente medido e quando o componente ambiental da variação pode ser minimizado (HENZELL et al., 1976). Justamente, a interação genótipo x ambiente tem sido apontada

como a maior limitação para os testes de campo para tolerância à seca (WILLIAMS et al., 1967).

Contudo, as observações feitas em condições de campo podem ser de grande utilidade para estabelecer uma seqüência de padrões fisiológicos observados em ambientes controlados. Uma abordagem deste tipo foi realizada por HSIAO et al. (1976b) comparando o comportamento de milho e sorgo em condições de seca.

Testes de Laboratório

Em vista das várias dificuldades envolvidas na interpretação dos resultados de campo, tem-se postulado a necessidade do emprego de testes rápidos de laboratório (WRIGUT, 1964; JENSEN, 1971, citado por PAL et al., 1976; NOUR e WEIBEL, 1978).

KILEN e ANDREW (1969) empregaram um método chamado "Índice de Estabilidade de Clorofila". Tal índice está baseado no registro das diferenças em atividade ótica de extratos de clorofila a partir de amostras foliares tratadas ou não a uma temperatura *standard* (usualmente 65 °C). Estes autores verificaram que os resultados correlacionaram altamente com os resultados de campo das 12 linhagens de milho utilizadas no estudo, especialmente com a queima das folhas através da lâmina foliar. KALOYEREAS (1958, citado por PARKER, 1972) obteve também resultados positivos, e concluiu que o índice poderia ser usado como uma medida de resistência à seca em diferentes variedades de *Pinus taeda*. Em oposição, FANOUS (1967) observou que este índice não teve nenhuma associação com resistência a seca

em *Pennisetum typhoideum*. A utilização da atividade ótica da clorofila como indicador de resistência à seca tem base fisiológica, desde que o teor de clorofila é reduzido por *stress* hídrico (Tabela 1), e isto pode ser atribuído a uma queda na síntese de protoclorofila (HSIAO, 1973). Não está claro se o *stress* térmico produz efeitos iguais, embora a única referência encontrada na literatura (NAGY e FALUDI-DANIEL, 1967), citado em-PARKER, 1972) indique que os efeitos térmicos em cloroplastos de milho, poderiam ser atribuídos a efeitos de desnaturalização dos complexos proteína-clorofila.

Outra metodologia, amplamente utilizada em laboratório, é o uso de testes de germinação em soluções de potencial osmótico conhecido (McGUINNIES, 1960; WILLIAMS et al., 1967; PARMAR e MOORE, 1968; SHARMA, 1973; MACHADO et al., 1976) ou a exposição de plântulas a distintos *osmoticum* (YOUNIS et al., 1963; CAMPOS e TOZANI, 1973). Os resultados dos testes são conflitantes e variam com a natureza do soluto empregado (PARMAR e MOORE, 1968; SHARMA-1973; CAMPOS e TOZANI, 1973; MACHADO et al., 1976), temperatura de pré-incubação (MIRANDA, 1972) e vigor das sementes (PARMAR e MOORE, 1968; MIRANDA, 1972; MACHADO et al., 1976). Mais obviamente, as respostas variam também com a espécie ou variedade utilizada (SHARMA, 1973; WILLIAMS et al., 1967; MIRANDA, 1972; CAMPOS e TOZANI, 1973; MACHADO et al., 1976), embora por vezes, as diferenças significativas entre variedades sejam função do soluto utilizado (YOUNIS, et al., 1963).

WILLIAMS et al. (1967) observaram que a porcentagem de germinação em soluções de manitol a 15 atmosferas de pressão osmótica foi bem correlacionado com resultados de campo, onde as variedades foram testadas para resistência à seca. Contrariamente, McGUINNIES (1960) não encontrou correlação entre resistência à seca e a capacidade de germinar em soluções com alto potencial osmótico produzido por manitol. SHARMA (1973) verificou que a ordem de colocação das espécies em testes de germinação em polietinoglicol, NaCl ou manitol foi exatamente oposto à ordem de resistência à seca encontrada em plantas adultas. Contudo, comentou que o teste poderia ser de utilidade para predizer a facilidade de germinar sob condições hídricas adversas. McGUINNIES (1960) destacou o fato de que uma espécie que germina bem sob severo stress não é necessariamente resistente à seca em estágios posteriores, e inversamente, outra que não germina bem pode ser resistente em outras fases. Em conexão com isto, é pertinente a conceituação de WRIGHT (1964). Este autor fez uma distinção entre tolerância à seca da plântula, da planta jovem, e da planta adulta, sugerindo que em cada uma dessas fases, a tolerância pode estar relacionada com outras, mas pode também se expressar independentemente. Isto reforça a idéia da complexidade das respostas vegetais à seca, e da dificuldade em extrapolar respostas observadas na fase de plântula para estágios mais avançados de desenvolvimento.

Indicadores fisiológicos ou bioquímicos

Capacidade fotossintética

A capacidade das plantas para fotossintetizar durante e depois de um período de deficiência hídrica é um índice importante de resistência à seca (HURD, 1976).

Sorgo é cultivado em áreas consideradas demasiado secas para o milho (HENZELL et al., 1975), e quando ambas as culturas são comparadas num mesmo ambiente de seca freqüente, observa-se que o sorgo é pouco afetado em rendimento, enquanto o milho pode reduzir sua produção em até 50% (HSIAO et al., 1976b). Uma grande parte dessa diferença em resposta pode ser explicada por padrões de conduta estomática e assimilação de CO_2 . Tanto evidências obtidas em campo, quanto em ambiente controlado, demonstram que o milho fecha mais rapidamente seus estômatos que o sorgo em resposta a um stress hídrico (HSIAO et al., 1976b). Isto implica em que, o sorgo deve ser capaz de manter uma taxa normal de fotossíntese durante um tempo maior que milho (HSIAO et al., 1976b). Dados obtidos em câmara de crescimento confirmam esta hipótese (BEADLE et al., 1973). Existem diferenças entre cultivares de sorgo e milho em taxas de assimilação e sensibilidade estomática (SULLIVAN e EASTIN, 1974; HENZELL et al., 1975). -- Outros exemplos são discutidos por LEVITT(1972). HURD (1976) relaciona estes parâmetros como importantes objetivos em programas de melhoramento para resistência à seca.

Atividade de Nitrato reductase

Em vista da alta sensibilidade da atividade desta enzima ao *stress* hídrico, tem se sugerido seu emprego como um indicador de deficiência hídrica (TEARE et al., 1974). BOYER e McPHERSON (1975.) destacaram a possibilidade de selecionar a favor de taxas maiores, de NRase como forma de aumentar os rendimentos em condições de deficiência hídrica.

Existe variabilidade genotípica para a atividade de NRase em varias espécies de interesse econômico: em sorgo (ECK e HAGEMAN, 1974); trigo (CROY e HAGEMAN, 1970); milho (DECKARD et al., 1973), e *Lolium perene* e *L. multiflorum* (GOODMAN et al., 1974). Em milho, a atividade é de alta hereditabilidade e passível de manipulação genética (WARNER, 1969, citado por ECK et al., 1975). Em sorgo, ECK et al. (1975) encontraram resultados similares, mas concluíram que, uma parcela importante da variação total entre os genótipos foi explicada por efeitos da interação genótipo x ambiente.

PAL et al.(1976) testaram seis genótipos de milho para atividade de NRase, três deles classificados no campo como tolerantes à seca e três como intolerantes. Os decréscimos de atividade em resposta ao *stress* térmico ou hídrico foram significativamente menores nas variedades tolerantes que nas intolerantes. Contudo, uma das variedades intolerantes mostrou índices similares às tolerantes. O fato foi explicado sobre a base de que a classificação de intolerante para esse genótipo é devida a sua susceptibilidade à injúria durante a fase reprodu-

tiva, mas que na fase vegetativa (onde o genótipo foi testado), existem evidências de campo que a classificam como tolerante. Eles comentaram a respeito disso sobre a complexidade de interpretação dos resultados sobre tolerância à seca (ou temperatura) quando são medidos pelo critério de rendimento em campo.

Teor de N-proteico

A perda de N-proteico é uma resposta geral ao *stress* hídrico mas existem diferenças entre espécies e entre cultivares nos seus teores de N-proteico quando submetidos a um mesmo nível de dessecação (LEVITT, 1972).

LEVITT (1972) destacou que uma planta pode resistir a perda de N-proteico por distintas vias, sendo este tipo de resistência um aspecto particular da tolerância à seca. Basicamente, existe uma tendência a evitar a perda de proteína, por incremento na taxa de síntese e/ou decréscimo na taxa de hidrólise.

Por outro lado, pode existir uma tolerância à perda de proteínas, através de dois caminhos: taxas incrementadas de ressíntese após a rehidratação ou desintoxicação dos hidrolizados proteicos.

Para o primeiro componente (avoidance) LEVITT (1972), apresentou resultados de CHEN et al. (1968) e STUTTE e TODD (1968), os quais favorecem a hipótese de taxas de síntese incrementadas. Estes resultados, contudo, foram posteriormente criticados por HSIAO (1973) sobre a base

de que podem ser produto de técnicas analíticas inadequadas.

PAL et al. (1970) testaram a termoestabilidade de ribonuclease extraída de dois genótipos de milho, um tolerante e outro intolerante à seca. Não foram encontradas, diferenças significativas, porém, o genótipo mais resistente mostrou sempre atividades menores. LEVITT (1972), verificou que não existiam evidências de que taxas reduzidas de hidrólise proteica pudessem ser responsáveis pela conservação de proteínas em plantas resistentes. Resultados publicados posteriormente (VIEIRA DA SILVA, 1976), sugerem, embora de forma indireta, essa possibilidade.

Para o segundo componente (tolerância à perda), LEVITT (1972) apontou que para a primeira via (taxas de ressíntese incrementadas após a rehidratação) não existiam evidências disponíveis, mas que a segunda via (desintoxicação de hidrolizados proteicos) poderia justificar os acúmulos de prolina observados em plantas submetidas ao stress. Resultados mais atuais tendem a desacreditar esta possibilidade.

Teor de Prolina

Uma relação entre resistência a seca e nível de prolina tem sido encontrada diversas vezes (PALFI e JUHASZ, 1971; SINGH et al., 1973).

Em alguns casos, entretanto, o envolvimento de prolina como fator de resistência não ficou claro. WALDREN e TEARE (1974) observaram que a soja (espécie considerada pouco resis-

tente) começou a acumular prolina a um nível menor de *stress* do que sorgo (espécie considerada mais resistente), embora os níveis absolutos de acumulação fossem maiores para sorgo que para soja. Eles concluíram que, acumulação de prolina poderia funcionar como um índice de resistência ou susceptibilidade à seca. BLUM e EBERCON (1976) verificaram que a capacidade de diferentes cultivares de sorgo para tolerar dessecação, foi independente da capacidade para acumular prolina mas que os níveis de acumulação foram altamente correlacionados com a capacidade de recuperação *pós-stress*.

HURD (1976) cita uma comunicação pessoal de DEDIO (1974) que observou que os níveis de acumulação de prolina em 16 cultivares de trigo estavam mais estreitamente ligados ao efeito da deficiência hídrica nas folhas do que aos cultivares propriamente. Em consequência, sugeriu que o nível de prolina poderia ser usado como um indicador de deficiência hídrica, mas seria de pouca utilidade para identificação de resistência à seca.

MADRUGA e RENA (1977) trabalhando com arroz, não encontraram relação entre a capacidade de acumular prolina e a capacidade de produzir em condições de sequeiro ou de irrigação.

HANSON et al. (1977) usaram dois cultivares de cevada, anteriormente testados por SINGH et al. (1973) e classificados em função de sua produção no campo como resistente e susceptível a seca. Eles verificaram que em resposta a um *stress* osmótico, a variedade susceptível teve uma mais rápida queda nos va-

lores de Ψ_f . Prolina acumulou nas duas variedades em resposta a quedas em Ψ_f , e alcançou a mais alta concentração naquelas partes da folha abaixo de -30 a -40 bars, que foram considerados como tecidos não viáveis, já que não puderam se recuperar após a liberação do stress. A variedade susceptível, atingiu valores de Ψ_f de -30 a -40 bars primeiro que a resistente, e teve, em consequência, uma maior percentagem de área foliar morta após a liberação do stress. Sob stress, a variedade susceptível acumulou prolina mais rapidamente que a variedade resistente. Como em outros experimentos, o teor de prolina declinou rapidamente nos tecidos viáveis, após a liberação do stress mas permaneceu muito alto nos tecidos dessecados irreversivelmente. Isto representou uma perda importante de N reduzido para a planta, já que a quantidade de prolina livre retida nas folhas mortas, representou aproximadamente um terço do N-proteico solúvel presente nestes tecidos antes do início do stress.

Com base nesses resultados, eles opinaram que o potencial para acumular prolina não deveria ser utilizado em programas de melhoramento de cereais como um índice positivo de resistência à seca. Mais precisamente, uma pressão de seleção por alta acumulação de prolina, poderia mais comumente conduzir a um avanço genético em direção a susceptibilidade ao stress hídrico ao invés de resistência à seca.

III. MATERIAL E MÉTODOS

As respostas de três variedades de milho (*Zea mays* L.) ao *stress* hídrico foram avaliadas através de dois experimentos:

- 1º) Estudo da resposta de germinação e crescimento de plântulas submetidas a um *stress* osmótico.
- 2º) Estudo da resposta de plantas à dessecação progressiva do solo.

Material Vegetal

Foram empregadas as variedades Centralmex e Piranão, obtidas no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", e a variedade IPEACS III (sintética), obtida no Laboratório de Sementes da UEPAE de Itaguaí (Embrapa, RJ).

Experimento Nº 1

Sementes de cada uma das três variedades, previamente

selecionadas por uniformidade, foram tratadas com uma solução de Etanol a 50%, durante 5 minutos aproximadamente, e depois lavadas, repetidamente, com água deionizada (MACHADO et al., 1976).

Posteriormente, foram colocadas para germinar em caixas plásticas (11 x 11 cm). No fundo de cada caixa, colocou-se dois papéis de filtro e as sementes foram umedecidas com 15 ml de uma solução de manitol ajustada para uma pressão osmótica de 15 atmosferas (109,98 g/l a 30°C, calculado com emprego da fórmula dada por HELMERICK e PFEIFER, 1954). Para permitir um melhor contacto entre semente e solução, foram cobertas com outro papel de filtro e adicionados mais 5 ml de solução.

Como controle (0 atm), foi usada água deionizada. Uma caixa contendo 20 sementes constituiu uma replicação. Todos os tratamentos foram replicados três vezes. As caixas foram colocadas numa câmara de germinação "Biomatic" a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ em forma completamente casualizada. Foram feitas duas contagens de germinação (cumulativas) aos 5 e 7 dias. Foram consideradas como germinadas aquelas sementes que apresentaram coleoptilo maior que 2 mm e presença de raiz primária ou na sua ausência, duas raízes secundárias bem desenvolvidas (PARMAR e MOORE, 1968). Após a contagem final (7 dias), o comprimento do coleoptilo e da raiz primária foram medidos com régua milimetrada. Os dados relativos à germinação e crescimento da plântula foram corrigidos para o valor do controle de cada variedade (considerado como 100) e expressos como porcentagem deste valor.

Experimento N° 2

O experimento foi feito em casa de vegetação, usando-se três variedades de milho, para estudar as respostas de plantas à dessecação progressiva do solo.

Solo

Usou-se um solo da série Itaguaí, previamente descrito por RAMOS et al. (1973). Uma camada superficial (15 cm, compreendendo os horizontes A1 e A3) foi coletada na Área Experimental do Departamento de Fitotecnia (UFRRJ). O solo foi levado ao laboratório, desterroado, seco ao ar, e peneirado para obtenção da fração TFSA. Três amostras foram enviadas para análise no Laboratório de Fertilidade, setor de Solos, da UEPAE, Itaguaí (EMBRAPA, RJ). A análise revelou um teor de Al de 0,6 mE/100 cm³ e um pH de 4,5. Após correção (0,645 g de CaO/Kg de solo), o solo apresentou as seguintes características: P = 1 ppm; K = 68 ppm, Ca = 2,3 mE/100 cm³; Mg = 2,0 mE/100 cm³; Al = 0,1 mE/100 cm³, pH = 5,9. O solo foi também analisado para N-NH₄⁺ e N-NO₃⁻, segundo o método descrito por BREMNER (1965), apresentando, respectivamente, 9,3 ppm e 7,1 ppm. Volumes de 2000 cm³ de solo, foram acondicionados em potes plásticos e compactados a uma densidade média de 1,15 g/cm³ não muito diferente da densidade aparente do solo *in situ* (1,22 g/cm³, RAMOS et al., 1973).

Procedimento Experimental

Antes da semeadura, os potes foram irrigados com uma quantidade de água aproximada à "capacidade de campo". A curva de retenção de umidade deste solo foi previamente determinada por JACCOUD e CASTRO (1974). O conteúdo hídrico de 16,3% (p/p) correspondente a $\Psi_m = 0,3$ atm, obtido nesse experimento, foi usado para fins de cálculo, como o valor correspondente à "capacidade de campo". Junto com a água de irrigação, cada pote recebeu uma adubação de 80 ppm de N, na forma de NaNO_3 , 60 ppm de K e 50 ppm de P, ambos na forma de KH_2PO_4 , e 1 ppm de uma solução de micronutrientes, preparada segundo FERNANDES (1974). Os potes foram subsequentemente pesados, e o valor correspondente registrado, como referência posterior para irrigação.

Os potes foram então colocados na casa de vegetação, em três bancadas, de forma completamente casualizada.

Quatro sementes de cada variedade de milho, foram semeadas por pote. A germinação foi relativamente uniforme, não se verificando qualquer efeito diferencial entre variedades. Cinco dias após a emergência das plântulas, (estágio de três folhas), foi feito um desbaste, deixando-se duas plantas em cada pote.

Diariamente, entre as 8-9 h, os potes eram pesados, e era adicionada água suficiente para completar o conteúdo hídrico à "capacidade de campo". Durante todo o período de crescimento das plantas, foi feito diariamente o registro dos parâ-

metros ambientais. As técnicas empregadas, assim como os cálculos envolvidos são referidos em separado.

A fase experimental foi iniciada 25 dias após a emergência das plantas, de acordo com o seguinte esquema:

Duração do stress hídrico (dias)	Dias após emergência das plantas-	Tratamento N°	
		Irrigados	Não Irrig.(1)
0	25	0	-
1	26	1	5
2	27	2	6
3	28	3	7
4	29	4	8

(1) No texto, os tratamentos são denominados também como controles (irrigados) e stress (não irrigados). Salvo indicação expressa em contrário, ambas as formas de expressão devem ser tomadas como equivalentes.

Foi admitido que ao dia 0 de stress (25 dias após emergência) não existiam diferenças entre os potes que foram subsequentemente irrigados ou privados de irrigação. Portanto, um único tratamento (N° 0) serviu como testemunha comum para ambos os grupos de potes. O total de potes do experimento foi de 81, resultantes do produto de 9 tratamentos x 3 variedades x 3 repetições.

Diariamente, entre as 11 e 12 horas, os potes correspondentes aos respectivos tratamentos foram levados ao laboratório.

A segunda folha a partir do ápice foi usada para a determinação do Conteúdo Hídrico Relativo (C.H.R.) e preparação de extratos foliares. O C.H.R. foi determinado segundo o método de BARRS e WEATHERLEY (1962). De cada pote foram tomados 10 discos foliares (5 discos/planta), do terço médio da folha; com ajuda de um furador de rolha modificado, de 7,0 mm de diâmetro. O tempo de imersão dos discos foliares em água deionizada foi de três horas. Todos os discos foram tomados de uma mesma metade da lâmina foliar. Na metade oposta, em uma das plantas, foi retirada 1 grama de tecido para preparação do extrato foliar. O tecido foi cortado em fragmentos de aproximadamente 5 mm, colocado em frascos de vidro contendo 20 ml de Etanol 80% e conservado em geladeira (4°C) até o momento da extração (FERNANDES, 1974).

Aproximadamente 200 mg de material da mesma folha, foi usado para determinação da atividade de Nitrato-redutase (NRase), pelo método de JAWORSKI (1971), levemente modificado. O meio de incubação consistiu de 5 ml de uma solução de N-propanol a 2 %, em tampão de fosfato 0,1 M, pH 7,5 e KNO_3 0,02 M. Após incubação por uma hora a 30°C, o nitrito produzido foi determinado colorimetricamente. A uma alíquota de 0,4 ml obtida do tubo de incubação, foram adicionados 0,3 ml de uma solução de sulfanilamida 1% em HCl 3 M, e 0,3 ml de uma solução de N-naftil-etileno-di-amino 0,02%. A densidade ótica foi lida a 54,0 nm em um Spectronic-20. A atividade foi expressa em μmoles de NO_2^- grama de peso fresco/hora.

As técnicas de preparação do extrato foliar foram as

mesmas que as descritas por FERNANDES (1974). Após o descarte da fração solúvel em clorofórmio, a fração alcoólica foi coletada e completado o volume para 50 ml com Etanol 80%. O resíduo, após extração alcoólica, foi seco em estufa de circulação de ar, à 60°C por 48 horas.

No extrato alcoólico foram feitas as seguintes determinações:

- N-amino livre. Por emprego do método de YEMM e COCKING (1955).
- N-amônia e N-nitrato. Pelo método de destilação descrito por BREMNER e KEENEY (1965).
- Prolina livre. Pelo método da ninhidrina ácida (TROLL e LINDSAY, 1955), usando tolueno como extrator, segundo a modificação de BATES et al. (1973). A separação completa do cromóforo requereu, na maioria das vezes, centrifugação (1,000 g por 5 minutos). Após extração de cromóforo, sua densidade ótica foi lida a 520 nm (BATES et al, 1973).
- Açúcar Solúvel. Dosado colorimetricamente segundo a técnica descrita por YEMM e WILLIS (1954).

No resíduo, após secagem, Nitrogênio foi determinado

em amostras de 50 mg. Aos balões de Kjeldhal eram adicionados 4 ml de uma solução de $H_3 PO_4-H_2SO_4(2:1)$ e aproximadamente 500 mg de uma mistura de $CuSO_4.3H_2O$ e $K_2SO_4(1:1)$. Após, aproximadamente, 60 minutos de digestão, foi adicionado 10 ml de água deionizada a cada tubo, e destilado por arraste do vapor sob NaOH 50%. O nitrogênio obtido nesta determinação, foi chamado de N-proteico (FERNANDES, 1974).

Todas as determinações analíticas foram feitas em duplicado.

A relação peso seco/peso fresco foi calculada a partir dos respectivos pesos dos discos foliares usados para a determinação do C.H.R. Esta relação foi admitida como constante para toda a lâmina foliar, e serviu para expressar todas as determinações analíticas em base de peso seco. N-amino livre, N-amônia, N-nitrato e Prolina livre foram expressos em **μ moles/g.peso seco**; açúcar solúvel como mg/g de peso seco e N-proteico como porcentagem de peso seco.

Nível de *Stress*

Neste experimento foi considerado um nível basal, acima do qual as plantas foram consideradas livres de *stress*. De acordo com a evidência disponível (HSIAO, 1973), este nível foi definido como sendo de 100-95% para o C.H.R., correspondendo a 100-85% da capacidade de campo.

Matéria Seca e Área Foliar

Após a separação do material para determinação analítica, a parte aérea das plantas foi cortada e as raízes destacadas dos potes por lavagem repetida sob jato de água corrente. Previamente, uma amostra de solo, da parte central do pote foi tomada para determinação gravimétrica de umidade (GARDNER, 1965). Raiz e parte aérea foram secas por 48 horas, a 60°C, em estufa de circulação de ar. Os valores obtidos foram expressos na base de g/potes. Os valores de umidade do solo são dados como percentagem da capacidade de campo.

A área foliar foi determinada por técnica de correlação estatística, segundo o método de PEARCE et al.(1975). Em um experimento separado, tinha-se plantas dos três genótipos, a razão de uma planta por pote, nas mesmas condições que as descritas para o experimento principal. Foram usadas seis repetições, desde que este número representa o mínimo de replicações necessárias para se obter um "fator de área foliar" com um erro esperado de 4 a 6% (FRANCIS et al., 1969). Vinte e um dias após a emergência das plantas, a área de cada folha foi calculada a partir da expressão: $0,75$ (máximo comprimento x máxima largura), (FRANCIS et al., 1969; PEARCE et al., 1975); e a somatória correspondente deu a área foliar total por planta. A correlação entre a área foliar de cada folha e a área foliar total indicou que para os três genótipos a folha de melhor correlação foi a segunda totalmente desenvolvida a partir do ápice. Os respectivos coeficientes de regressão foram calculados e a área foliar de cada

variedade foi determinada com emprego da seguinte equação geral:

$$AF = \text{"Fator"} \text{ (Máximo comprimento x Máxima largura) folha 2}$$

onde AF denota área foliar total por planta, e o "Fator" é o valor do coeficiente da regressão da área da folha 2 sobre a área foliar total.

O valor deste coeficiente foi de 3,256 para Centralmex, 3,097 para Piranão e 3,006 para IPEACS III. A correlação entre ambos os métodos (somatória de todas as folhas e cálculo a partir do "fator de área foliar") foi significativa a $P = 0,05$ para Piranão e IPEACS III e a $P = 0,01$ para Centralmex. Portanto, o método de PEARCE et al. (1975) foi adotado o que resulta numa considerável economia de tempo. Os valores de AF foram expressos em dm^2/pote .

Parâmetros de Crescimento

A análise de crescimento foi feita por emprego de fórmulas convencionais:

$$T.C.R. = R.A.F. \times T.A.L. \qquad T.C.R. = \frac{\ln P_2 - \ln P_1}{t_2 - t_1}$$

$$R.A.F. = \frac{AF}{P}$$

onde T.C.R. = Taxa de Crescimento Relativa

R.A.F. = Relação de Área Foliar (Área Foliar/Peso Seco Total)

T.A.L. = Taxa de Assimilação Líquida

P_1, P_2 = Peso Seco Total (g/pote) aos tempos t_1 e t_2 , respectivamente.

Todos os parâmetros foram aplicados observando-se restrições metodológicas discutidas por RADFORD (1967).

Parâmetros Ambientais

Radiação global. A radiação média diária foi calculada através de cinco leituras diárias, às 9, 11, 14, 16 e 17 horas, feitas com um Fotômetro Li-Cor, modelo Li-185. O valor medido em cada hora de leitura era a média de 12 registros (quatro por bancada, nos pontos extremos e médios). As leituras foram feitas ao nível do ápice de cada planta. A distribuição da radiação incidente mostrou pequenas flutuações entre e dentro de bancadas. Para prevenir efeitos microclimáticos, os potes eram mudados de posição, totalmente ao acaso, duas vezes ao dia. Os valores são dados em $\text{cal. cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$.

A regressão da radiação solar sobre a hora do dia, mostrou uma relação da forma: $y = -1,224 + 0,273 x - 0,011 x^2$, com um máximo às 12:40 h de $0,55 \text{ cal. cm}^{-2} \text{ .min.}^{-1}$. Tal relação foi empregada no cálculo da evapotranspiração.

Umidade Relativa e Temperatura do Ar. Registros semanais de umidade relativa e temperatura do ar foram obtidos com um termohigrógrafo colocado no centro das bancadas. Três termômetros de mercúrio foram colocados acima das bancadas (aproximadamente a 40 cm do ápice das plantas) e a temperatura do ar foi seguida, também, diariamente, em con-

junto com as medições de radiação.

Cálculo de Evapotranspiração. A evapotranspiração diária foi calculada usando-se a fórmula de PENMAN, tal como apresentada por WINTER (1974). A radiação líquida foi calculada a partir da diferença entre a radiação global (onda curta) e a radiação emitida (onda longa). Este último valor foi determinado a partir de valores tabelados da insolação diária total, obtida no Posto Agrometeorológico da UEPAE, Itaguaí, RJ. A fórmula foi simplificada, assumindo-se que, a velocidade do vento dentro da casa de vegetação foi nula. Os valores diários obtidos mostraram uma correlação de 0,614, significativa a $P = 0,01$ com os valores de evaporação total (medido com Evaporímetro de Piche) registrados pelo Posto Agrometeorológico da UEPAE, durante o período de crescimento das plantas. Os valores obtidos por aplicação da fórmula, foram geralmente mais baixos) e isto pode ser devido ao efeito da cobertura branca na casa de vegetação que interceptou aproximadamente 40-50% da radiação incidente no local.

Análise Estatística. Foi feita análise de variância para todos os parâmetros medidos no experimento, e, o nível de significância, determinado pelo teste "F". Diferenças mínimas significativas (D.M.S.) entre as médias observadas foram determinadas por emprego do teste "t" de Student, usando-se o nível $P = 0,05$, salvo indicação expressa em contrário.

Em adição, foram empregadas técnicas de correlação pa-

ra o estudo do grau de associação entre as variáveis. O nível de significação é indicado especificamente em cada caso.

IV. RESULTADOS

1. TESTE DE GERMINAÇÃO

Os valores de germinação, o crescimento das plântulas e as relações coleoptilo/raiz das três variedades de milho, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Percentagem relativa de germinação, crescimento e relação coleoptilo/raiz de plântulas de milho em uma solução de potencial hídrico de -15 atmosferas, usando manitol como *osmoticum* (1)

Variedade	Germinação (%)		Crescimento da Plântula (7 dias)		Relação Coleoptilo/Raiz	
	5 dias	7 dias	Raiz	Coleoptilo	Água	Manitol
CENTRALMEX	36,3	62,1	22,9	15,4	0,37	0,25
IPEACS III	7,4	36,5	17,3	7,8	0,39	0,18
PIRANÃO	12,0	39,8	28,9	7,3	0,41	0,10

(1) Os resultados foram expressos em relação ao controle 0 atm (100%).

A exposição das sementes ao potencial osmótico de -15 atmosferas resultou numa apreciável inibição da germinação total (avaliada aos 7 dias e chamada "percentagem de germinação final"). No final deste período, a variedade Centralmex apresentou um Índice de germinação superior a IPEACS III e Piranão em 70 e 56% respectivamente. Também, a taxa de germinação das 3 variedades foi consideravelmente afetada.

Após os primeiros 5 dias, Centralmex mostrou uma percentagem de germinação superior em aproximadamente três vezes à Piranão e cinco vezes à IPEACS III.

Dentro da população de sementes germinadas notou-se um efeito direto do potencial osmótico, determinando uma drástica inibição do crescimento, tanto na raiz quanto no coleoptilo. Centralmex mostrou a menor redução em crescimento do coleoptilo, duplicando, em forma relativa o crescimento exibido por Piranão e IPEACS III.

Quanto ao crescimento radicular, Piranão mostrou o máximo percentual com respeito aos controles, IPEACS III o mínimo e Centralmex um valor intermediário. Como consequência destas tendências de crescimento nas variedades, a relação coleoptilo/raiz sofreu também variações. Centralmex mostrou a menor redução da relação em resposta ao stress osmótico, Piranão a máxima redução e IPEACS III exibiu valor intermediário entre estas variedades (Tabela 3).

2. RESPOSTA À DESSECAÇÃO PROGRESSIVA DO SOLO

2.1. Efeito da Supressão da Irrigação sobre a Média Varietal.

Condições Ambientais

As condições ambientais dominantes na casa de vegetação durante o período de crescimento das plantas (24 dias) e o período experimental compreendido entre os dias 13 a 17 de outubro (correspondentes a 0, 1, 2, 3 e 4 dias de suspensão de irrigação) estão na Tabela 4.

Tabela 4. Variação das condições ambientais médias durante o período de crescimento e da suspensão da rega das plantas.

PARÂMETRO AMBIENTAL	O U T U B R O					Média para o período de (1) crescimento
	13	14	15	16	17	
EVAPOTRANSPIRAÇÃO (mm./dia)	1,36	2,22	3,61	1,79	1,56	1,61
RADIAÇÃO MÉDIA (cal./cm ² /dia)	139,16	228,96	380,88	191,40	155,80	172,27
TEMPERATURA MÉDIA DIURNA (°C)	26,1	29,6	31,3	28,8	27,5	27,4
UMIDADE RELATIVA Do AR (%)	77,35	67,29	64,71	75,85	78,71	72,68
DEFICIT MÉDIO DE SATURAÇÃO (mm.Hg)	5,74	10,17	12,10	7,17	5,86	7,48

(1) Refere-se ao período de 24 dias anterior à suspensão da rega.

No primeiro e especialmente no segundo dia, as condições de stress foram particularmente intensas, com registros de radiação média diária, temperatura média diurna e evapotranspiração bem acima da média para o período de crescimento. Isto foi acompanhado por uma redução na umidade relativa média do ar e um conseqüente incremento no déficit médio de saturação. Temperaturas máximas, da ordem de 34 e 38°C, foram registradas durante estes dois dias. Durante o terceiro e quarto dia de stress a demanda evapotranspirativa atmosférica declinou valores próximos às médias registradas durante o período *pré-stress*.

Conteúdo hídrico Solo-Planta

O quadro ambiental dominante durante o início do stress, determinou quedas drásticas nos parâmetros indicadores de stress hídrico, tanto na planta quanto no solo. Em particular esta situação determinou o abaixamento do C.H.R. das plantas do grupo controle, a níveis previamente definidos como de stress (Fig. 1). As flutuações em umidade do solo foram seguidas por variações similares no C.H.R. das plantas, e ambas as variáveis resultaram estreitamente relacionadas ($r = 0,950$, $P = 0,01$). O conteúdo final de umidade dos potes foi ligeiramente menor que o chamado "ponto de murchamento permanente".

Matéria Seca e Área Foliar

O efeito da dessecação progressiva do solo sobre a

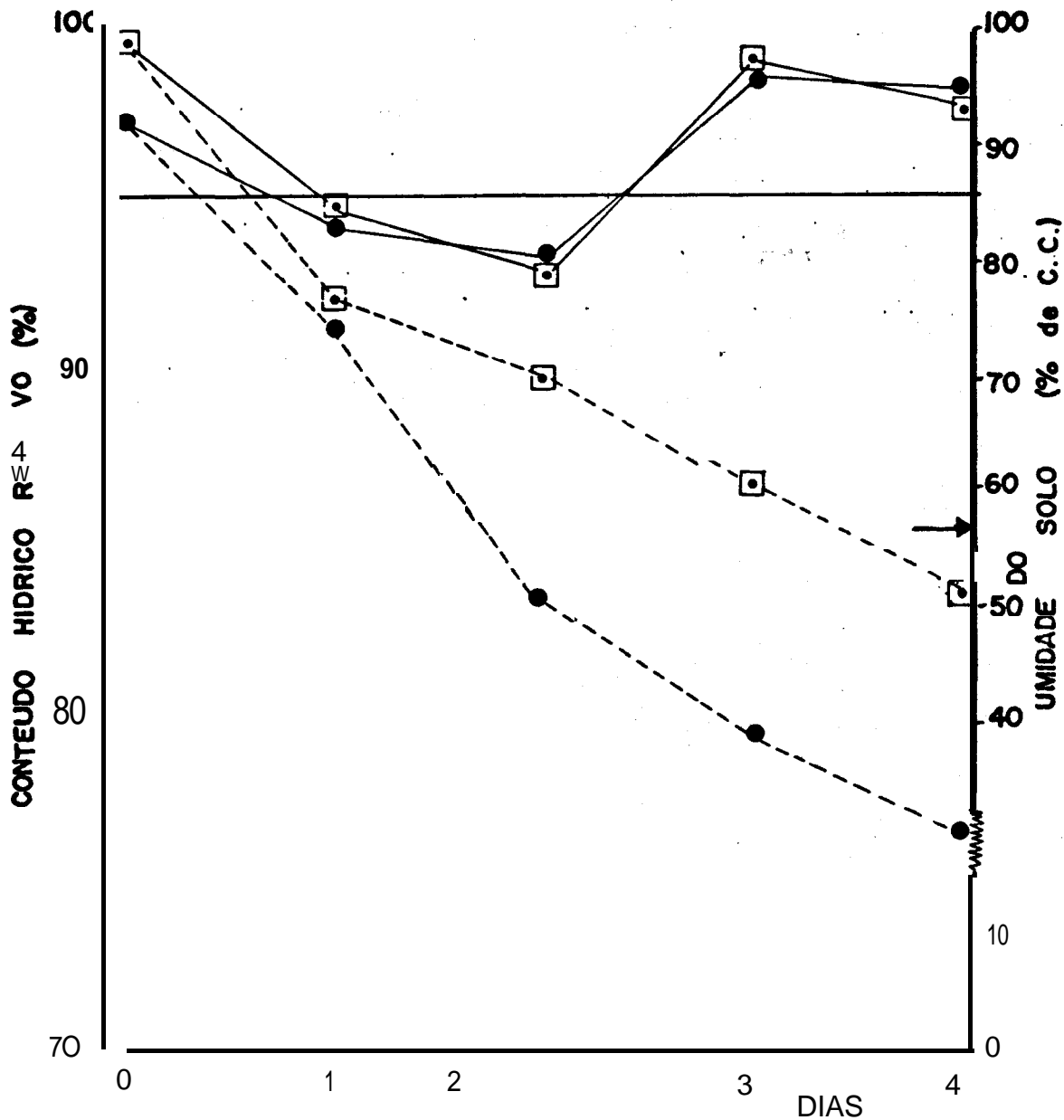


Fig. 1. Variação do Conteúdo Hídrico Relativo (●), e da Umidade do Solo (◻), durante o período experimental. A barra horizontal indica o nível basal, debaixo do qual as plantas são consideradas em situação de *stress* hídrico. A seta na escala de Umidade do Solo indica, de forma aproximada, o ponto de murchamento permanente. Linha inteira: irrigados (controles). Linha pontilhada: não irrigados (*stress*).

matéria seca acumulada na raiz e na parte aérea, e sobre a relação raiz/parte aérea é mostrada na Figura 2.

Como consequência do crescimento verificado no período, houve diferenças significativas em matéria seca na parte aérea dentro do grupo controle (Fig. 2A). A taxa média de acumulação foi de 0,448 g/dia/pote.

A dessecação do solo causou uma considerável redução na parte aérea da matéria seca, e no final do período, os potes não irrigados diferiam em 36% (significativo a $P = 0,01$) com respeito aos controles. Durante os primeiros três dias, a matéria seca da parte aérea não mostrou diferenças significativas dentro dos potes não irrigados, sendo reduzida somente no último dia. Em oposição, a acumulação de matéria seca nas raízes (Fig. 2B) foi relativamente mais estável. De novo, efeitos de crescimento (taxa média: 0,238 g/dia/pote), produziram diferenças significativas entre potes irrigados. No final do período, os potes não irrigados mostraram uma redução de 12,6% (significativa a $P = 0,5$) com relação aos controles. Dentro dos tratamentos não irrigados, não foram notadas diferenças significativas em peso de raiz, embora houvesse uma ligeira tendência para o aumento. Como consequência da redução em peso da parte aérea e da relativa constância em peso da raiz, houve um incremento de 20% na relação raiz/parte aérea com relação ao grupo controle (Fig. 2C).

A matéria seca total (raiz e parte aérea) mostrou diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo não

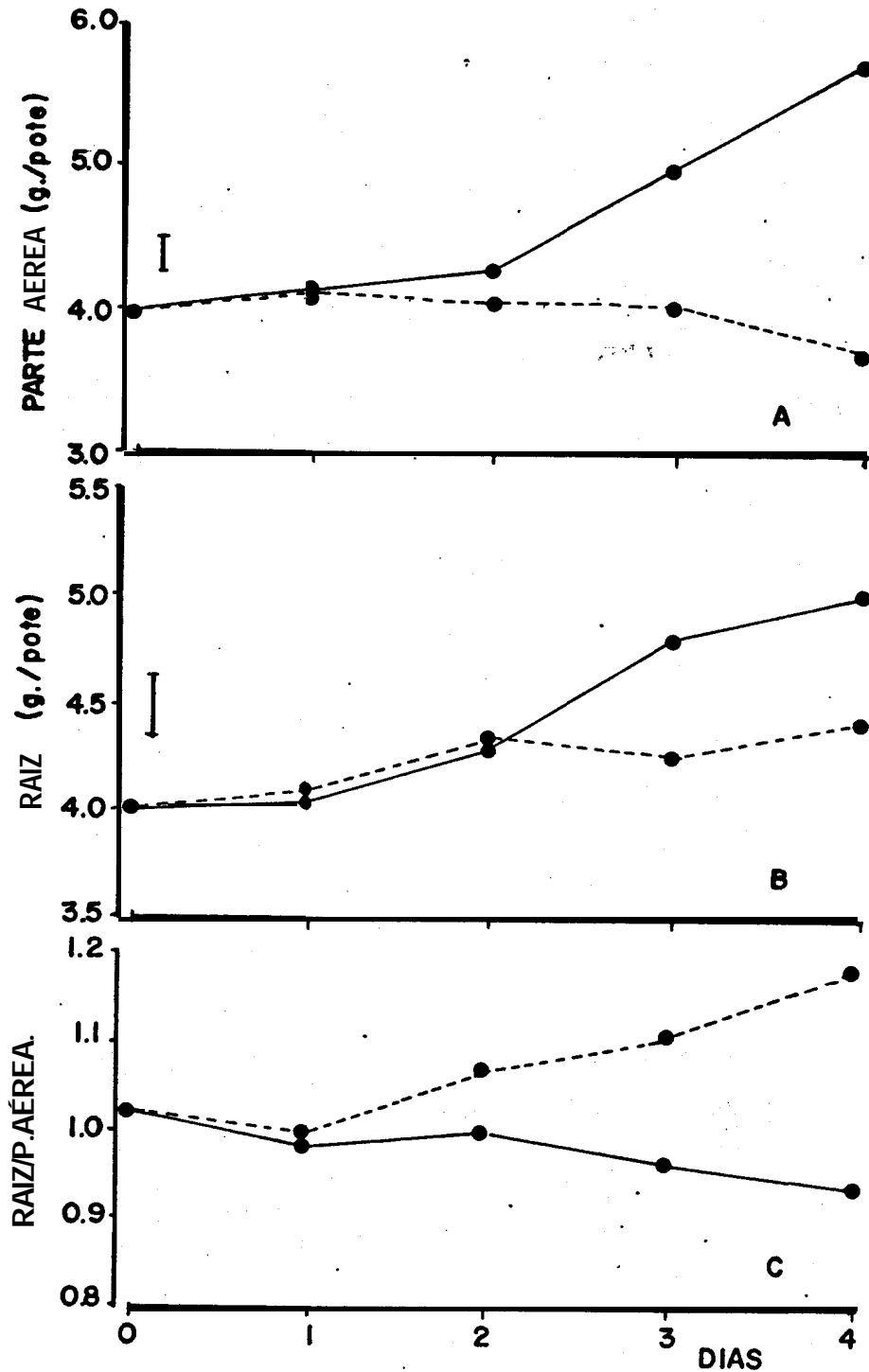


Fig. 2. Variação do peso seco da parte aérea (A); raiz (B) e da relação raiz/parte aérea (C) em função dos dias de dessecação progressiva do solo. A linha inteira corresponde aos controles, a linha pontilhada aos tratamentos de *stress*. A barra horizontal indica a D.M.S.

irrigado.

No final do período, a matéria seca total foi reduzida em 24% (significativo a $P = 0,01$) nos potes não irrigados, em relação ao grupo controle (Tabela 10). A variação de matéria seca dentro do grupo de potes não irrigados não mostrou diferenças significativas no decorrer dos dias de stress, embora uma queda de peso seco fosse evidente nos últimos dois dias. Esta relativa estabilidade da matéria seca total dentro do grupo sob stress foi conseqüência de que, se por um lado a parte aérea perdeu peso, por outro lado, a raiz tendeu a contrariar esta tendência.

A variação em área foliar é mostrada na Tabela 5.

Tabela 5. Variação da Área Foliar e da Relação de Área Foliar, durante o período experimental.

Dias Trat.	ÁREA FOLIAR (dm^2/pote)					R. A. F. (dm^2/g)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
IRRIGADOS	9.78	10.21	9.87	11.53	12.48	1.23	1.25	1.15	1.19	1.17
NÃO IRRIG.	9.78	10.17	9.28	8.66	7.88	1.23	1.24	1.11	1.04	0.98
D . M . S .			0.62					0.09		

Como conseqüência das fortes condições de stress ambiental imperantes nos primeiros dois dias, diferenças significativas dentro do grupo controle somente se verificaram a partir do terceiro dia. Dentro do grupo não irrigado, a tendência geral, como esperado, foi de decrescer. No último dia, a dife-

rença com respeito ao controle, foi menor em 37% (significativa a $P = 0,01$) (Tabela 10). É de destacar que, os valores correspondentes aos dois últimos dias de *stress* poderiam estar superestimados. Isto como conseqüência de senescência observada nas folhas inferiores, especialmente no último dia, em uma das variedades utilizadas.

A variação da área foliar por unidade de matéria seca total (R.A.F.) é mostrada na tabela 5. Esta relação permaneceu relativamente constante nos controles, mas foi reduzida em aproximadamente 20% nos potes não irrigados. Isto é resultado direto do maior percentual em redução de área foliar em relação à matéria seca total. Contudo, o maior determinante da taxa relativa de crescimento (T.C.R.) foi, neste experimento, a taxa de assimilação líquida (T.A.L.) (Fig.3). Variações em T.A.L. são seguidas estreitamente pela T.C.R., especialmente dentro dos tratamentos não irrigados. Isto é conseqüência de que as flutuações em R.A.F. (o outro determinante da T.C.R.) foram relativamente pequenas, oscilando pouco em torno da unidade, como poderia ser esperado em um período experimental curto, de quatro dias.

A ocorrência de forte demanda evapotranspirativa durante os primeiros dois dias, deu oportunidade para a observação de uma fase de recuperação, *pós-stress* nos controles. Isto se torna evidente na figura 3, onde a T.A.L. foi reduzida por efeito de um abaixamento no conteúdo hídrico do sistema solo-planta (Fig. 1), em aproximadamente 50% do valor *pré-stress* du-

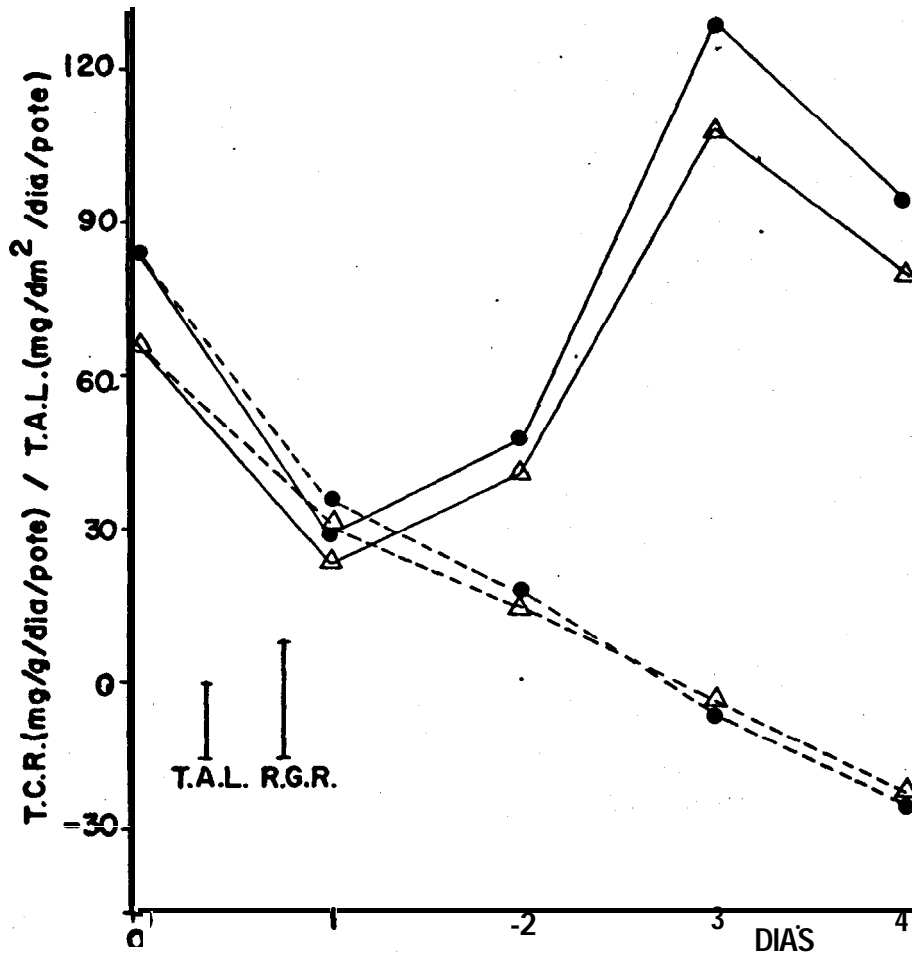


Fig. 3. Variação da Taxa de Crescimento Relativa (●—●, irrigados, ●---●, não irrigados), e da Taxa de Assimilação líquida (△—△, irrigados, △---△, não irrigados) em função dos dias de dessecação do solo. As linhas verticais indicam a D.M.S.

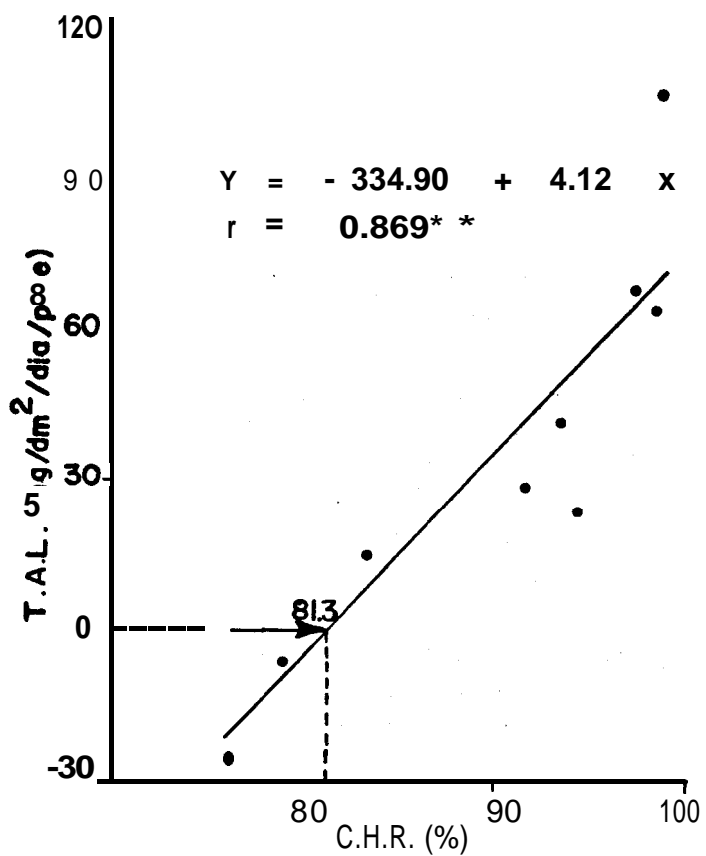


Fig. 4. Relação entre Conteúdo Hídrico Relativo e Taxa de Assimilação Líquida. A seta indica o valor de C.H.R. ao qual a T.A.L. é igual a 0.

rante o primeiro dia. No segundo dia, embora acontecesse um incremento na radiação média da ordem de 65% (Tabela 4), a T.A.L. não mostrou uma grande recuperação, devido a que o conteúdo hídrico foliar continuou baixo (em termos do controle, figura 1). A diminuição da pressão evapotranspirativa durante a segunda metade da tarde deste dia, e durante a manhã do, terceiro, determinaram uma forte recuperação, com uma média de T.A.L. (e de T.C.R.) bem acima da média do período de crescimento *pré-stress*. Durante o quarto dia, os valores novamente declinaram aos níveis médios "normais" nas condições do experimento.

Devido a este incremento compensatório no terceiro dia, as médias de T.A.L. e T.C.R. durante o período experimental não resultaram significativamente diferentes dos valores registrados para o período *pré-stress*.

O valor médio de T.A.L. nos controles, foi de 64.5 mg/dm²/dia/pote, durante o período de stress, e o da T.C.R. de 76 mg/g/dia/pote, durante o mesmo período.

Atividade de Nitrato-Reductase

A variação em atividade de NRase em função dos dias de dessecação progressiva do solo é mostrada na tabela 6. Na tabela 10, a variação relativa de atividade é mostrada em relação aos controles diários.

Quatro dias de *stress* resultaram em um decréscimo de atividade de aproximadamente 80% (Tabela 10). A atividade de

NRase correlacionou significativamente com vários outros indicadores de deficiência hídrica usados neste experimento (Tabela 9).

Tabela 6. Variação da atividade de Nitrato-Reductase em função da dessecação progressiva do solo.

Atividade de NRase em moles $\text{NO}_2^-/\text{g.peso}$ fresco/hora					
Dias / Trat.	0	1	2	3	4
IRRIGADOS	0.80	0.59	0.60	0.69	0.75
NÃO IRRIG.	0.80	0.65	0.41	0.32	0.16
D.M.S. =	0.09				

N-Amoniacal

A variação de N-Amoniacal durante o período experimental é mostrada na figura 5A. Dentro do grupo controle, este teor foi relativamente constante. Diferenças significativas no teor de N-amoniacal em resposta ao stress hídrico foram detectadas após dois dias de dessecação progressiva do solo. No final do período experimental, o teor em folhas submetidas a deficiência hídrica aumentou em quase 3 vezes com respeito ao controle (Tabela 10).

N-Amino Livre

A variação no teor de N-amino livre em função dos dias

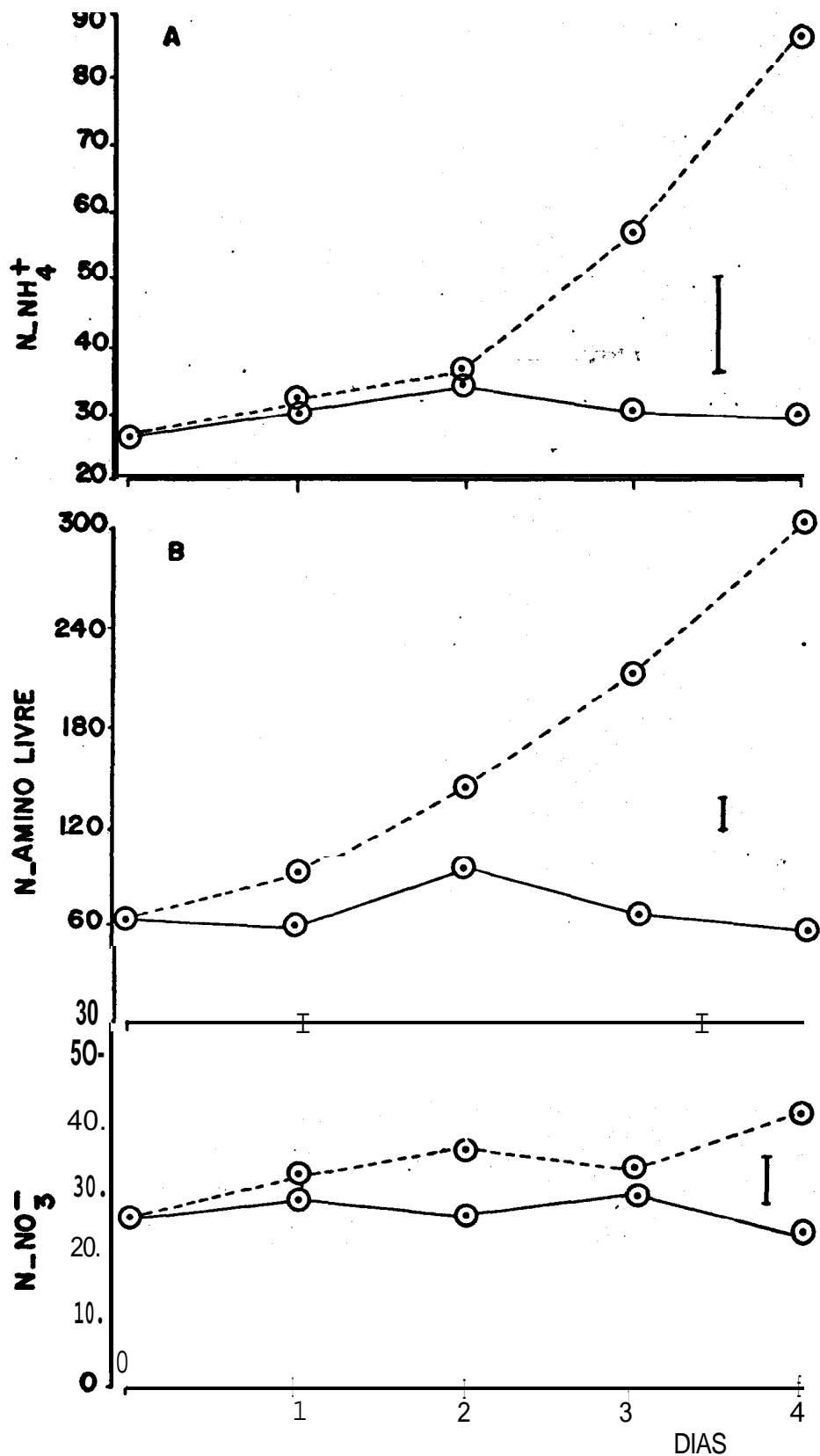


Fig. 5. Variação no Teor de N-amoniacoal (A), N-amino livre (B) e N-nítrico (C), em função dos dias de dessecação progressiva do solo. Todos os teores são expressos em μ moles/g.peso seco. A linha inteira corresponde aos controles; a linha pontilhada aos tratamentos de stress. A linha vertical denota a D.M.S.

de dessecação progressiva do solo é mostrada na figura 5B. O nível de N-amino, dentro do grupo não irrigado foi significativamente diferente do nível do controle após um dia de *stress* hídrico, quando o C.H.R. foi de 91.5% (Fig. 1). O aumento no teor de N-amino nas plantas sob *stress* foi contínuo, crescendo de forma aproximadamente exponencial até o final do período experimental, quando seu nível foi 5 vezes superior aquele exibido pelo respectivo controle (Tabela 10).

N-Nítrico

Os teores de N-nítrico observados durante o período experimental são mostrados na figura 5C. O teor de nitrato foi variável, tanto dentro do grupo controle, quanto do grupo sob *stress*. Sob condições de *stress*, nitrato tendeu primeiro a aumentar durante os dois dias iniciais, no terceiro dia decresceu a um nível próximo o do controle, para finalmente aumentar significativamente no último dia do período experimental. No final do período, as plantas sob *stress* mostraram um nível de nitrato 80% superior a do controle (Tabela 10).

Prolina

Um incremento exponencial em prolina em resposta ao *stress* hídrico é notório na figura 6. O nível de prolina permaneceu praticamente constante nos controles, durante todo o período experimental. Com dois dias de *stress* o teor de pro-

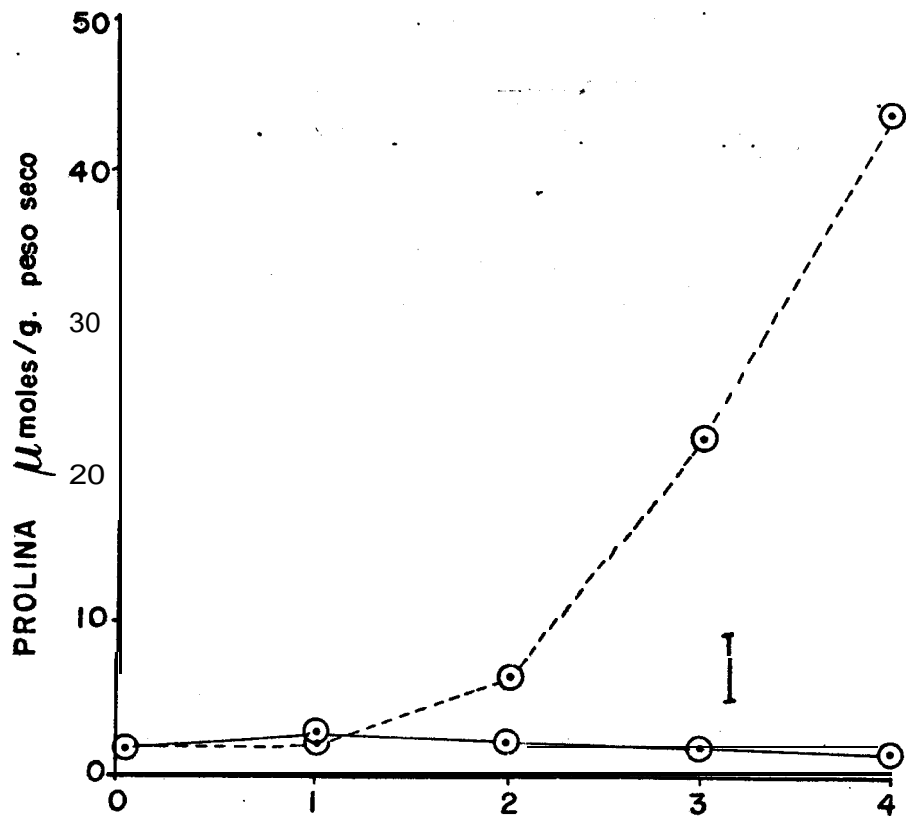


Fig. 6. Variação no Teor de Prolina Livre em função dos dias de dessecação progressiva do solo. A linha inteira corresponde aos controles, a linha pontilhada aos tratamentos de *stress*. A linha vertical denota a D.M.S.

lina no grupo submetido a dessecação do solo triplicou seu valor com respeito ao controle diário (Tabela 10), atingindo significação estatística. Isto aconteceu quando o C.H.R. atingiu um valor de 83.390, ou um correspondente de 70% da capacidade de campo (Fig. 1). O teor final de prolina, após quatro dias de dessecação progressiva do solo foi aproximadamente 27 vezes superior ao registrado no controle (Tabela 10).

N-Proteico

Os teores de N-proteico, são apresentados na tabela 7. O stress hídrico induziu uma queda contínua nos níveis de N-proteico. No final do período experimental, o nível de N-proteico nas plantas submetidas a deficiência hídrica foi aproximadamente 50% daquele do controle (Tabela 10).

Como conseqüência do aumento verificado no nível de N-solúvel (a somatória de N-amino, N-nítrico, N-amoniaco e N-prolina), e, do declínio em N-proteico, a relação entre ambas as formas de N tendeu a incrementar (Fig.7). Pode-se ver que no final do período experimental, a relação N-solúvel/N-proteico foi, aproximadamente, seis vezes superior em plantas submetidas ao stress.

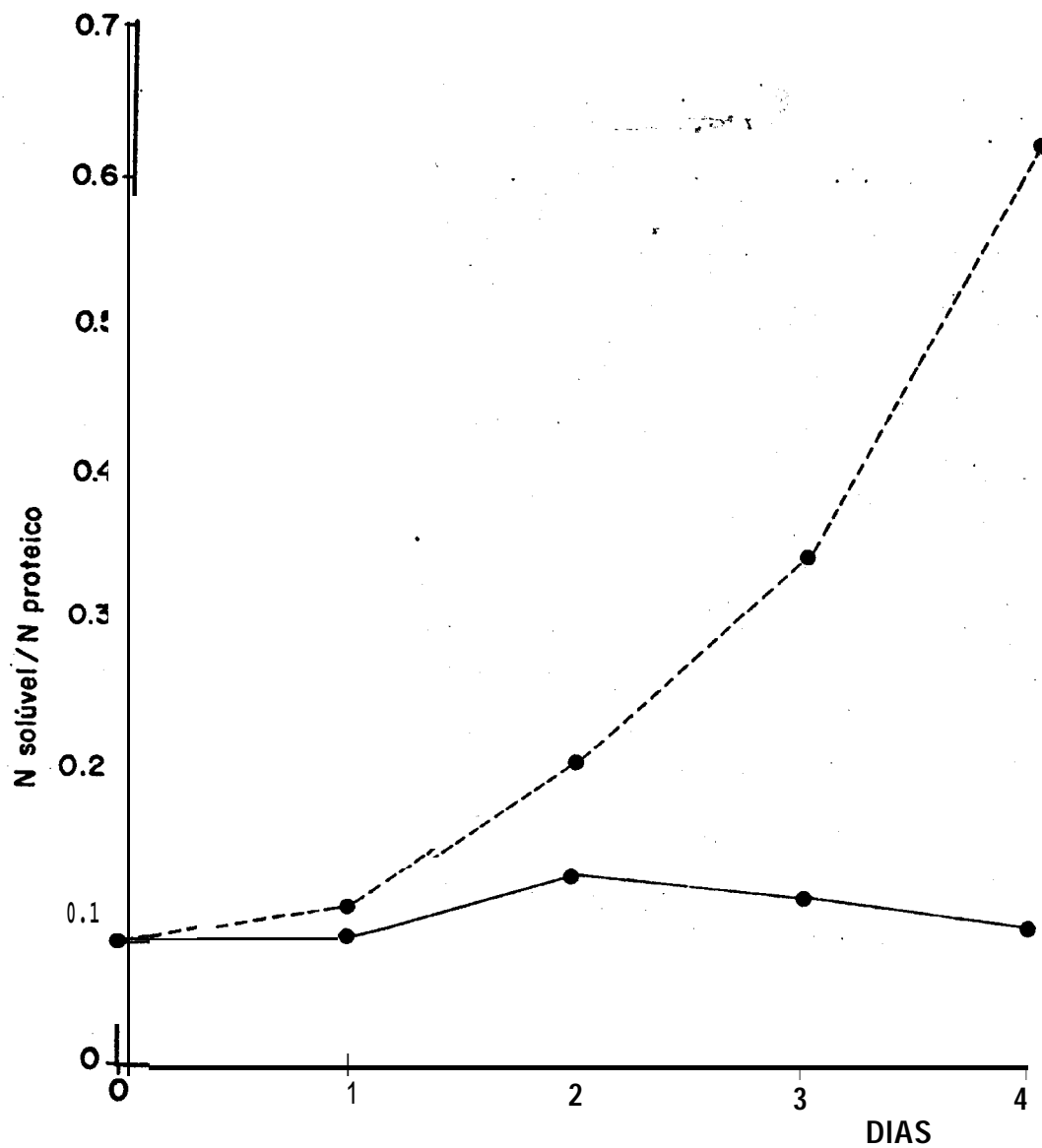


Fig. 7. Variação da relação N-solúvel/N-proteico em função dos dias de dessecação progressiva do solo. A linha inteira corresponde ao controle; a linha pontilhada ao tratamento de *stress*.

Tabela 7. Variação de N-Proteico em função da dessecação progressiva do solo

		N- Proteico - % de Peso Seco				
Dias /	Trat.	0	1	2	3	4
	IRRIGADOS	2.03	1.95	1.69	1.81	1.86
	NÃO IRRIG.	2.03	1.90	1.53	1.31	1.05
D.M.S.	=	0.10				

Quando a soma de N-proteico e N-solúvel é expressa levando-se em consideração a matéria seca total, é possível calcular o teor de N por pote. Os valores assim obtidos são apresentados na tabela 8. Ao examinar esta tabela, deve ser levado em consideração que os teores de N nela apresentados, possivelmente sejam inferiores ao teor total de N, desde que a contribuição da fração-N-amida ao *pool* de N-solúvel deixou de ser considerada neste experimento. Contudo, é razoável assumir que a soma de ambas as frações aqui determinadas, represente a maioria das formas de N nas plantas, constituindo um indicador bastante aproximado do teor de N total.

Tabela 8. Variação de Nitrogênio por pote em função da dessecação progressiva do solo

		Teor de N (mg/pote)				
Dias	Trat.	0	1	2	3	4
IRRIGADOS		173.26	174.27	161.28	194.43	216.20
NÃO IRRIG.		173.26	174.35	154.27	147.13	137.22
D.M.S.	=	12.99				

A tabela 8 indica claramente que existem diferenças em N por pote, tanto entre potes irrigados e não irrigados, quanto dentro de cada um dos grupos. Diferenças significativas dentro do grupo controle se manifestaram após o terceiro dia, uma vez superada a fase de *stress* inicial. Dentro do grupo de tratamentos não irrigados, as quedas em conteúdo de N foram contínuas a partir do primeiro dia. No final do período, o nível de N nos potes submetidos a *stress* foi 36,5% menor do que o respectivo controle. Contudo, diferenças significativas com respeito a seus controles diários, somente foram evidentes após 3 dias de *stress* (Tabela 8).

Os teores de N-proteico e N-solúvel correlacionaram significativamente com vários indicadores de deficiência hídrica (Tabela 9).

Carbohidrato Solúvel

Os teores de carboidratos solúveis são apresentados na figura 8. Estes teores foram extremadamente variáveis no grupo controle. Houve uma tendência inicial à acumulação durante os primeiros dois dias, com incremento significativo no segundo dia. No terceiro dia, o nível de carboidrato decresceu ao valor mínimo para as condições do experimento. Finalmente, aumentou até um nível similar ao dia 0. A tendência geral dentro do grupo de plantas submetidas ao stress foi para o incremento. Este incremento foi linear e contínuo, e no final do período o nível de carboidratos solúveis em plantas submetidas ao stress foi 2,24 vezes maior que o de seu respectivo controle (Tabela 10).

Contudo, diferenças significativas com respeito ao grupo controle somente foram significativas no terceiro dia. Isto é consequência de que, no controle também foi verificado um incremento em resposta ao stress. O qual mascarou as possíveis diferenças durante os primeiros dois dias.

A figura 9 mostra a relação entre o nível de carboidratos solúveis e o peso seco da parte aérea. Quando os dados correspondentes à matéria seca da raiz dos nove tratamentos são relacionados, surge uma correlação negativa (não significativa, fig. 9A). Quando somente são considerados os dados correspondentes aos tratamentos de stress a correlação torna-se positiva e significativa (Fig. 9B). A correlação para o conjunto dos dados relativos à parte aérea também resultou negativa (Fig.

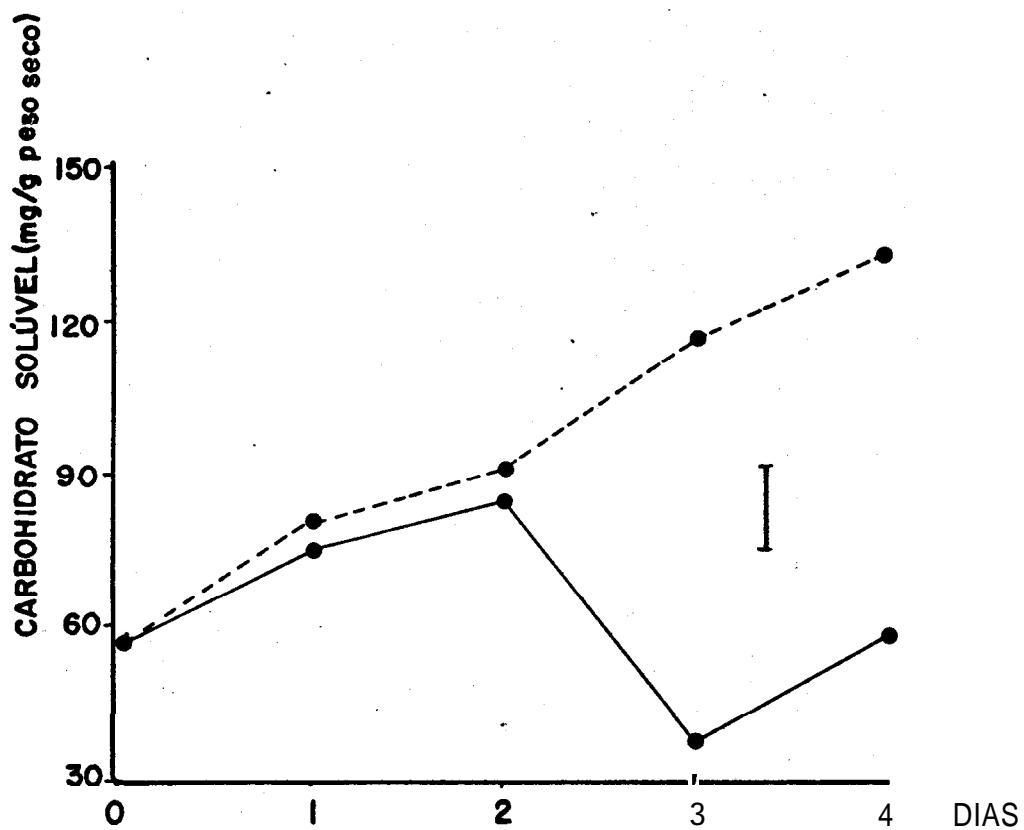


Fig. 8. Variação no Teor de Carbohidrato Solúvel em função dos dias de dessecação progressiva do solo. A linha inteira corresponde aos controles, a linha pontilhada aos tratamentos não irrigados (*stress*). A linha vertical indica a D.M.S.

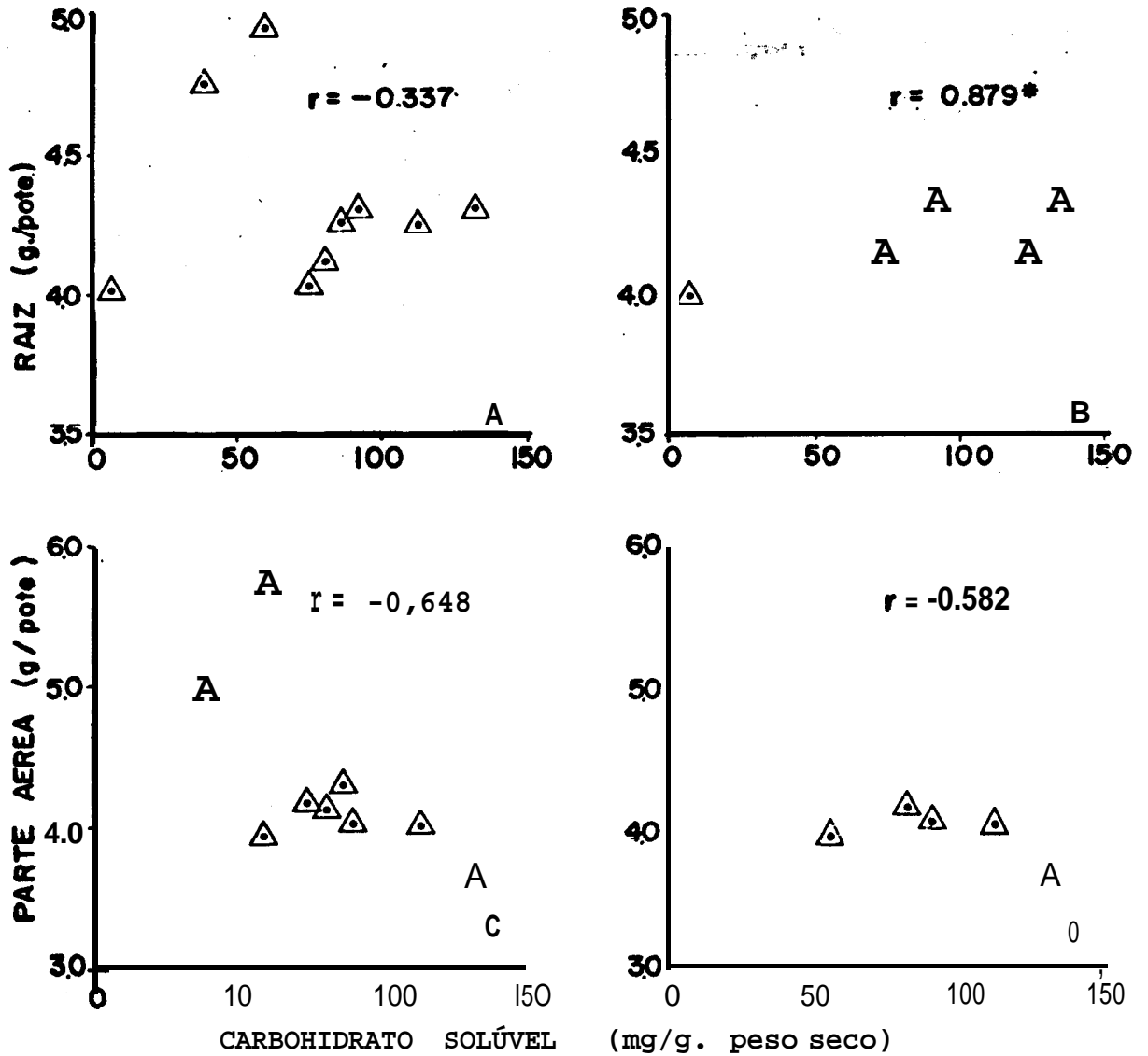


Fig. 9. Relação entre o peso seco da raiz (A e B) e da parte aérea (C e D) e o teor de carboidrato solúvel, considerando o conjunto dos tratamentos (A e c), ou somente os tratamentos sob stress (B e D).

9C). A mesma tendência é mantida com relação aos tratamentos de stress (Fig. 9D). Embora as correlações não atinjam nível de significação, a tendência de relação inversa entre ambas variáveis (matéria seca da parte aérea e carboidrato solúvel) parece ser definida. Quando, ao invés de se considerar o valor absoluto de matéria seca, se considera a taxa de variação relativa da matéria seca total (T.C.R.), a relação é expressa em forma mais precisa (Fig. 10). O teor de carboidrato solúvel correlacionou significativamente com outros indicadores de deficiência hídrica (Tabela 9).

Tabela 9. Coeficientes de Correlação entre alguns parâmetros usados como Indicadores de Deficiência Hídrica em milho.

	C.H.R.	T.A.L.	Carb. solúvel	N-Prot.	N-solúvel-	NRase
NRase	0.923**	0.858**	-0.929**	0.945**	-0.936**	-
N-Solúvel	-0.885**	-0.751*	0.920**	-0.961**	-	
N-Proteico	0.896**	0.734*	-0.884**	-		
Carboidrato Solúvel	-0.906**	-0.954**	-			
T.A.L.	0.869**	-				
C.H.R.						

*, ** Significativo a P = 0.05 e P = 0.01, respectivamente.

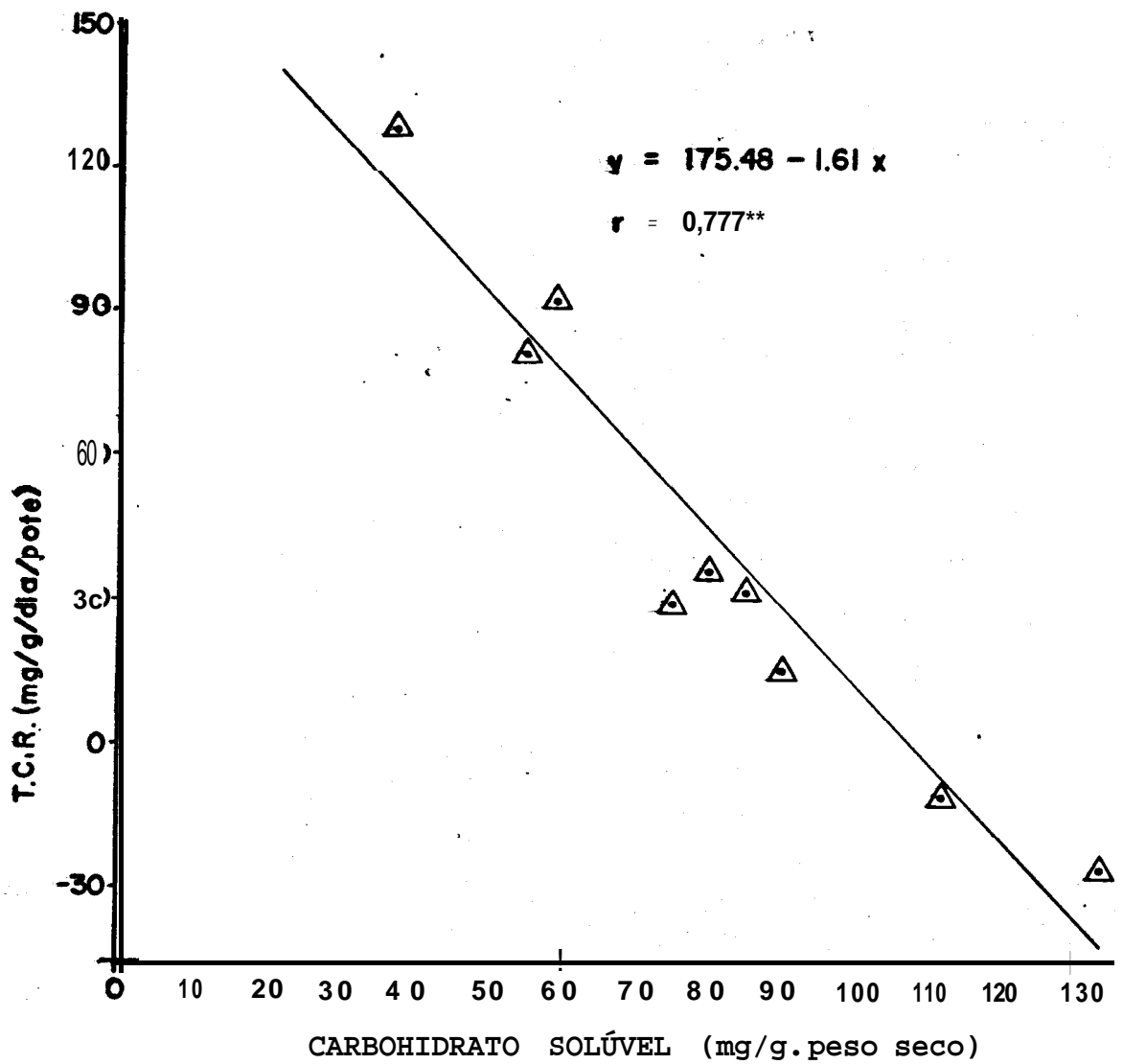


Fig. 10. Relação entre a Taxa de Crescimento Relativa e o teor de carboidrato solúvel.

Tabela 10. Variação Relativa de Diferentes Indicadores de Deficiência Hídrica, em Resposta a Quatro Dias de Dessecação Progressiva do Solo (1)

INDICADOR	DIAS DE <i>STRESS</i>			
	1	2	3	4
Matéria Seca Total	1.01	0.92	0.85	0.76
Área Foliar	0.99	0.94	0.75	0.63
N-Proteico	0.94	0.75	0.65	0.51
N-amônia	1.02	1.04	1.84	2.90
N-Nitrato	1.13	1.38	1.15	1.80
N-Amino Livre	1.51	1.60	3.19	5.04
Prolina	0.83	2.73	11.93	26.74
Atividade de Nitro- to Redutase	1.10	0.68	0.46	0.21
Carboidrato Solú- vel	1.07	1.06	2.97	2.24

(1) Dentro de cada dia, a relação expressa a diferença com respeito ao controle (irrigado). Para termos de comparação, a relação no dia 0 é igual a 1.

2.2. Comportamento Varietal em Resposta à Dessecação Progressiva do Solo.

Conteúdo hídrico relativo

Os conteúdos hídricos foliares das três variedades decresceram de forma diferente em resposta ao *stress* hídrico (Fig. 11).

A variedade Piranão mostrou um C.H.R. que, no final do período experimental, era aproximadamente 10% superior a IPEACS III e 6% superior a Centralmex. IPEACS III mostrou os menores níveis de hidratação relativa, tendo sido extremamente afetado nos primeiros dois dias de *stress*. Centralmex exibiu valores intermediários entre as duas variedades, salvo no primeiro dia, onde seu C.H.R. não diferiu significativamente daquele de Piranão, sendo levemente superior.

O aspecto das plantas diferiu entre as variedades, mas neste experimento tais diferenças não foram quantificadas. contudo, pode-se observar que, após quatro dias de *stress* a variedade IPEACS III mostrou senescência extensiva na primeira e segunda folha basal e as pontas das lâminas foliares estavam "queimadas" na maioria das folhas superiores. A segunda folha superior estava totalmente enrolada, e em algumas plantas danificada mecanicamente (quebramento ao nível da metade superior da nervura central). Piranão apresentou senescência moderada nas folhas basais e sintomas de murchamento nas folhas superiores, mas não apresentou, em geral, "pontas queimadas" nem injú-

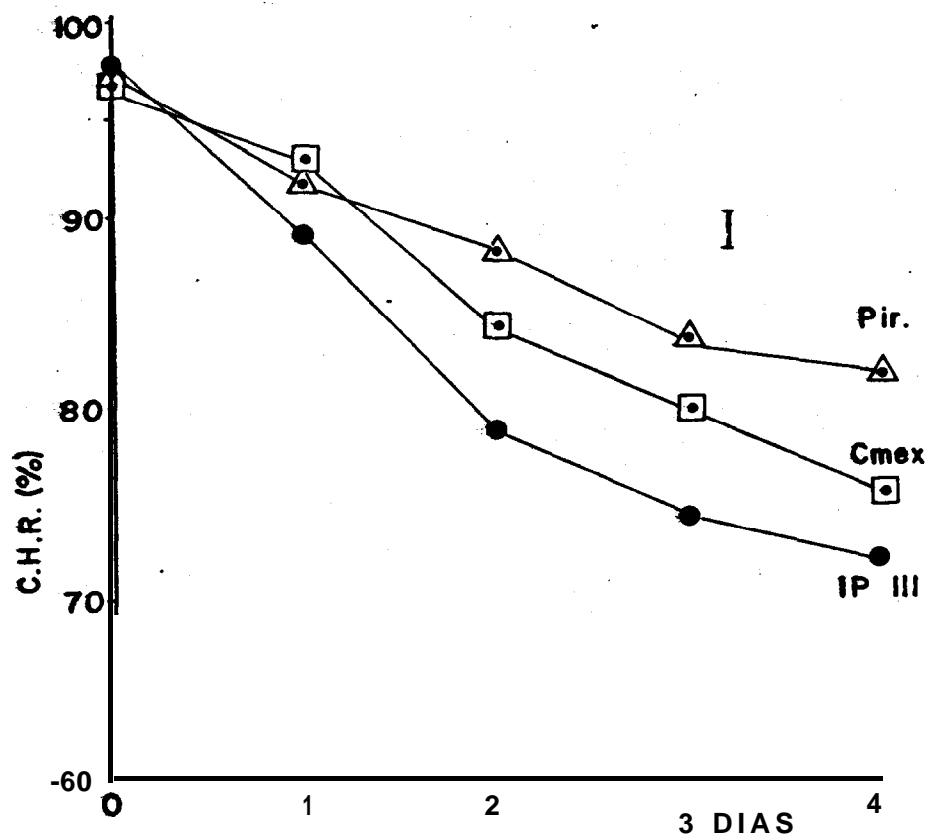


Fig. 11. Conteúdo Hídrico Relativo da segunda folha superior de Três Variedades de Milho, em função dos dias de dessecação progressiva do solo. A linha vertical denota a D.M.S.

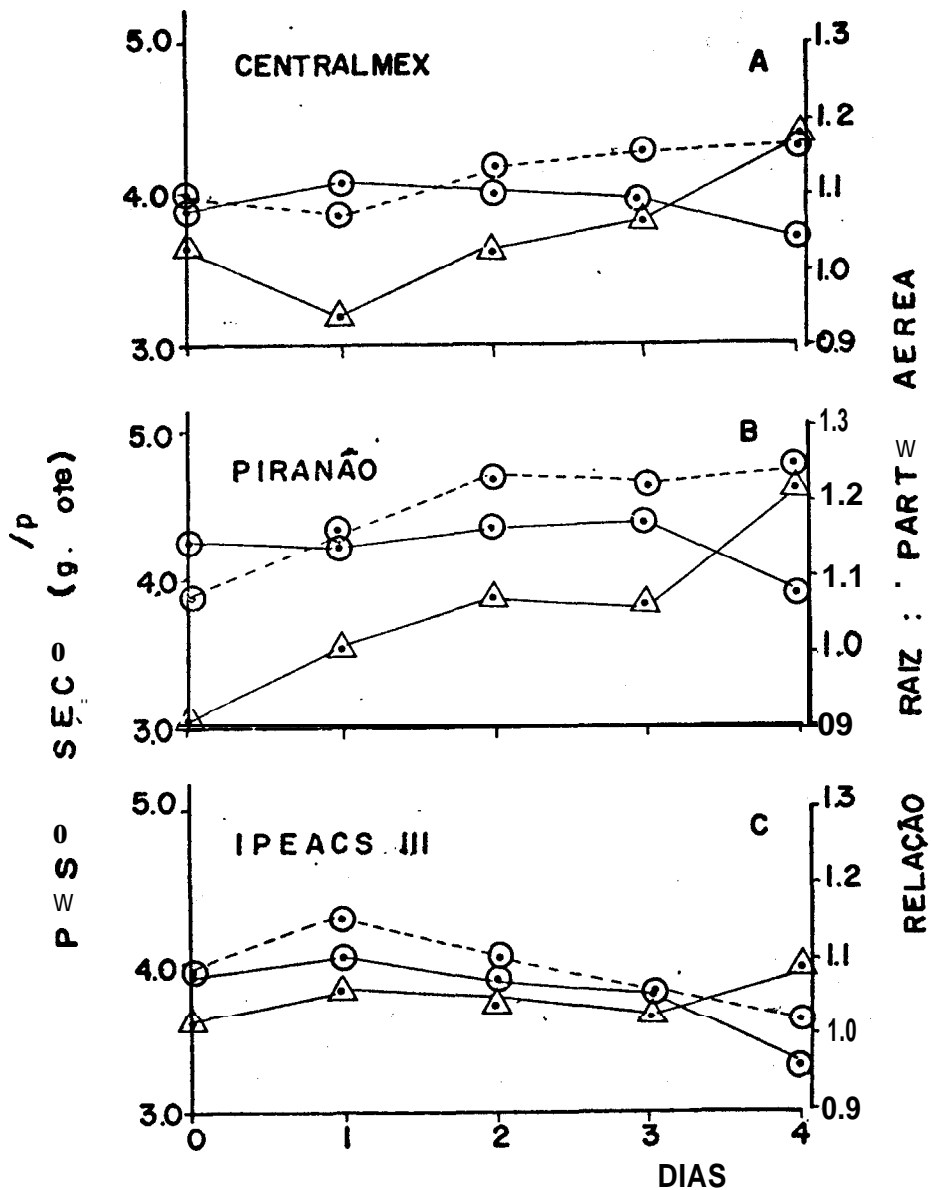


Fig. 12. Variação de Peso Seco de Raiz (○---○); Parte Aérea (○—○), e da Relação Raiz/Parte Aérea (△—△) em função dos dias de dessecação progressiva do solo. DMS: Raiz 0.23; P. Aérea 0.16

ria mecânica. A segunda folha superior tinha os bordos enrolados, mas uma alta proporção da lâmina foliar continuava exposta.

Centralmex não apresentou senescência generalizada nas folhas basais, embora em alguns potes as plantas tivessem uma alta fração da área foliar destas folhas totalmente amarelada. Clorose incipiente de algumas folhas superiores também foi observada e a segunda folha superior mostrou sintomas de murchamento severo.

Matéria Seca e Área Foliar

Na figura 12 são apresentados os dados relativos à variação em matéria seca da raiz, parte aérea e da relação entre ambas, para as três variedades.

Centralmex aumentou o peso da parte aérea durante o primeiro dia de *stress*, manteve este peso relativamente constante e somente diferiu no final do período (Fig. 12A). O peso seco da raiz tendeu a incrementar no mesmo período, e no final resultou 17% superior ao da parte aérea. Piranão também manteve o peso seco da parte aérea praticamente constante durante os primeiros três dias, e decresceu significativamente no último dia (Fig. 12B). O peso seco da raiz sofreu no mesmo período um incremento significativo e aumentou, principalmente, durante os primeiros dois dias, mantendo depois este nível até o final do período. Como consequência desta evolução dos pesos secos, a relação raiz/parte aérea de Piranão passou de 0.93 no dia 0 a

1.22 no quarto dia de stress, isto é, o peso seco da raiz aumentou em 31%. A variedade IPEACS mostrou uma queda em peso seco da parte aérea a partir do segundo dia. Diferenças significativas foram observadas nos últimos dois dias (Fig. 12C). O peso seco da raiz aumentou no começo do período, e depois decresceu significativamente. Contudo, sua queda foi menor do que a da parte aérea e no final do período a relação raiz/parte aérea foi de 1.09. Cabe destacar que, embora as tendências de evolução de matéria seca tenham sido similares para as três variedades, existiram diferenças significativas entre elas.

Assim, o peso seco da parte aérea foi significativamente superior em Piranão com respeito a Centralmex ($P = 0.05$) e IPEACS III ($P = 0.01$). Os mesmos níveis de significação se mantiveram para o peso seco de raiz.

O stress hídrico determinou uma redução na matéria seca total das três variedades (Tabela 11).

Tabela 11. Variação Relativa da Matéria Seca Total em Três Variedades de Milho, em Resposta a Quatro Dias de Dessecação Progressiva do Solo (1)

Dias / Var.	0	1	2	3	4
CENTRALMEX	1.00	1.02	0.98	0.91	0.76
PIRANÃO	1.00	1.02	1.01	0.89	0.81
IPEACS III	1.00	0.98	0.90	0.76	0.68

(1) Em termos relativos, a matéria seca nos controles diários (irrigados) é igual a 1.00.

Das duas determinantes da área foliar total, máximo comprimento e máxima largura, a primeira foi a principal determinante das variações em área foliar nas três variedades. Isto foi comprovado através dos respectivos coeficientes de determinação da regressão linear entre a máxima largura e o máximo comprimento e a área foliar total/planta ($r^2=0.945$ para máximo comprimento e $r^2= 0.530$ para máxima largura, valores médios da regressão entre genótipos).

A variação em máximo comprimento foliar é apresentada na figura 13, onde é expressa como porcentagem dos respectivos controles diários. No final do período experimental; a taxa de alongamento (mm/dia); foi reduzida em 15% em Piranão, 22.5% em Centralmex e 28% em IPEACS III. Esta redução refletiu-se diretamente na área foliar total/pote (Fig.14). Na figura 14, em adição aos valores dos tratamentos de *stress* são mostrados também os valores correspondentes aos respectivos controles diários. Pode-se ver, que a expansão foliar, dentro do grupo controle, foi seriamente afetada por uma pequena queda em hidratação foliar, em média de 4-5% para as três variedades (Fig.11), durante os primeiros dois dias.

No final do período experimental, com níveis de hidratação similares, as plantas do grupo controle diferiram significativamente entre variedades. A área foliar de Centralmex foi superior em aproximadamente 7 e 11%, respectivamente, em relação às áreas de Piranão e IPEACS III. Sob *stress*, esta situação reverteu-se, e no final do período experimental, a área foliar de Piranão foi significativamente superior com respeito a Central

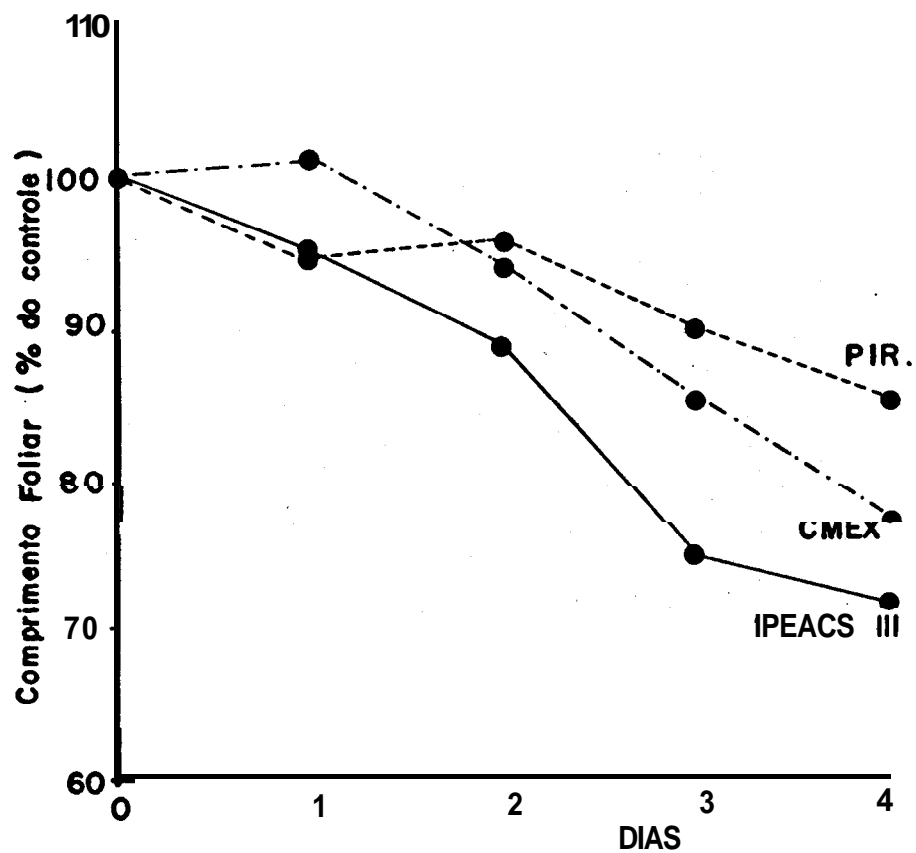


Fig. 13. Variação relativa em comprimento máximo da lâmina da segunda folha superior de Três Variedades de Milho, em função dos dias de dessecação progressiva do solo.

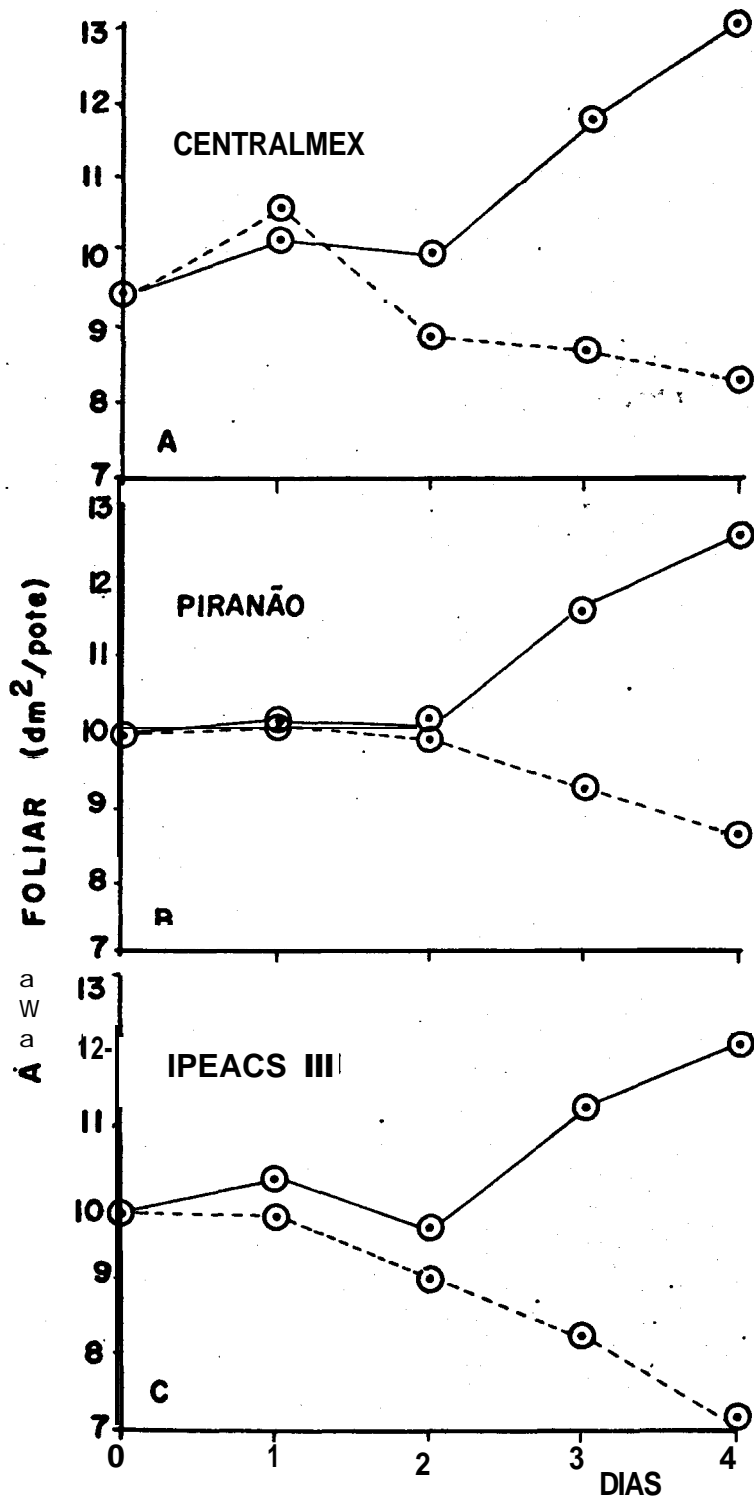


Fig. 14. Variação da Área Foliar em Três Variedades de Milho em função dos dias de dessecação progressiva do solo. DMS = 0.36. A linha inteira corresponde a tratamentos irrigados (controles), a linha pontilhada a tratamentos não irrigados (stress).

mex ($P = 0.05$) e IPEACS III ($P = 0.01$).

Como conseqüência do efeito diferencial do *stress* hídrico entre variedades, sobre a área foliar e peso, seco, os respectivos parâmetros de crescimento e assimilação líquida também diferiram significativamente (Fig. 15). A R.A.F. tendeu a decrescer nas três variedades com o aumento do *stress*.

Piranão mostrou uma R.A.F. superior com respeito as outras duas variedades no final do período, mas, esta diferença atingiu significação somente com respeito a IPEACS III.

Na tabela 12 são apresentados os valores relativos (percentagem dos respectivos controles diários) da R.A.F. para as três variedades.

Tabela 12. Variação de R.A.F. em Três Variedades de Milho, em Função da Dessecação Progressiva do Solo, como Percentagem dos Respectivos Controles Diários (1)

Dias Var.	1	2	3	4
CENTRALMEX	102.3	88.5	82.7	72.9
PIRANÃO	97.6	95.6	87.9	88.3
IPEACS III	95.9	93.5	91.2	81.6

(1) No dia 0 a relação é igual a 100.

Pode-se verificar que, em termos percentuais, Centralmex foi mais afetado que as outras variedades. Isto é decorrente de que esta variedade apresentou uma maior R.A.F. em condi-

ções de irrigação. As R.A.F. médias nos controles foram 1.27 para Centralmex, 1.18 para Piranão e 1.16 para IPEACS III. Piranão mostrou-se superior a IPEACS III, somente no final do período.

Na figura 15 pode ser apreciada a estreita correspondência entre a T.A.L. e a T.C.R. Ambas as linhas somente divergem ligeiramente nos dias 0 e 1 de stress, quando a R.A.F. foi maior, mas, quando esta tendeu a valores em torno da unidade, ambas as linhas praticamente se superpõem. A variação em T.A.L. foi consideravelmente maior que a variação em R.A.F. e, de fato, controlou a T.C.R.

Diferenças significativas em T.A.L. entre as variedades são evidentes na figura 15. A superioridade de Piranão é evidenciada pelo fato de manter uma T.A.L. significativamente superior às outras variedades nos primeiros três dias de stress. No final do período experimental sofreu uma queda brusca, mostrando um valor similar a Centralmex. IPEACS III foi a variedade mais afetada, e já no segundo dia exibiu valor negativo. Centralmex mostrou um comportamento intermediário, e a sua T.A.L. tornou-se negativa após três dias.

As comparações entre as taxas de assimilação em função do tempo de dessecação, estão confundidas pela variação do C.H.R. que foi diferente em cada variedade (Fig.11). Entretanto, comparações para um mesmo nível de C.H.R. podem ser feitas através das respectivas inclinações das linhas de regressão.

Quando são observadas as taxas em situações de stress

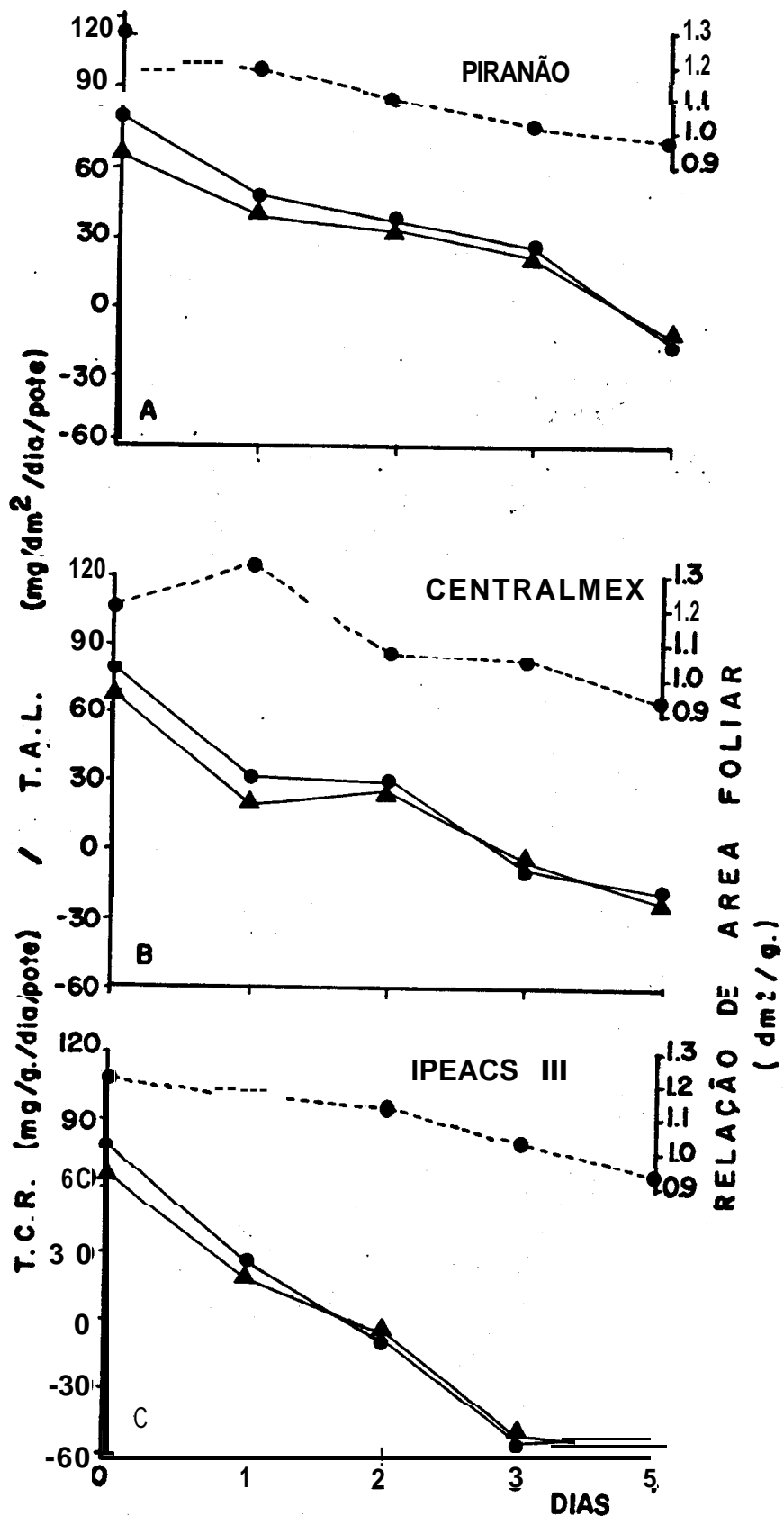


Fig. 15. Variação da T.C.R. (●—●); T.A.L. (▲—▲) e R.A.F. (●--●) de Tres Variedades de Milho, em função dos dias de dessecação progressiva do solo. D.M.S.: R.A.F.= 0.05, T.C.R.= 10 3. T A L.= 7.3.

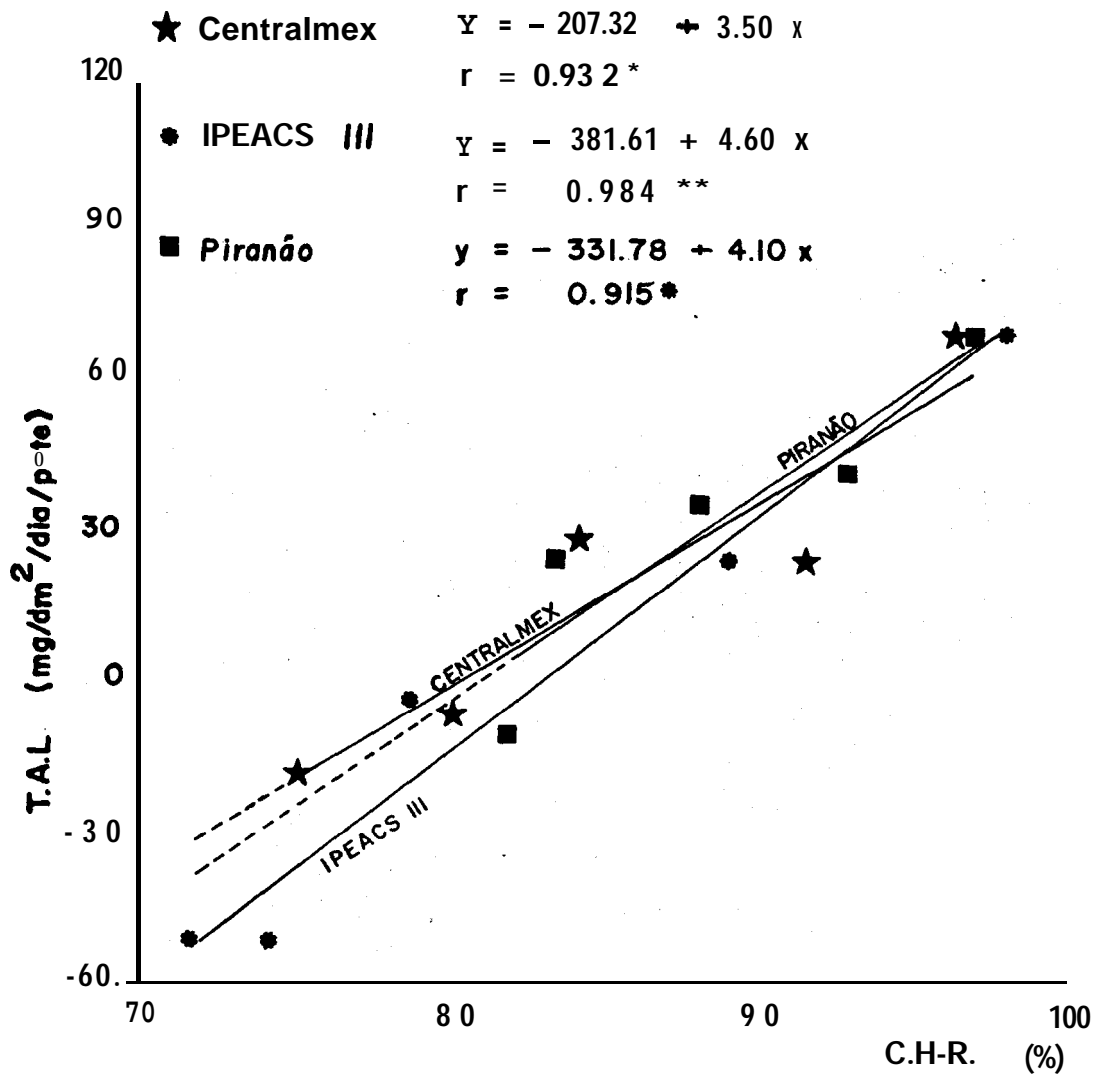


Fig. 16. Relação entre T.A.L. e C.H.R. para Três Variedades de Milho submetidas a dessecação progressiva do solo. As linhas pontilhadas representam a extrapolação das retas a valores mais baixos de C.H.R.

moderado (8-10% de redução em C.H.R.; HSIAO, 1973), tal como o verificado no grupo controle, as tendências de variação são as mostradas na figura 17.

As variações em T.C.R. mostradas na figura 16, são uma decorrência das variações já comentadas em T.A.L. e R.A.F.

Atividade de Nitrato Reductase

A variação em atividade de NRase nas três variedades de milho, é mostrada na figura 18. Piranão mostrou o nível maior de atividade no final do período, aproximadamente, três vezes superior ao de Centralmex e IPEACS III. Quando os níveis absolutos são comparados com os registrados nos mesmos dias nos potes irrigados, surgem os valores apresentados na tabela 13.

Tabela 13. Variação Relativa da Atividade da Nitrato-Reductase, em Três Variedades de Milho, em Respostaa Quatro Dias de Dessecação Progressiva do Solo (1)

Dias / Var.	0	1	2	3	4
CENTRALMEX	1.00	1.00	0.79	0.36	0.10
PIRANÃO	1.00	1.05	0.69	0.62	0.38
IPEACS III	1.00	1.15	0.68	0.46	0.21

(1)

Em termos relativos, a atividade de NRase nos controles diários (irrigados) é igual e 1.00

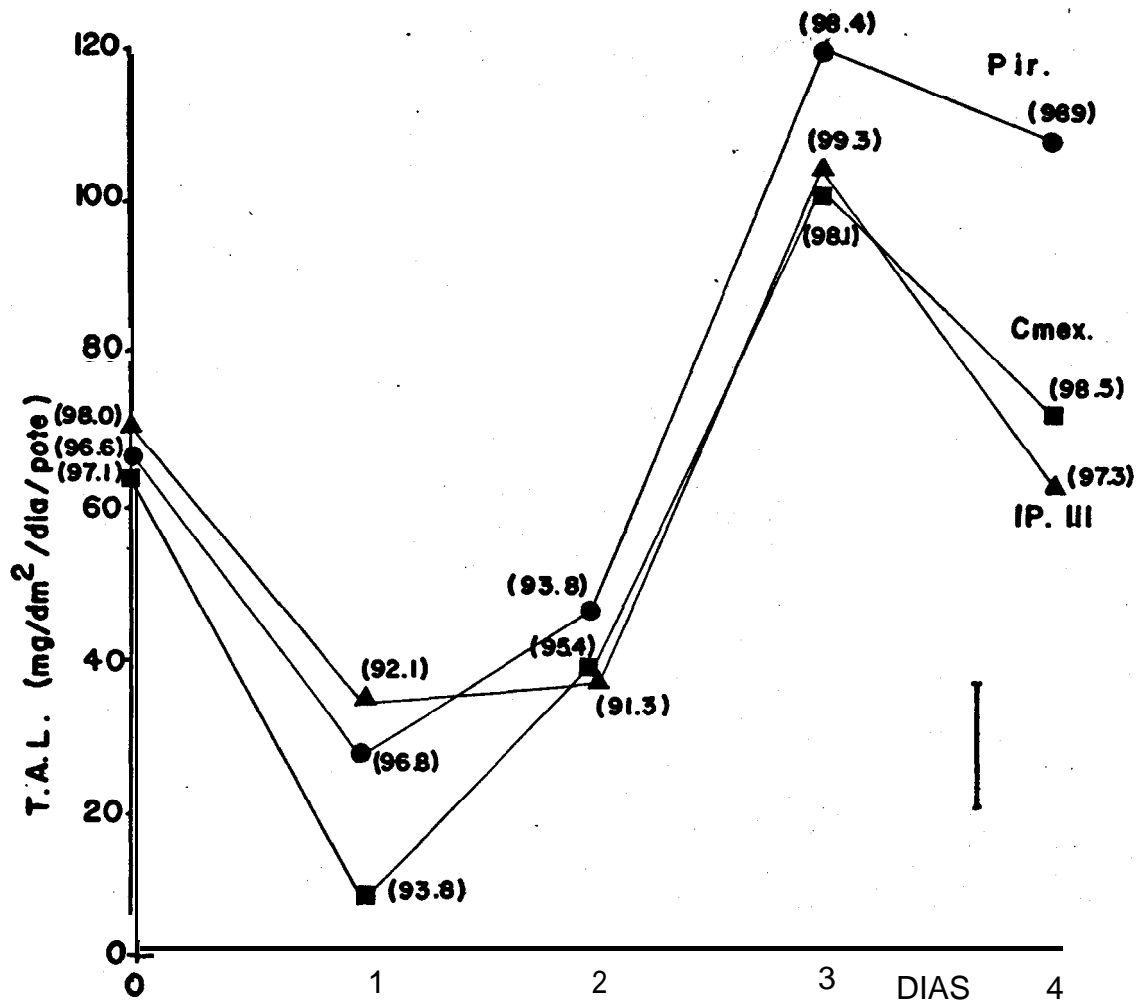


Fig. 17. Variação de T.A.L. em Três Variedades de Milho. Os valores correspondem aos potes irrigados, que funcionaram como controles daqueles mostrados na figura 15. Os números entre parênteses acima de cada ponto indicam os valores de C.H.R. no momento da amostragem. A linha vertical indica a D.M.S.

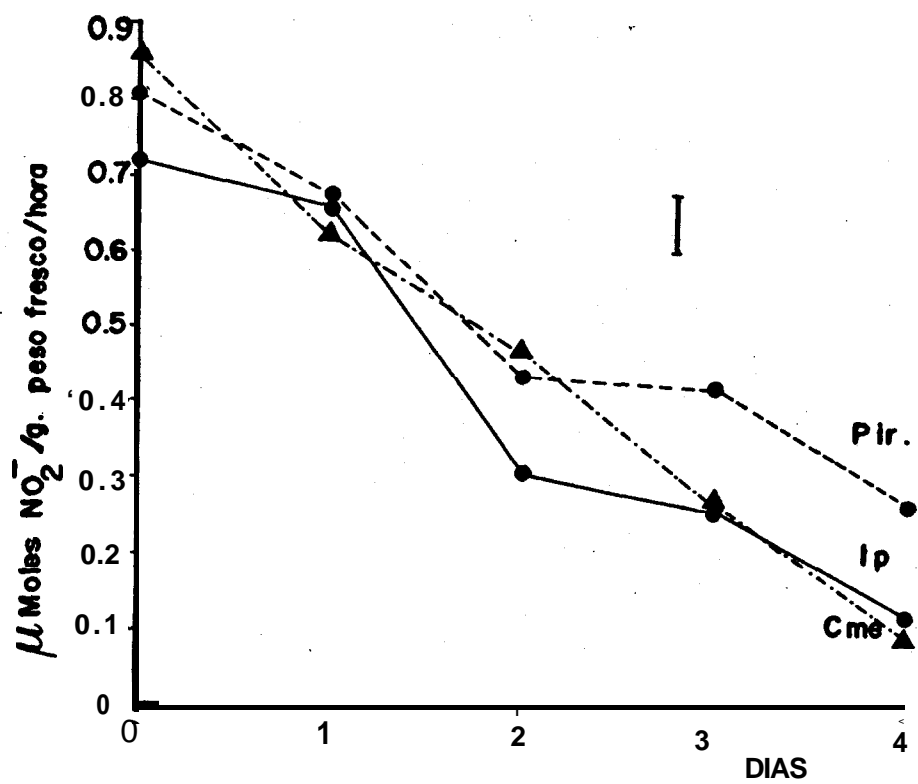


Fig. 18. Variação da Atividade de NRase em função dos dias de dessecação progressiva do solo, em Três Variedades de Milho. A linha vertical indica a D.M.S.

Pode-se ver que, no primeiro dia, os valores para as variedades Piranão e IPEACS III aumentaram. Isto significa que, o stress ambiental deprimiu mais os níveis de atividade de NRa se nos potes controles que nos submetidos ao stress hídrico. Contudo, as diferenças devidas a este efeito, somente foram significativas para IPEACS III. A partir do segundo dia, o efeito dominante da dessecação determinou uma queda progressiva na NRase nas três variedades. No final do período, Centralmex teve uma redução de 90%, em atividade de NRase, Piranão em aproximadamente 60% e IPEACS III em 80%. O maior percentual de redução em Centralmex é conseqüência do maior nível de atividade nos potes controles.

N-Amoniacal

A tabela 14 apresenta os teores de N-amoniaco registrados nas três variedades durante o período experimental.

Houve diferenças significativas nos respectivos teores. Centralmex aumentou, de forma significativa, após dois dias de deficiência hídrica e, no quarto dia continha, aproximadamente, 3.2 vezes mais amônia que no dia 0. O teor de amônia em Piranão incrementou após três dias, e no quarto dia continha, aproximadamente, 2.6 vezes mais amônia que no dia 0. IPEACS III foi a variedade que acumulou mais amônia durante o período experimental. No final do período, seu teor resultou 3.5 vezes mais elevado que o correspondente ao dia 0. Centralmex e IPEACS III tiveram um conteúdo 28.5 e 41.4% respectivamente; superior a Piranão no final do período.

N-Amino Livre

Os teores de N-amino são apresentados na tabela 14. Diferenças significativas são evidentes depois de um dia de *stress* nas três variedades, evidenciando-se assim a sensibilidade deste indicador. Centralmex mostrou um maior nível de acumulação ao final do período experimental. Os seus teores sempre foram superiores aos de Piranão, e ligeiramente inferiores aos de IPEACS III durante os primeiros três dias. Contudo, no final do período o teor IPEACS III sofreu um incremento brusco, e seu teor final resultou significativamente superior às outras variedades. Piranão incrementou no primeiro dia, estabilizou seu teor no segundo dia para finalmente incrementar novamente, mas à taxas inferiores às das outras variedades.

N-Nítrico

O teor de nitrato mostrou uma tendência de resposta menos definida que os outros componentes do *pool* de N-solúvel (Tabela 14). Em Centralmex, o teor de nitrato incrementou significativamente após um dia de *stress* hídrico, manteve relativamente constante esse nível até o terceiro dia, para finalmente incrementar novamente no final.

O teor de Piranão sofreu maiores variações, incrementou significativamente durante os primeiros dois dias, depois caiu para novamente incrementar no último dia. IPEACS III incrementou seu nível de nitrato após um dia de *stress* e manteve

este nível com ligeiras flutuações até o final do período experimental. Seu nível absoluto de acumulação foi significativamente inferior ao mostrado pelas outras duas variedades.

Tabela 14. Variação, dos teores de N-Nítrico, N-Amoniacal e N-Amino Livre em Função da Dessecação Progressiva do Solo, em Três Variedades de Milho.

Dias Var.	0	1	2	3	4	D.M.S.
	N- NO ₃ ⁻ (μ moles/g.peso seco)					
CENTRALMEX	20.31	36.49	34.54	35.99	41.17	
PIRANÃO	23.13	28.08	41.53	35.48	45.46	4.02
IPEACS III	21.79	31.87	32.34	28.86	31.37	
N- NH ₄ ⁺ (μ moles/g.peso seco)						
CENTRALMEX	27.32	29.08	37.15	64.07	87.82	
PIRANÃO	25.95	29.59	30.07	44.12	68.32	7.29
IPEACS III	27.70	34.42	37.76	62.87	96.81	
N-AMINO (μ moles/g.peso seco)						
CENTRALMEX	57.77	87.58	144.38	218.83	342.35	
PIRANÃO	58.34	89.39	87.85	170.45	247.55	13.07
IPEACS III	70.21	103.12	156.12	242.61	304.49	

Prolina

Os teores de prolina aumentaram grandemente nas três variedades. O padrão de resposta foi similar, mas os níveis

de acumulação diferiram entre variedades (Tabela 15).

Durante os primeiros dois dias de stress não foram notadas diferenças significativas entre as variedades. Dentro de variedade, notou-se que o teor de prolina após este período foi significativamente superior para Centralmex e IPEACS III mas não para Piranão. No terceiro e quarto dias, as três variedades acumularam prolina em altos teores. No final do período, Piranão mostrou uma ligeira superioridade sobre IPEACS III. Ambas as variedades, por sua vez, mostraram diferenças altamente significativas com respeito a Centralmex, que apresentou os menores teores de acumulação.

Tabela 15. Variação do Teor de Prolina Livre em Três Variedades de Milho, em Função da Dessecação Progressiva do Solo.

Dias Var.	μ moles/g.peso seco				
	0	1	2	3	4
CENTRALMEX	1.97	1.83	5.83	18.05	30.31
PIRANÃO	1.56	2.66	3.99	24.26	48.90
IPEACS III	2.38	2.01	6.52	24.95	45.62
D.M.S. =	2.69				

Plotando-se, entretanto, os valores de prolina em função do C. H.R. (Fig. 19), verifica-se uma clara tendência exponencial nas respectivas curvas. Como as curvas não foram normalizadas estatisticamente, não é possível determinar com precisão o ponto

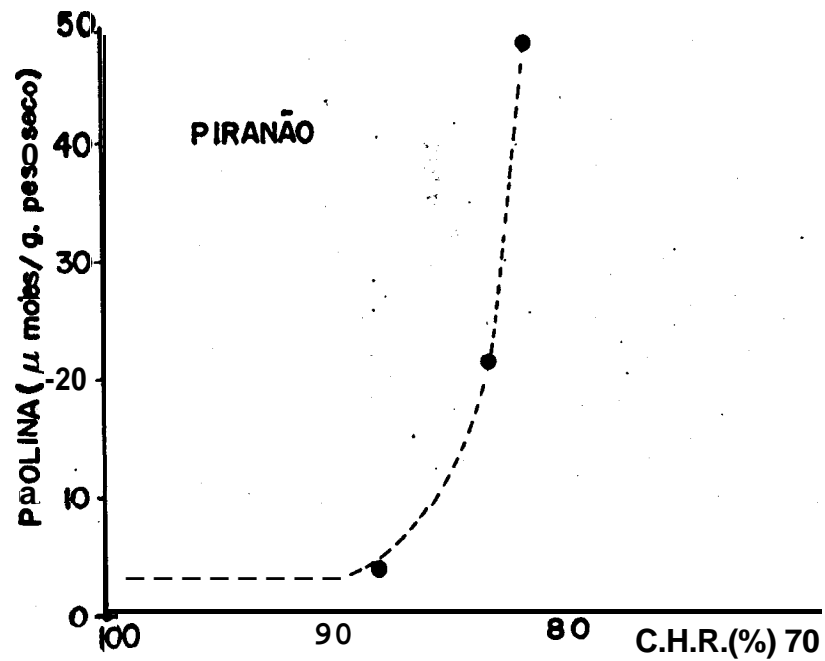
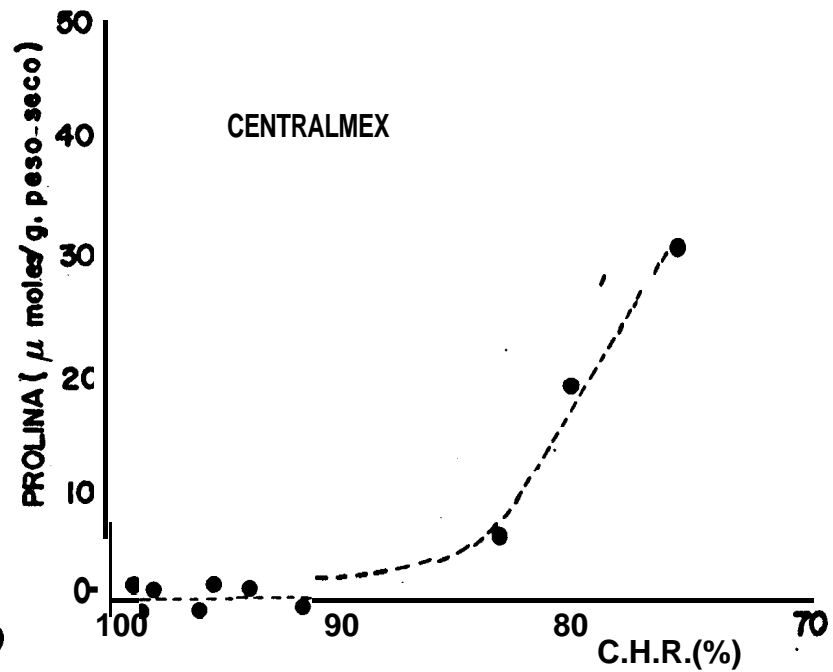
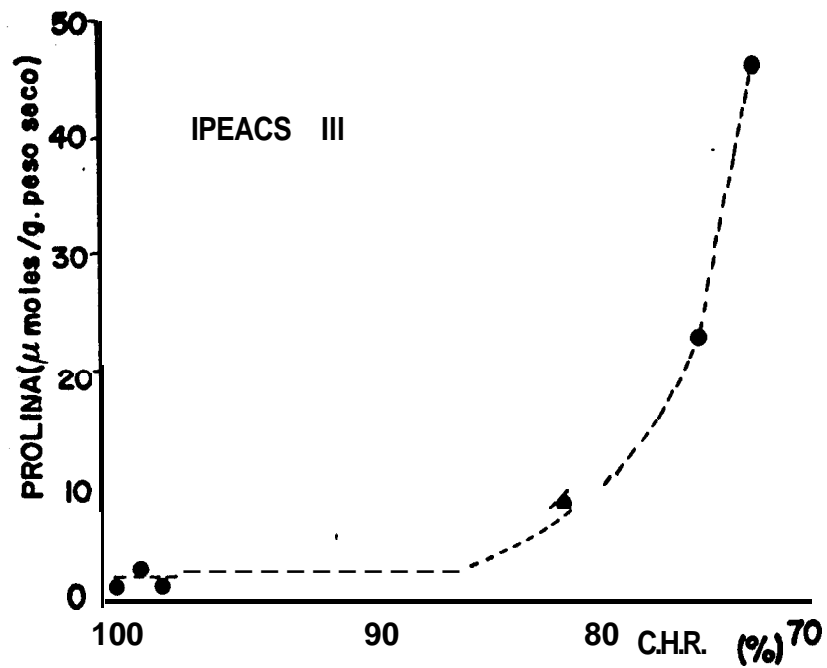


Fig. 19. Variação do Teor de Prolina em Três Variedades de Milho em função do conteúdo hídrico relativo.

de inflexão de cada uma.

N-Proteico

O teor de N-proteico das três variedades sob condições de *stress* é mostrado na tabela 16. Na tabela 17, as variedades são avaliadas em termos de seus índices relativos com respeito aos controles diários.

Tabela 16. Variação do Teor de N-Proteico em Três Variedades de Milho, em Função da Dessecação Progressiva do Solo.

Dias Var.	N-Proteico - % de Peso Seco				
	0	1	2	3	4
CENTRALMEX	2.02	1.93	1.67	1.19	1.01
PIRANÃO	1.83	1.68	1.56	1.48	1.38
IPEACS III	2.25	2.11	1.35	1.27	0.76
D.M.S. =	0.06				

Tabela 17. Variação Relativa do Teor de N-Proteico em Três Variedades de Milho, em Resposta a Quatro Dias de Dessecação Progressiva do Solo (1).

Dias Var.	1	2	3	4
CENTRALMEX	0.98	0.97	0.63	0.52
PIRANA0	0.96	0.91	0.80	0.74
IPEACS III	0.96	0.86	0.74	0.43

(1)

Em termos relativos, o teor de N-proteico nos controles diários (irrigados) é igual a 1.00

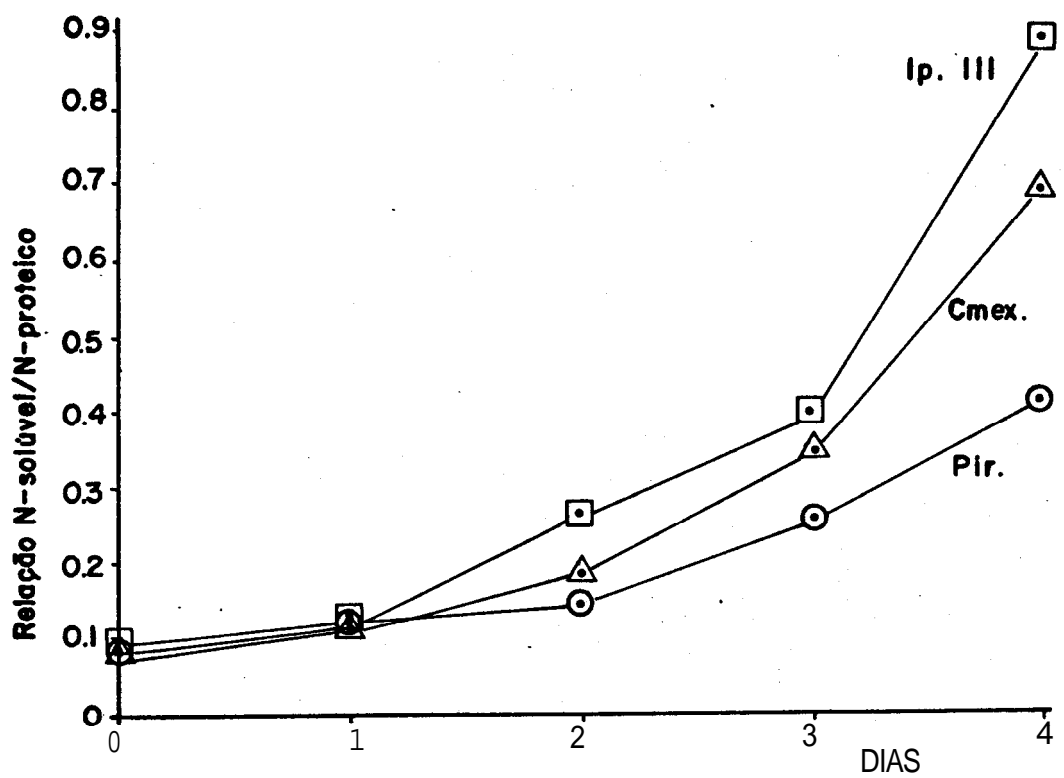


Fig. 20. Variação da Relação N-solúvel/N-Proteico em Três Variedades de Milho, em resposta a Quatro Dias de Dessecação progressiva do Solo.

Como conseqüência das variações sofridas pelo *pool* de N-solúvel e de N-proteico, a relação entre ambas as formas de N tendeu a crescer nas três variedades, em resposta aos efeitos de stress hídrico (Fig. 20).

Carbohidrato solúvel

Os teores de carbohidrato solúvel determinados nas três variedades, em resposta a quatro dias de *stress* hídrico, são mostrados na tabela 18.

Tabela 18. Variação do Teor de Carbohidrato Solúvel em Três Variedades de Milho, em Resposta a Quatro Dias de Dessecação Progressiva do Solo.

Dias / Var.	mg/g. peso seco				
	0	1	2	3	4
CENTRALMEX	55.97	78.97	94.10	106.98	133.39
PIRANÃO	61.58	94.11	105.55	135.94	168.37
IPEACS III	51.97	64.77	72.28	95.05	99.07
D.M.S. =	16.94				

A tabela 18 indica claramente que, como esperado, nas três variedades houve um aumento de carbohidrato solúvel com o aumento do *stress*. Esta acumulação teve significação diferente para cada variedade.

Com respeito aos valores absolutos, pode se ver que,

os teores começam a diferir no segundo dia, quando IPEACS III mostrou um nível significativamente inferior a Piranão e Centralmex, variedades estas que não diferiam entre si. No terceiro dia, porém, o teor em IPEACS III incrementou-se mais do que aquele de Centralmex, e entre ambas as variedades, praticamente não existiram diferenças. Ambas as variedades, por sua vez, continham menos carboidrato que Piranão, sendo a diferença altamente significativa. Finalmente, no último dia, Piranão continuou a acumular carboidratos a alto nível, IPEACS III praticamente estabilizou o seu teor e Centralmex exibiu um teor intermediário entre ambas as variedades.

Na figura 21 é mostrada a variação do teor de carboidrato solúvel nos potes controles.

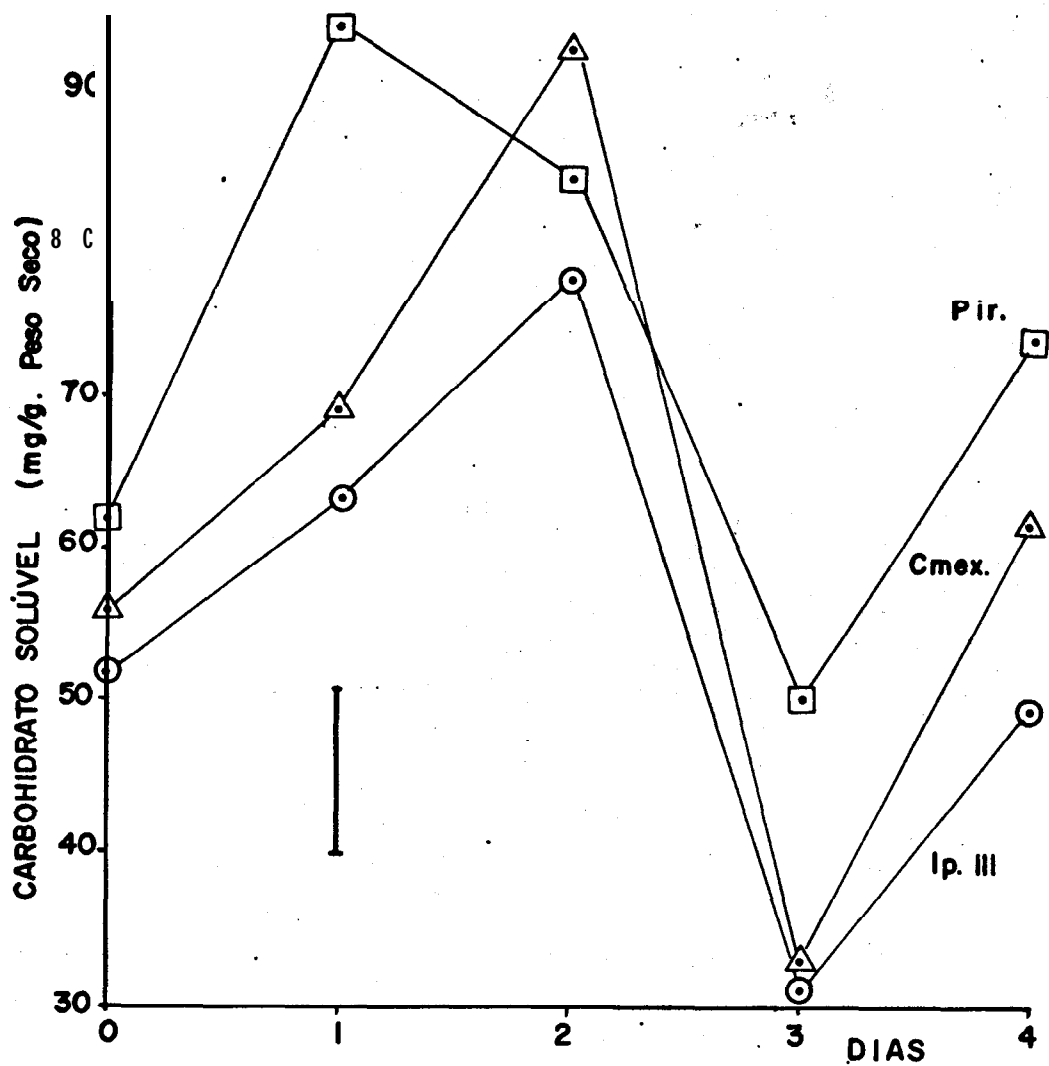


Fig. 21. Variação do Teor de Carbohidrato Solúvel em Três Variedades de Milho. Os valores correspondem aos controles diários (irrigados), daqueles mostrados na tabela 17. A linha vertical indica a D.M.S.

V. DISCUSSÃO

Teste de Germinação

A capacidade metabólica da semente germinante está largamente determinada pela quantidade de reservas acumuladas. Os dois principais componentes da semente, embrião e endospermo, determinam o potencial básico de resposta durante a germinação (WRIGHT, 1971). O peso da semente é uma característica que reflete, pelo menos em milho, a quantidade de reservas nutritivas (largamente representadas pelo endospermo), disponíveis durante a germinação e o crescimento inicial (COOPER e MacDONALD, 1970).

A tabela 3 mostra que, neste experimento, Centralmex teve uma maior percentagem de germinação final (7 dias), e também uma maior taxa de germinação durante os primeiros cinco dias. Tanto Piranhã quanto IPEACS III, tiveram a sua germinação consideravelmente retardada com relação a Centralmex, desde que somente após cinco dias estas variedades conseguiram um incremento substancial no percentual de germinação.

Numa primeira análise, as diferenças no comportamento poderiam refletir simplesmente diferenças em reservas energéticas nas respectivas sementes. PARMAR e MOORE. (1968), demonstraram, usando dois grupos de sementes classificados como de alta e baixa energia (vigor), que as diferenças em taxas de germinação entre ambos os grupos, em resposta a incrementos de pressão osmótica induzidos por vários *osmoticum*, foi explicada pelo vigor superior do grupo de sementes de alta energia. Entretanto, no presente experimento, tal explicação parece não dar conta totalmente das diferenças observadas. Com efeito, a pesagem repetida de amostras de 100 sementes para cada uma das variedades, indicou valores médios de 36.11 g para Centralmex, 37.16 g para Piranão e 25.06 g para IPEACS III. As diferenças em peso de sementes poderiam explicar a inferioridade de IPEACS III com respeito às outras variedades, mas, obviamente, este fator não explica as diferenças observadas entre Piranão e Centralmex.

Deve ser destacado que, quando as variedades foram germinadas em água pura, não foram registradas diferenças de comportamento. Portanto, fatores como a idade das sementes, ou inibidores de germinação, podem ser excluídos como causas das diferenças observadas sob *stress* osmótico.

Uma explicação alternativa envolve necessariamente a natureza do *osmoticum* utilizado para promover o abaixamento do potencial hídrico. Existe considerável discrepância na literatura no que tange à capacidade do manitol como *osmoticum*, para promover efeitos outros que o simples decréscimo na atividade

de água do sistema. JACKSON (1965, citado por PARMAR e MOORE, 1968) observou que o manitol é absorvido e metabolizado rapidamente. Contrastantemente, GREENWAY e LEAHY (1970) demonstraram, usando plântulas de milho, que o manitol é um soluto de baixa permeabilidade, isto é, penetra lentamente quando comparado com etileno-glicol, outro soluto largamente utilizado em testes de simulação de deficiência hídrica. Como conseqüência disto, a rápida penetração deste último *osmoticum* poderia minimizar as perdas em turgência e evitar largamente a plasmólise. De fato, no seu experimento, estes autores constataram que após a transferência das plântulas a um meio de alto potencial hídrico, aquelas que previamente tinham sido expostas ao etileno-glicol, mostraram maiores taxas de alongamento radicular que as previamente expostas ao manitol. O mesmo tipo de resultado foi observado por MICHEL (1970), trabalhando com hipocotilo de *Cucumis sativus* L. Diferenças intervarietais em susceptibilidade aos efeitos osmóticos de manitol foram demonstrados em alfafa (YOUNIS et al., 1963); açafraão (*Carthamus tinctorius* L., BASSIRI et al., 1977) feijão (MACHADO et al., 1976) e milho (WILLIAMS et al., 1967). Se, como demonstrado por vários autores, o manitol é um soluto que efetivamente penetra nos tecidos e se existem diferenças de respostas entre variedades, deve ser concluído que a velocidade de penetração deve estar sujeita a controle genotípico. Aquelas variedades capazes de transportar manitol para dentro dos tecidos a uma taxa maior poderiam ter maiores chances de compensar-se osmoticamente e reduzir os efeitos destrimentais do stress hídrico. Isto implicaria numa maior capa-

cidade de osmorregulação, no sentido definido por CRAM (1976), HSIAO et al. (1967a e b) e GREENWAL e LEAHY (1970). Esta capacidade diferencial entre variedades poderia ser uma explicação para as diferenças observadas no presente experimento. Deve ser salientado, entretanto, que nas condições deste experimento, esta é somente uma hipótese de interpretação, não tendo sido estudados outros parâmetros que pudessem validá-la.

A tabela 3 mostra também que em geral, o alongamento de raiz foi menos afetado pelo efeito do potencial osmótico do que o coleoptilo. Isto concorda com observações anteriores (PARMAR e MOORE, 1968; BASSIRI et al., 1977) e sugere um comportamento diferencial das distintas porções vegetativas quando submetidas ao stress osmótico. PARMAR e MOORE (1968) atribuíram este efeito a uma maior dependência das reservas nutritivas seminais. Então, poder-se-ia pensar que, nos estágios iniciais de crescimento, uma maior fração de carboidratos é mobilizada à radícula alongante, promovendo um menor crescimento relativo na parte aérea. Isto parece ocorrer tanto em condições de alto potencial hídrico (controles) quanto em condições de baixo potencial hídrico, como pode ser inferido pelas respectivas relações coleóptilo/raiz mostradas pelas três variedades no presente trabalho. Relações parte aérea/raiz similares as observadas aqui, foram encontradas por COOPER e MacDONALD (1970) em plântulas desenvolvidas em água livre de sais. Este efeito de aumento relativo da raiz, sob condições de stress hídrico pode ser de considerável valor para a plântula alongante. Com efeito, as reservas nutricionais do endospermo podem sustentar

a germinação e o crescimento inicial da plântula durante os primeiros seis dias (WRIGHT, 1971).

Em milho, COOPER e MacDONALD (1970) determinaram que a contribuição da fotossíntese a partir do estágio de segunda folha desenvolvida tornou o balanço de CO_2 positivo, após dez dias. Na plântula, o suprimento energético da raiz é assegurado pelo endospermo, mesmo depois de começar alguma fixação de CO_2 pela parte aérea (COOPER e MacDONALD, 1970). Mas, se o endospermo é removido, uma fração maior de CO_2 fixado é exportado às raízes (COOPER e MacDONALD, 1970). Portanto, um maior suprimento de energia para as raízes sob condições de stress hídrico poderia assegurar uma mais rápida promoção do sistema radicular, e uma maior penetração no solo, possibilitando a exploração de camadas com maiores conteúdos de umidade. Esta tendência a incrementar a relação raiz/parte aérea em resposta ao stress hídrico (ou diminuir a relação inversa) tem sido observada em plantas em distintos estágios de desenvolvimento (RICHARDS e WADLEIGH; 1952; LARSON, 1975; HURD, 1976; HSIAO et al., 1976b; LUTLER e RAINS, 1977; NOUR e WEIBEL, 1978).

Independentemente da discussão das possíveis razões causais das diferenças observadas no teste, um outro aspecto, mais relevante do ponto de vista do presente trabalho, é a consideração da validade intrínseca do teste para predizer a resistência diferencial aos efeitos do baixo potencial hídrico. WILLIAMS et al. (1967) observaram que a resposta à germinação de diversas variedades de milho a um ψ_s de - 15 atm. (com emprego de manitol) correspondeu com a resposta obtida ao deficit

hídrico, em condições de campo. Contudo, eles foram cautelosos na interpretação dos resultados, e destacaram que outros métodos também poderiam ser de utilidade na seleção de um grande número de genótipos para resistência à seca. Embora não expresso, isto é equivalente a reconhecer o carácter empírico do teste. Resultados anteriores e posteriores a esta comunicação (McGINNIES, 1960 ; SHARMA, 1973) tinham alertado para a impossibilidade de predizer à conduta de plantas adultas em função dos resultados de testes de germinação em manitol. Vários investigadores têm reconhecido que a extrapolação do teste para condições de campo, envolve consideráveis riscos (PARMAR e MOORE, 1968; WRIGHT, 1971; HILLEL, 1972; SHARMA, 1973). Entretanto, alguns pesquisadores têm postulado a utilidade do teste para predizer a facilidade de germinação sob condições hídricas adversas, independentemente da maior ou menor capacidade de resistir à seca em outros estágios de desenvolvimento (SHARMA; 1973). Porém, mesmo esta consideração mais conservadora, está sujeita a críticas. O problema básico a ser respondido é o seguinte: "AS sementes respondem da mesma forma aos efeitos osmóticos ou mátricos do potencial hídrico do solo" ? (HILLEL, 1972).

RICHARDS e WADLEIGH (1952) raciocinaram que, como o potencial osmótico causa reduções na pressão de vapor (e mudanças em outras propriedades coligativas da solução), idênticas àquelas causadas por um potencial mátrico numericamente equivalente, então os dois potenciais deveriam afetar a absorção de água e o crescimento de modos similares. Segue-se, a partir desta conceituação, a hipótese de que seria pertinente simular

os efeitos de um potencial matricial (usualmente o determinante em condições de campo) a partir de uma concentração de soluto equivalente, independente da natureza do mesmo. Como HILLEL (1972) destacou, numerosas evidências experimentais demonstram que esta hipótese não é correta. Baseado no nível de conhecimento atualmente disponível, é fácil raciocinar que, tanto íons como moléculas de baixo peso molecular, são ativas ou passivamente absorvidos pelo plasmalema e que isto determina drásticas alterações no ambiente intracelular. Por exemplo, GREENWAY e LEAHY (1970) detectaram que aproximadamente 15% da respiração medida em plântulas submetidas a *stress* osmótico poderia ser explicada pelo metabolismo do manitol, o soluto empregado para a indução do *stress*. Efeitos outros que os implicam abaixamento do potencial hídrico, têm sido atribuídos ao NaCl e polietileno-glicol, presumivelmente a causa de que sua penetração produz efeitos tóxicos nos tecidos (MICHEL, 1970; SHARMA, 1973; PARMAR e MOORE, 1968; MACHADO et al., 1976; BASSIRI et al., 1977).

Por outra parte, deve ser levado em consideração que, como destacou HILLEL (1972), os testes de germinação envolvem condições intrinsecamente irreais. Por exemplo, num teste de germinação são tomadas precauções especiais para favorecer uma ampla superfície de contato entre semente e água, tal como no presente experimento (ver Material e Métodos). Esta "simulação" de ambiente de campo é totalmente artificial. Normalmente, conforme a sucção mátrica incrementa, o "menisco" de água em torno da semente tende a retrair-se e reduz a superfície

de contato da semente com a água (HILLEL, 1972). Portanto, o melhoramento da área interfacial semente-água nos testes, conduz a um incremento de embebição de água e facilita a germinação. Isto pode não ser um processo operativo em condições de campo (HILLEL, 1972).

Da discussão anterior, pode-se destacar algumas conclusões principais:

1) Os resultados obtidos no presente experimento podem ser diferentes se o mesmo nível de potencial osmótico (-15 atm) for obtido por emprego de outros osmoticum. 2) Se a intenção é obter informação aplicável em condições de campo, os resultados devem ser interpretados com cautela, em vista da "artificialidade" da simulação em condições de laboratório. Então, as possíveis correlações com resistência à seca em campo devem ser casuísticas, e isto *per se*, limita seriamente a aplicabilidade do teste na seleção de material adaptável a deficiência hídrica. 3) Considerando estritamente o desenvolvimento das plântulas em resposta a *stress* hídrico causado pela adição de solutos ao meio, deve ser levada em consideração a natureza da partição de reservas energéticas entre raiz e parte aérea. Desde que existem evidências de que esta partição de energia favorece à raiz, sob condições de *stress* hídrico, os distintos osmoticum a serem empregados deveriam ser avaliados levando em consideração esta questão. Mas, precisamente, se um dado osmoticum deprime mais a taxa de crescimento da raiz do que da parte aérea, deveria ser suspeitado a priori, que ele produz efeitos outros sobre o crescimento

da plântula, distintos dos simplesmente decorrentes do abaixamento do potencial hídrico. Um exemplo marcante desta situação são os dados de MACHADO et al. (1976) com NaCl, em plantas de feijão.

Resposta a Dessecação Progressiva do Solo

Condições Ambientais

A tabela 4 mostra que durante o período experimental houve uma brusca elevação da demanda evapotranspirativa durante os primeiros dois dias do experimento. A evapotranspiração é largamente uma função da temperatura e radiação global (WINTER, 1974) e na tabela 4 pode ser visto que as flutuações em evapotranspiração seguem estreitamente a variação desses parâmetros ambientais. Portanto, no presente experimento, em adição aos efeitos diretos do *stress* hídrico, uma parte das respostas observadas deve ter sido influenciada por efeitos de *stress* térmico. Poderia ser argumentado que estas flutuações de temperatura se expressaram sobre todos os tratamentos e variedades, e portanto, poderia ser tomado como um fator que afetou homogeneamente o quadro experimental. Entretanto, muitos trabalhos têm mostrado que o *stress* térmico induz alterações específicas, independentes de qualquer mudança no conteúdo hídrico do sistema de que se trata (LEVITT, 1972). Desde que existe variação intergenotípica para resistência a altas temperaturas (LEVITT, 1972), seria possível que frente a uma mesma variação de temperatura do ar, as variedades aqui comparadas pudessem responder diferencialmente. Por outro lado, tem-se desta-

cado que o *stress* térmico e hídrico podem ser discutidos sobre uma base citoplasmática comum (PARKER, 1972; LEVITT, 1972) e que, em virtude disto, existe uma associação entre resistência à seca e resistência à altas temperaturas (PARKER, 1972, LEVITT, 1972). Se isto for assim, o efeito da elevação de temperatura poderia atuar reforçando os efeitos diretos da desidratação, e não de forma independente. Em todo o caso, a maior ou menor relevância deste efeito, depende dos objetivos básicos da pesquisa. Neste trabalho, o principal é a avaliação da eficiência de distintos indicadores metabólicos com relação a *stress* hídrico e resistência à seca. No campo, salvo raras exceções, o *stress* hídrico se processa num quadro ambiental dominado por altas temperaturas, radiação e deficit de saturação atmosférica (LEVITT, 1972, HSIAO e ACEVEDO, 1974; BOYER e McPHERSON, 1975).

As elevadas taxas de evapotranspiração iniciais determinaram uma queda brusca no conteúdo hídrico do sistema solo-planta (Fig. 1). Então, o *stress* processou-se rapidamente, e após quatro dias, houve uma redução de quase 30% em C.H.R., na variedade IPEACS III, que foi a mais afetada (Fig. 11).

O emprego de potes de tamanho relativamente reduzido, também é um fator a ser considerado. É óbvio que, o conteúdo hídrico volumétrico dos potes depende do volume de solo utilizado. As raízes, impedidas de desenvolverem-se em profundidade, tendem a ocupar todo o volume e formam um sistema altamente eficiente que esgotará rapidamente o conteúdo hídrico do solo

Matéria Seca

O *stress* hídrico resultou em decréscimo da matéria seca total das plantas, segundo as percentagens apresentadas na tabela 10. É interessante observar que não houve diferenças significativas na matéria seca total acumulada durante os quatro dias de *stress*, embora uma queda de peso seco fosse evidente. Contudo, a tabela 10 mostra que no final do período, existiu uma diferença de 24% entre plantas submetidas e plantas irrigadas normalmente.

Dependendo da natureza do *stress*, a matéria seca poderia ser ou não afetada por reduções de 10-20% em C.H.R. McMICHEL e ELMORE (1977) observaram que o peso seco de folhas de algodão, incrementou após um dia de *stress* hídrico e depois permaneceu constante. HANSON et al. (1977) registraram uma queda contínua do peso seco da segunda folha de plantas de cevada submetidas a quatro dias de *stress* hídrico. MATTAS e PAULI (1965), trabalhando com plântulas de milho de 10 dias de idade, registraram incrementos de matéria seca até os primeiros três dias de *stress* hídrico, depois, a matéria seca tendeu a permanecer constante. Entretanto, as condições deste último experimento foram substancialmente diferentes das do presente já que o *stress* foi imposto através de uma queda gradativa da umidade relativa do ar, por meio de um desumidificador, num período de sete dias.

Os dados revelam que a matéria seca total dos potes sob stress não mostrou diferenças significativas com respeito aos potes controles até dois dias de stress, mas depois diferenças altamente significativas foram evidentes. A figura 1 mostra que, após o primeiro dia o C.H.R. nos potes controles foi de aproximadamente 94%, enquanto que nos potes submetidos ao stress foi de 91%. Durante o segundo dia, a situação de stress nos potes controles (redução de C.H.R.) aumentou apenas ligeiramente, enquanto que nos potes sem irrigação a deficiência hídrica foi drasticamente incrementada (Fig. 1) e a matéria seca sofreu somente uma redução de 8% (Tabela 10). No terceiro dia, as diferenças percentuais de matéria seca tornaram-se mais evidentes.

A impressão geral, é de que este indicador é relativamente insensível à deficiência hídrica leve a moderada, como as experimentadas nos primeiros dois dias, tanto nos potes controles quanto nos potes não irrigados.

HSIAO e ACEVEDO (1974) destacam o fato de que a expansão foliar é mais sensível ao deficit hídrico que a assimilação de CO_2 . Assim, não deveria ser aceita a hipótese de que a produção de matéria seca não é afetada enquanto o deficit hídrico não atinge um nível que reduza diretamente o fechamento estomático. Reduções em expansão foliar (área foliar/pote) foram registradas tanto nos controles quanto nos tratamentos de stress (Tabela 5 e Fig. 14), mas aparentemente, estas reduções não afetaram a matéria seca total (Tabela 10), dentro da faixa

de conteúdo hídrico observada durante os primeiros dois dias. Possivelmente, o efeito de um stress mais prolongado (e moderado) poderia afetar a matéria seca total, mesmo não atingindo valores de C.H.R. (ou Ψ_f) capazes de afetar a fotossíntese.

Provavelmente, mais importante que os percentuais de redução em matéria seca total, seja a análise da distribuição de matéria seca entre raiz e parte aérea.

A figura 2C mostra claramente que ocorre um aumento da relação raiz/parte aérea associada aos tratamentos de stress. A parte aérea tende a um incremento inicial, e depois mostra uma queda de peso. A raiz, pelo contrário, tende a um incremento contínuo sob stress. Este incremento parece linear e se processa a taxas inferiores aos dos tratamentos controle (Fig. 2A e B).

HSIAO e colaboradores (HSIAO e ACEVEDO, 1974; HSIAO et al., 1976a e b), têm dedicado atenção a este problema em conexão com aspectos de osmorregulação. GREACEN e OH (1972, citados por HSIAO e ACEVEDO, 1974) observaram que as raízes podem ajustar-se osmoticamente entre potenciais hídricos de -2.8 a -8.3 bars, mantendo a turgência constante nas células radiculares, através de aumentos na concentração de solutos. Como consequência disso, as raízes também mantiveram o crescimento à mesma taxa, dentro desta faixa de Ψ_{solo} . Resultados citados por RUSSEL (1977), indicam que o crescimento radicular pode continuar até que Ψ_{solo} caia a valores de -10 bars ou menores. PORTAS e TAYLOR (1976) verificaram que, se uma parte do siste-

ma radicular de milho está hem suprida com água, algum crescimento pode acontecer em raízes que estão rodeadas de solo com potenciais hídricos menores de - 40 bars. Os dados do presente trabalho indicam que no final do período experimental o crescimento relativo das raízes sob *stress* foi aproximadamente 13% inferior à do respectivo controle. O conteúdo de umidade nos potes controles era próximo à capacidade de campo, e o dos potes não irrigados, ligeiramente inferior ao ponto de murchamento permanente (Fig. 1). Resultados anteriores (WIERSUM, 1969; citado por HURD e SPRATT, 1975) indicaram taxas de reduções maiores: quando a sucção do solo aproximou-se a 14 bars, o crescimento relativo de raízes de milho. foi reduzido em aproximadamente 50% em comparação aos controles (mantidos a aproximadamente 2 bars de sucção de solo). Contudo, as plantas foram avaliadas a uma idade consideravelmente maior que no presente experimento.

Os já mencionados dados de COOPER e MacDONALD , 1970 em plântulas de milho, também parecem indicar que o crescimento radicular depende largamente das reservas do endospermo, ou quando este é destacado, de uma maior exportação de fotossintatos da parte aérea. Conclusões similares foram apresentadas por HSIAO et al.(1976b), revisando resultados obtidos com plântulas de soja.

Evidências diretas e indiretas, indicam que o crescimento de raízes depende de fontes de assimilatos tais como carboidratos translocados da parte aérea (AUNG, 1974; HSIAO et al., 1976b).

As relações entre carboidratos e crescimento serão discutidas posteriormente.

Área Foliar

Existe uma ampla linha de evidências mostrando que a expansão foliar é afetada por deficiência hídrica (BOYER, 1970a; ACEVEDO et al., 1971; BOYER, 1976; BOYER e McPHERSON, 1975; HSIAO, 1973; HSIAO et al., 1976a e b). O crescimento (definido como alongamento celular irreversível, HSIAO et al., 1976b) é um processo que responde em forma direta ao componente Ψ_T (potencial de turgência), (BOYER, 1970a; HSIAO, 1973).

A variação entre os componentes de Ψ_{folha} em função do conteúdo hídrico, indica que, para pequenas reduções em C.H.R., ocorrem drásticas reduções em Ψ_T . Reduções da mesma ordem em Ψ_s somente acontecem com reduções muito maiores de C.H.R. (HSIAO e ACEVEDO, 1974). HSIAO et al. (1976b) mostraram, a partir de curvas generalizadas para folhas de plantas herbáceas, que uma redução de 10% em conteúdo hídrico relativo pode reduzir o valor de Ψ_T em 80% do valor máximo. Isto, por sua vez, afetará diretamente a taxa de alongamento celular, e por esta via, a área foliar total.

Os dados deste experimento estão em concordância com a conceituação acima.

A tabela 10 pode dar uma idéia confusa da situação, já que os índices relativos de área foliar, nela apresentados, durante os dois primeiros dias, são consideravelmente maiores do

que realmente deveriam ser, conduzindo à impressão de que a área foliar é um indicador relativamente insensível. Uma melhor apreciação é obtida na tabela 5 e na figura 14. Pode-se ver que durante os primeiros dois dias, os potes controles submetidos a um stress leve, praticamente não incrementaram a sua área foliar. Então, as diferenças relativas entre potes irrigados e não irrigados tornam-se pequenas durante esses dois dias e explicam a aparente "insensibilidade" do indicador. Esta situação, aliás, foi evidente para outros indicadores, uma vez que as reduções de C.H.R. experimentadas pelos controles não foram maiores que 2-4% a partir do nível basal de stress (Fig.1), isto mostra a grande sensibilidade deste interior.

Relação de Área Foliar

A relação de área foliar de uma planta, num dado momento, é definido como "a relação de material assimilatório por unidade de material vegetal presente", e é determinado, na prática, pela relação entre a área foliar total e a matéria seca total (RADFORD, 1967). Se o stress afeta mais o numerador da relação do que o denominador, pode ser esperado uma redução do valor da relação. Em caso contrário, obviamente, a relação tenderá a incrementar. Desde que a área foliar total foi mais afetada que a matéria seca total, após quatro dias de stress (Tabela 10) as reduções da relação, mostradas na tabela 5, eram de se esperar.

A R.A.F. é um componente importante da taxa de crescimento relativa (T.C.R.) exibida por uma planta num dado período de tempo. Isto pode ser visto, a partir da seguinte expressão, apresentada por RADFORD (1967).

$$\begin{array}{rcl} \text{T. A. L.} & \times & \text{R. A. F.} & = & \text{T.C.R.} \\ \text{mg.dm}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} & \times & \text{dm}^2 \cdot \text{g}^{-1} & = & \text{mg.g}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1} \end{array}$$

onde T.A.L. representa a taxa de assimilação líquida. Debaixo dos parâmetros são indicadas as unidades usadas no presente experimento. Em todas as situações onde a T.A.L. é positiva, a manutenção de uma maior quantidade de área foliar por unidade de peso seco é claramente vantajosa. Sob situações de *stress* hídrico onde a T.A.L. pode-se tornar negativa (ver abaixo), a manutenção de uma R.A.F. relativamente alta, torna-se desvantajosa. Teoricamente, ao menos, uma situação de desfoliação total torna a R.A.F. igual a zero, e conseqüentemente, a planta não cresce, mas também não perde peso seco.

No presente experimento, a R.A.F. diminuiu em somente 20% em resposta ao período de *stress* não afetando significativamente os valores de T.C.R. (Fig. 3).

Contudo, nem sempre este é o caso, e por vezes as plantas respondem ao *stress* hídrico com uma drástica redução de crescimento determinada por uma alta desfoliação (LEVITT, 1972).

Taxa de Assimilação Líquida

As estimativas de T.A.L. obtidas no presente trabalho

poderiam estar ligeiramente superestimadas. Isto é devido a que não foi descontado, do peso seco total, o peso das cinzas minerais, as quais contribuem com uma percentagem variável (3-10% em média) (LARCHER, 1975).

Contudo, tratando-se da aplicação do parâmetro a casos de stress hídrico, o erro esperado pode ser mais reduzido, desde que o conteúdo de minerais, como proporção do peso seco, torna-se menor conforme o stress é mais severo (HURD e SPRATT, 1975).

Deveria ser notado que a T.A.L. representa o saldo líquido de material fotossintético disponível para incremento de peso, uma vez descontada a fração consumida na respiração (LARCHER, 1975). Portanto, constitui-se numa medida aproximada da fotossíntese líquida.

A figura 3 mostra claramente que a T.A.L. exhibe uma tendência fortemente decrescente em resposta aos dias de dessecação progressiva do solo.

A análise de correlação mostrou que a T.A.L. tornou-se nula a um valor próximo a 81% de C.H.R. (Fig.4). Dever-se-ia pensar, portanto, que a este valor de C.H.R., o fechamento estomático deveria ser quase total, limitando severamente o fluxo de CO_2 às folhas.

O fechamento estomático não foi avaliado neste experimento, mas, após três dias de stress quando o C.H.R. médio das variedades caiu para 79% (Fig. 1), foram evidentes sintomas de murchamento bastante severos nas plantas. Folhas de milho mos-

tram sintomas de murchamento visível a valores de C.H.R. em torno de 86% (DONWEY e MILLER, 1971). Dados compilados por LUDLOW (1976), indicam que, em ambientes controlados, o ponto de murchamento em milho acontece a -10 bars (o qual coincide com o potencial no qual a turgência torna-se nula, segundo JOHNSON e BROWN (1977), Tabela 1). Sob condições de campo, este valor é de -16 bars. O fechamento estomático (avaliado pelo incremento de resistência estomática), ocorre a valores variáveis entre 10 e -17 bars (Tabela 1). GILLES et al. (1974) observaram que a um C.H.R. de 80% os estômatos de plantas de milho estavam fechados.

Portanto, parece ser seguro admitir que a valores de C.H.R. compreendidos entre 85-80%, (ou potenciais hídricos equivalentes) a maioria dos estomatos de milho devem estar fechados, e as folhas mostrando murchamento visível.

O fechamento estomático deve conduzir a uma rápida queda de fotossíntese. Determinações em ambiente controlado tem mostrado que a potenciais de -12 bars a fotossíntese líquida é inibida em 100%. O valor de -20 bars consignado na tabela 1, refere-se a plantas em estado reprodutivo (BOYER, 1976). Considera-se, portanto, que o valor de 81.3% de C.H.R. para T.A.L. = 0 obtido neste experimento está dentro da faixa de valores esperados. De fato, os estomatos podem ter começado a fechar a valores de C.H.R. superiores a 81%, mas a natureza C₄ do milho, poderia capacitá-lo para continuar alguma fixação de CO₂, segundo a hipótese de KLUGE (1976), desde que a atividade de PEP-carboxilase não fosse severamente afetada pe-

lo nível de desidratação foliar. Em qualquer hipótese, o valor de C.H.R. no qual a T.A.L. torna-se nula é indicar que o balanço de carbono torna-se negativo se o *stress* hídrico atinge valores mais baixos de dessecação (Fig. 4).

Na figura 3 é notória, também, a drástica redução em T.A.L. sofrida pelos controles nos primeiros dois dias do período experimental. Este resultado é um tanto inesperado, desde que os deficits hídricos parecem bastante pequenos para reduzir a taxa de fotossíntese, numa magnitude tal que provoque quedas da ordem de 50% em T.A.L. É provável que, junto com alguma redução em fotossíntese aparente, tenha ocorrido um aumento marcante de respiração, e portanto as diferenças entre fotossíntese e respiração tenham sido menores que as esperadas. Desafortunadamente, não é sabido se a respiração permanece constante, incrementa ou decresce como resposta ao *stress* hídrico (BARLOW et. al., 1976a). Resultados iniciais (SMITH, 1915; citado por LEVITT, 1972) indicaram que poderiam ser esperados incrementos em respiração se a perda de água foliar fosse menor do que 30%. CHRELA-SHVILI (1941, citado por RICHARDS e WADLEIGH, 1952) encontrou que, quando folhas de milho sofreram uma perda de água considerável (não especificada na referência), a sua taxa de respiração foi superior aquela dos controles. Resultados mais atuais, como os referidos na tabela 1 (KOEPE et al., 1973) também sugerem esta possibilidade.

Em adição aos efeitos do *stress* hídrico, a elevação da temperatura do ar (e conseqüentemente da temperatura foliar), durante esses dias, pode ter contribuído em forma aditiva para os

incrementos em respiração. Em condições de incremento da temperatura foliar, as taxas de respiração incrementam marcadamente (SLATYER, 1969).

A figura 3 mostra também, nos controles, um incremento compensatório em T.A.L. durante o terceiro dia, quando a hidratação foliar mostrou um alto valor de C.H.R. Como consequência disso, o valor médio de T.A.L. para os controles, considerando todo o período experimental, não foi significativamente diferente do valor inicial (dia 0). Esta tendência de recuperação compensatória foi observada também por GATES (1968) em plantas de tomate. Ele observou que, quando as plantas mostraram sintomas de murcha, a T.A.L. declinou significativamente, mas depois da rehidratação, houve uma recuperação a níveis significativamente superiores aos dos controles. A tendência foi mantida quer a T.A.L. fosse baseada no peso seco, na área, ou no conteúdo proteico da lâmina foliar.

Os presentes dados sugerem que este indicador é sensível a níveis leves de deficiência hídrica, embora tal conclusão devesse estar baseada em medições mais diretas de respiração e fotossíntese.

A T.A.L. pode se constituir num parâmetro extremamente adequado para avaliação, em vista das correlações mostradas na tabela 9. Estas correlações não são inesperadas, desde que uma maior T.A.L. deve estar associada a uma maior disponibilidade energética da planta, e portanto, processos dependentes de energia como redu-

ção de nitrato e biossíntese proteica devem estar a ela positivamente relacionados. Em contrapartida, o teor de N-Solúvel e carboidrato solúvel estão negativamente correlacionados, na medida em que um incremento nestes indicadores devem refletir uma baixa disponibilidade energética para processos biossintéticos.

Uma outra implicação das correlações da tabela 9 deve ser destacada. Os valores de correlação indicam que na seleção por resistência a *stress* hídrico, a procura de genótipos com eficiência fotossintética superior, pode ser de maior utilidade que a seleção de genótipos mais eficientes na conservação da água foliar.

Taxa de Crescimento Relativa

Desde que a T.C.R. é o produto da T.A.L. e a R.A.F. este indicador se constitui na expressão do efeito combinado do *stress* hídrico sobre a fotossíntese por unidade de área foliar e do alongamento foliar (incremento em área foliar). Portanto, é um indicador especialmente apropriado para o trabalho em casa de vegetação. Em condições de campo, as dificuldades envolvidas no trabalho com raízes (NOUR e WEIBEL, 1978) podem limitar a determinação da taxa usando-se a planta inteira.

Como já foi mencionado, a principal determinante da T.C.R. neste experimento foi a T.A.L., como pode ser visto na figura 3. Em termos de T.C.R., a variação de matéria seca foi muito mais ampla que a variação absoluta, e isto torna este indicador mais apropriado que a simples determinação da matéria

seca total.

Atividade de Nitrato Reductase e Teor de Nitrato

A atividade de NRase foi extremadamente sensível a pequenas flutuações no C.H.R. das plantas. Tanto a tendência geral de resposta quanto os valores determinados no presente trabalho, coincidem com os dados publicados anteriormente por MATIAS e PAULL (1965). Estes autores trabalharam com plantas de milho de menor idade (aproximadamente 10 dias, estágio de quarta folha). Contudo, deve ser destacado que, as condições de ensaio da atividade enzimática no seu trabalho foram diferentes das aqui empregadas. De forma interessante, eles constataram quedas significativas de atividade nos primeiros dois dias de *stress*, antes que qualquer mudança no *status* hídrico das folhas fosse evidente.

No presente experimento, pequenas reduções em C.H.R. da ordem de 6% sobre o máximo (controle no primeiro dia, Fig. 1), causaram uma redução significativa na NRase (Tabela 6). Surpreendentemente, os potes não submetidos a irrigação mostraram, neste dia, um nível superior (embora não significativo) de atividade ao do controle, resultando num índice relativo superior à unidade na tabela 10.

Com um deficit hídrico de saturação de 10% (o qual implica um C.H.R. de 90%), BARDZIK et al.(1971) observaram que plântulas de milho reduziram a sua atividade de NRase em 50%. PLAUT (1973) observou que plântulas de trigo, com um C.H.R. de 90%, re-

duziram a sua atividade de NRase em 20% com relação a controles irrigados (C.H.R. de 93.1%). Isto correspondeu-se com uma tensão de umidade no solo de aproximadamente 3 bars. No presente experimento, o C.H.R. após um dia de *stress* por não irrigação, foi de 91.5% (Fig. 1). Isto correspondeu a uma redução de aproximadamente 25% da capacidade de campo (Fig.1) que, para o solo utilizado no experimento, poderia representar uma tensão hídrica de 2.8 bars. Se fosse eliminado o efeito perturbador da redução hídrica do primeiro e segundo dia nos controles, e fossem considerados somente os dias 0 e 4, quando as plantas exibiram altos níveis de C.H.R., a tabela 6 mostra que o nível de atividade enzimática foi da ordem de 0.75 - 0.80 moles de $\text{NO}_2^-/\text{g}\cdot\text{pe}$ -so fresco/hora. Se esse valor "normal" fosse mantido durante o primeiro dia no controle, a atividade de NRase nos potes submetidos a *stress* teria sido reduzida em 17-19%, o qual parece uma estimativa mais realística da situação, em vista dos resultados anteriormente publicados.

Recentemente, PAL et al. (1976) destacaram um problema metodológico associado com os ensaios *in vivo* tal como o usado no presente experimento. Trabalhando com distintas variedades de milho (as quais diferiam em resistência à seca), eles concluíram que é difícil, se não impossível interpretar os efeitos do *stress* térmico sobre a atividade da NRase com o ensaio *in vivo* devido a varias razões. Os incrementos de temperatura poderiam afetar a atividade da enzima per se, alterar a permeabilidade de membranas, afetar o tamanho do *pool* de nitrato ou facilitar a atividade metabólica geradora de poder redutor. Estas considera-

ções poderiam ser pertinentes no presente quadro experimental, onde, como já comentado, verificaram-se flutuações de temperatura. Entretanto, desde que a metodologia empregada permitiu a expressão de diferenças altamente significativas entre tratamentos e variedades, tais complicações, se presentes, não chegaram a invalidar os resultados.

A tabela 9 mostra correlações altamente significativas de NRase com outros indicadores de deficiência hídrica usados neste experimento. A sua correlação positiva com C.H.R. é uma conseqüência da já discutida dependência do conteúdo hídrico foliar. A correlação com T.A.L. já foi mencionada, e a sua relação com o teor de N-proteico é uma conseqüência esperada do processo de assimilação de nitrato. Relações entre atividade de NRase e proteína foliar foram mostradas por CROY e HAGEMAN (1970) e ZIESERL et al. (1963). As correlações negativas com o teor de nitrogênio e carboidrato solúvel são o reverso das correlações com T.A.L. e N-proteico.

A base bioquímica da inibição da atividade de NRase a baixos conteúdos hídricos do sistema solo-planta tem sido discutida extensivamente em trabalhos de HUFFAKER et al. (1970), BARDZIK et al. (1971), MORILLA et al. (1973) e revisada por HSIAO (1973), HSIAO e ACEVEDO (1974) e BOYER e McPHERSON (1975). A visão emergente destes trabalhos é que NRase é uma enzima de curta vida média, e que a sua atividade, sob *stress* hídrico, está limitada principalmente por inibição de biossíntese proteica. Então, a relação normal entre taxas de síntese e degrada-

ção é alterada sob condições de deficiência hídrica.

Outros vários fatores, incluindo a variação de seu próprio substrato (nitrato), e de molibdênio o qual é um metal constitutivo da enzima (MATTAS e PAULI, 1965) têm sido estudados na intenção de explicar variações da atividade enzimática. Embora o teor de molibdênio foliar tende a ser deprimido por stress hídrico (MATTAS e PAULI, 1965), o seu nível não parece ser limitante para a atividade enzimática nestas condições (MATTAS e PAULI, 1965, YOUNIS et al., 1965).

Os teores de nitrato têm mostrado flutuações em distintos experimentos, mas uma tendência definida a incrementar foi encontrada em vários experimentos (MATTAS e PAULI, 1965; YOUNIS et al., 1965; PLAUT, 1973). Os níveis de nitrato geralmente encontrados, são considerados satisfatórios para a máxima atividade *in vitro* ou *in vivo* (HUFFAKER et al., 1970; BARDZIK et al., 1971; MORILLA et al., 1973; PLAUT, 1973).

Os presentes resultados experimentais parecem confirmar estas informações anteriores, com relação ao teor de N-nítrico. N-nítrico mostrou uma tendência a incrementar, ressalva feita do terceiro dia (Fig. 5C). Contudo, os níveis de acumulação não foram particularmente elevados, se comparados com outros indicadores (Tabela 10). Estes incrementos podem ser esperados se a atividade da enzima responsável pela sua redução é drasticamente diminuída, como no presente caso.

A tabela 8 mostra que, na base de N/pote, o conteúdo total de N diminuiu conforme o stress progrediu. Desde que

N-nítrico foi a fonte de N usada neste experimento, deve ser concluído que a absorção de nitrato foi efetivamente reduzida por efeito do stress hídrico.

Esta conclusão está reforçada pelo fato de que a matéria seca total não mudou significativamente sob *stress*, então a diminuição do teor de N por efeito de diluição devido a incremento de peso, pode ser descartada como explicação.

Por outro lado, visto que a absorção de nitrato é dependente de energia metabólica (EPSTAIN, 1972, citado por FERNANDES, 1977), a resposta decrescente da T.A.L. ao *stress* pode ser uma das causas do teor decrescido de N/pote. Contudo, o pool de N-nítrico foliar poderia ter sido levemente incrementado se a absorção de nitrato fosse deprimida a uma taxa menor que a sua redução foliar. Relações quantitativas entre ambos os processos (absorção e redução de nitrato) sob condições de stress hídrico, estão, surpreendentemente, faltando na literatura. Os presentes dados sugerem que ambos os processos não foram deprimidos na mesma intensidade, mas é evidente que experimentos mais específicos deverão ser realizados para testar esta possibilidade.

N-Amoniacal e N-Proteico

A figura SA mostra que o nível de N-amoniacal incrementou marcadamente somente dois dias depois do começo do stress hídrico.

Nitrito reductase, a enzima diretamente responsável

pela produção do N-amoniacoal, parece ser menos afetada que nitrato reductase pela deficiência hídrica (HUFFAKER et al., 1970); mas é claro que a taxa de produção de N-amoniacoal deve estar limitada pela atividade da NRase que é a etapa limitante do processo (EILRICH e HAGEMAN, 1973). Portanto, poderia ser esperado que a queda de atividade de NRase fosse acompanhada por quedas concordantes de N-amoniacoal sob condições de *stress* hídrico.

A inibição de biossíntese proteica é um processo extremamente sensível a pequenas deficiências hídricas (HSIAO, 1973). Também, a ativação de proteases em folhas deficientes em água, tem sido reiteradamente postulada (VIEIRA DA SILVA, 1976), mas geralmente seu incremento se associa a folhas com murchamento severo ou francamente em senescência (NAYLOR, 1972). Contudo, dados mais recentes (ARAD e RICHMOND, 1976) sugerem que proteases, em folhas de cevada, podem aumentar marcadamente ainda a baixos valores de deficiência hídrica. Por exemplo, com um deficit hídrico de saturação de 10%, o incremento em atividade proteolítica foi de aproximadamente 60%. Se isto é verdadeiro também para milho, permanece, como um tópico a ser esclarecido.

No presente experimento, o C.H.R. registrado após dois dias de dessecação progressiva do solo foi de 83.3%, e a este nível de hidratação foliar, a atividade proteolítica poderia ter sido grandemente incrementada. Contudo, o percentual de N-proteico caiu marcadamente, já após o primeiro dia, sugere-

rindo que a atividade proteolítica poderia ter começado a valores de C.H.R. ainda superiores (Tabela 7).

Então, deve ser concluído que os incrementos em N-amoniaco registrados no experimento devem ser expressão do aumento da atividade proteolítica antes do produto da inibição da biossíntese proteica.

Prolina

A figura 6 mostra que a produção de prolina durante o período de *stress* hídrico foi aproximadamente exponencial. Tal padrão de resposta foi observado também em sorgo (IVALDREN e TEARE, 1974; BLUM e EBERCON, 1976); soja (WALDREN e TEARE, 1974); cevada (CHU et al., 1976b); *Helianthus tuberosus* L. (WRIGHT et al., 1977); algodão (McMICHEL e ELMORE, 1977) e arroz (MADRUGA e RENA, 1977).

Prolina não foi um indicador particularmente sensível ao *stress* hídrico, já que diferenças significativas em relação aos controles somente foram registradas a um C.H.R. de 83.3%. Contudo, uma vez iniciado o processo de acumulação, o seu nível foi tão elevado que constituiu o indicador de maior variação relativa no final do período experimental (Tabela 10).

WALDREN e TEARE (1974) observaram que, antes de se verificar o incremento em prolina, a resistência estomática de folhas de sorgo e soja aumentou marcadamente. Em sorgo especificamente, o incremento de prolina só se verificou quando o valor de R_s (resistência estomática) foi infinito, indicando então uma situação de estômatos totalmente fechados.

MADRUGA e RENA (1977) verificaram que, o teor de prolina aumentou rapidamente em folhas de arroz, assim que o teor relativo de água (similar a C.H.R. empregado neste experimento) caiu a valores próximos a 80%. Eles sugeriram que este valor poderia representar o limite abaixo do qual ocorrem alterações metabólicas orientadas no sentido da síntese de prolina.

Os resultados deste trabalho coincidem com resultados anteriores desde que, como já discutido, ao valor de C.H.R. no qual se verificou incremento na acumulação de prolina, é altamente provável que a maioria dos estômatos estivessem fechados.

A tabela 1 mostra que a um C.H.R. de 80%, o teor endógeno de ABA mostra altos níveis de acumulação. Pensa-se que ABA controla o fechamento estomático, provavelmente determinando um efluxo de K^+ nas células guardiãs do estômato (ALLAWAY e MILTHORPE, 1976). O teor endógeno de ABA tem sido relacionado com a resistência à seca em milho (LARQUE-SAAVEDRA e WAIN, 1974), e o teor de prolina foliar também com resistência à seca em várias outras espécies (PALFI e JUHÁSZ, 1971; SINGH et al., 1973). Tem sido sugerido que o incremento de prolina pode ser uma resposta indireta ao *stress* hídrico, mediada pelo aumento no nível endógeno de ABA (ITÁÍ e BENZIONI, 1976). Portanto, parece provável que exista uma relação definida entre o nível de ABA, o fechamento estomático e o nível de prolina. Assim, os estudos visando a determinação do padrão de variação destes três parâmetros sob *stress* hídrico, permitiriam o estabelecimento de critérios metabólicos mais específicos para a

seleção da resistência à seca em milho. A mesma necessidade foi destacada por MADRUGA e RENA (1977) com relação a arroz.

Os incrementos em prolina, parecem decorrer da combinação do aumento de sua síntese e a hidrólise de proteína foliar (McMICHEL e ELMORE, 1977). Evidências diretas de biossíntese não foram obtidas neste experimento, mas uma correlação negativa é evidente entre prolina e N-proteico (Tabela 10). É, portanto, possível que uma fração do pool de prolina livre acumulada tenha sido originado a partir da hidrólise de proteínas.

N-Amino Livre

A tendência de variação do teor de N-amino livre observada neste experimento, evidenciou a alta sensibilidade deste parâmetro.

Diferenças significativas foram evidentes já após o primeiro dia de *stress* o que torna este indicador o mais sensível entre os componentes do pool de N-solúvel foliar. Desde que o teor de N-proteico foliar caiu significativamente também no primeiro dia (Tabela 7) então o incremento em N-amino neste período parece constituir o reverso desta queda.

Os acúmulos iniciais de aminoácidos podem refletir a sua não utilização em biossíntese proteica. Contudo, como já foi comentado, é provável que a hidrólise proteica tenha começado a operar a níveis relativamente altos de C.H.R., e portanto, o pool total de N-amino pode ter sido originado, em grande parte de produtos de hidrólise proteica.

Relação N-Solúvel/N-Proteico

A figura 7 mostra claramente o incremento da relação N-solúvel/N-proteico. Este incremento é uma situação esperada, dado que todas as frações de N-solúvel determinadas neste experimento; tenderam a incrementar (Tabela 10), e o teor de N-proteico declinou de forma contínua (Tabelas 7 e 10). O indicador, dada a forma de sua resposta, não parece ser particularmente sensível, já que as diferenças tornam-se evidentes somente após dois dias de *stress* (Fig.7).

Contudo, poder-se-ia pensar que a relação, expressa em forma global, os efeitos líquidos do *stress* hídrico sobre o conjunto do metabolismo de N, e portanto pode ser um subsídio, importante na discussão das diferenças intervarietais ao *stress*.

Carbohidrato Solúvel

Os teores de carbohidrato solúvel encontrados neste experimento mostraram uma tendência definida a incrementar sob condições de dessecação progressiva do solo (Fig.8). Porém, a interpretação da resposta oferece aspectos contraditórios.

Por um lado, a figura 8 sugere uma grande insensibilidade do parâmetro, já que as diferenças significativas em teor de carbohidrato solúvel, com relação ao controle diário, somente se verificaram após três dias de deficiência hídrica, quando o C.H.R. médio foi da ordem de 79% (Fig. 1). Por outro lado, a mesma figura 8 evidência a grande flutuação do nível de car-

bohidratos nos controles, com uma tendência definida de acumulação durante os primeiros dois dias. Esta tendência nos controles sugere, contraditoriamente, uma alta sensibilidade do indicador a pequenas quedas em C.H.R. Como consequência deste incremento nos controles, após dois dias, as diferenças em teor de carboidrato solúvel foram insignificantes entre potes irrigados e não irrigados, a despeito de que o C.H.R. nos primeiros fosse de 93.5% e nos segundos de 83.3% (Fig. 1).

HSIAO (1973) citou a acumulação de açúcar solúvel como o processo menos sensível ao *stress* hídrico, admitindo ainda que a sua acumulação pudesse se verificar a valores de potencial hídrico menores que aqueles que resultam na acumulação de prolina. Desde que prolina, neste experimento, começou a acumular valores de C.H.R. próximos a 83% (Fig. 6), os resultados aqui obtidos parecem concordantes com o conceito de, HSIAO (1973).

Dados mais recentes (BARLOW e BOERSMA, 1976, BARLOW et al., 1976a) tendem a mostrar que pequenas reduções em conteúdo hídrico (ou potencial hídrico) promovem um incremento no conteúdo de carboidrato solúvel. BARLOW et al. (1976a) observaram que, quando o potencial hídrico do solo foi decrescido de - 0.35 para - 2.50 bars, o nível de carboidratos solúveis aumentou em 42% em plântulas de milho de nove dias de idade.

Nesse trabalho, o incremento em carboidrato solúvel estava relacionado de forma inversa com a taxa de alongamento foliar e de acumulação de matéria seca total. No presente tra-

balho, tanto a área foliar quanto a matéria seca total, tenderam a decrescer de forma contínua com o stress hídrico (Tabela 10), e portanto, uma correlação negativa com o teor de carboidrato solúvel deve ser esperada. A figura 10 ilustra mais precisamente esta situação.

Nos trabalhos citados de BARLOW e colaboradores, o metabolismo de carboidratos foi discutido em termos de *source sink*, e foi concluído que a acumulação de carboidratos a níveis relativamente leves de stress pode constituir-se em um fator endógeno de inibição por *feedback* da taxa de fotossíntese. Este processo se verifica tanto nas folhas inferiores (*source*) quanto nas superiores (*sink*). Então, se esta possibilidade é operativa, as quedas marcantes em T.A.L. nos potes controles durante os dois primeiros dias (Fig. 3), poderiam, em parte, ser explicados por este efeito, em adição aos possíveis incrementos em respiração, já comentados.

A falta de significação estatística para a acumulação de carboidrato solúvel após dois dias de stress (Fig.8), está aberto a dois tipos de interpretação: 1) Incremento na taxa de respiração. Se a formação de Fotossintatos decresce mais rápido do que a respiração durante as fases iniciais da deficiência hídrica, as reservas de amido poderiam ser esgotadas sem mudanças aparentes no conteúdo de açúcares redutores (MARANVILLE e PAULSEN, 1970). Como já foi destacado, a taxa de respiração não foi seguida neste experimento, mas, incrementos em respiração, como resposta ao stress são prováveis, e esta alterna-

tiva não pode ser excluída como interpretação. 2). Uma certa fração do *pool* acumulante foi translocada da folha. Alguns resultados anteriores (EATON e EAGLE, 1948, citado por RICHARDS e WADLEIGH, 1952) indicam que sob condições de *stress* hídrico a translocação de açúcares solúveis aumenta em algumas plantas. Em milho, evidências recentes (BOYER e McPHERSON, 1975) indicam que a translocação não é um processo grandemente afetado por *stress* hídrico. As quedas em produção de grão, em resposta a deficiências hídricas que não resultem em interrupção do processo de floração podem ser atribuídas a quedas em fotossíntese e, não a translocação (McPHERSON e BOYER, 1977).

Foi evidente uma redistribuição da matéria seca total sob condições de *stress*. A matéria seca da parte aérea decresceu levemente e a da raiz aumentou (Fig. 2), conduzindo a uma relativa constância na matéria seca total, que, de fato, não mudou significativamente durante os quatro dias de *stress*. Isto parece indicar que, sob essa situação, os processos metabólicos se orientam no sentido de uma mobilização dos recursos energéticos para a manutenção do crescimento radicular. Isto pode ser a interpretação das correlações mostradas na figura 9.

Nas figuras 9A e 9B, é evidente uma reversão da tendência de associação entre o peso seco da raiz e o teor de carboidrato solúvel da segunda folha. Quando os controles são incluídos na correlação (Fig. 9A) a tendência de associação é negativa, mas o valor é baixo e não significativo. Quando somente são considerados os tratamentos de *stress*, a correlação torna-se positiva e significativa (Fig. 9B). Esta reversão não

é notada quando se considera o peso seco da parte aérea (Fig. 9C e 9D). Parece então provável que, sob condições de stress hídrico, exista uma modificação no padrão de partição de carboidratos entre parte aérea e raiz. Deve ser salientado que a maior fonte de carboidratos para o sustento do crescimento radicular poderia não ter sido a folha considerada (segunda folha superior) e sim as folhas basais. Estas folhas mostraram uma definida tendência à senescência com o desenvolvimento do stress. BOYER e McPHERSON (1975) destacaram que a senescência foliar pode representar um sacrifício de carboidratos e compostos nitrogenados em favor da manutenção de pontos de crescimento. Então, o incremento da relação raiz/parte aérea (Fig. 2) poderia ser interpretada em termos de um investimento de carboidratos (e provavelmente compostos nitrogenados) em favor de um maior alongamento radicular, possibilitando assim a exploração de camadas mais profundas de solo, onde presumivelmente, exista maior conteúdo de umidade.

A capacidade de estender rapidamente as raízes em resposta ao dessecamento progressivo do solo, foi destacado por LEVITT (1972) como uma importante componente da resistência total à seca. Por exemplo, o fato de ser a alfafa (*Medicago sativa* L.) uma das espécies mais resistentes à seca é atribuído inteiramente a esta característica (RUSSEL, 1977). Entretanto, a literatura indica que este fenômeno é operativo num vasto número de espécies cultivadas (RICHARDS e WADLEIGH, 1952; AUNG, 1974; LARSON, 1975; HURD, 1976; HURD e SPRATT, 1975; HSIAO et al., 1976b; CUTTLER e RAINS, 1977; NOUR e WEIBEL, 1978; RUSSEL, 1977), que não obstante diferem amplamente na resistência à se-

ca tal como avaliadas pelas suas respectivas produções em campo ou casa de vegetação.

BOYER e McPHERSON (1975) destacaram o fato de que a ênfase nesta característica implica necessariamente na escolha de um critério de avaliação que sacrifica o crescimento vegetal, já que o crescimento radicular somente pode-se verificar à expensas do crescimento da parte aérea. Com efeito, se a fotossíntese líquida decresce conforme se intensifica o stress tal como mostrado neste experimento (Fig. 3), um suprimento adequado de material energético e precursores biossintéticos para sustentar o crescimento radicular somente pode ser feito às expensas do material previamente existente nas folhas. Então, os processos de senescência foliar podem ser acelerados, amido e proteínas rapidamente hidrolisados, e os açúcares e aminoácidos resultantes, exportados à raiz. Como conseqüência disto, a área foliar útil para fotossíntese pode ser drasticamente reduzida.

Este processo, parece em certa medida inevitável, mas o problema está justamente na avaliação de quanto a parte aérea pode ser afetada para sustentar este crescimento radicular. Dentro das espécies, existem diferenças intervarietais para a relação raiz/parte aérea (HURD, 1976; NOUR, e WEIBEL, 1978) e isto sugere a possibilidade de identificação daqueles genótipos capazes de manter o crescimento radicular sem uma grande depressão da taxa de crescimento da parte aérea.

Um outro aspecto, em relação com o metabolismo de carboidratos, deve ser destacado. A ocorrência de um período de

stress dentro dos tratamentos controle, permitiu a observação de uma fase de recuperação *pós-stress* nestes tratamentos. A comparação das figuras 3 e 8 mostra que existe uma alta concordância entre a variação em T.C.R. e o respectivo nível de carboidrato solúvel. Mas precisamente, pode ser visto que, durante os dias 1 e 2, a uma acumulação de carboidrato correspondeu uma queda de T.C.R. A base fisiológica desta resposta já foi discutida. De maneira interessante, no terceiro dia, houve um incremento máximo em T.C.R. que correspondeu ao nível mínimo de carboidrato solúvel. Então, é claro que os carboidratos acumulados no *pool* solúvel durante os primeiros dois dias, serviram para manter este incremento em T.C.R. durante o terceiro dia. Isto sugere que o *pool* de carboidrato solúvel acumulado pode ser decisivo na determinação das taxas de crescimento *pós-stress*, pelo menos, em situações de déficits hídricos moderados. Então, se é admitida como válida a hipótese de translocação de uma fração do *pool* de carboidratos solúveis às raízes, é lógico pensar que, a fração remanescente nas folhas pode ser um atributo importante de resistência à seca.

Da discussão anterior dois aspectos podem ser concluídos:

1) Os dados sugerem que sob condições de *stress*, tão importante quanto a avaliação da taxa de produção de fotossintatos é a consideração de sua taxa de translocação. HSIAO et al. (1976b) destacaram que existe uma tendência em ecofisiologia em geral, e nas relações solo-água-plantas em particular, a focalizar demasiada atenção ao processo de assimilação de CO_2 . Outras

partes do sistema, especialmente padrões de crescimento e partição de assimilatos, são freqüentemente mais importantes e também passíveis de modificação genética. No presente caso, é evidente que, as relações de acumulação e mobilização de carboidratos entre folhas e entre parte aérea e raiz, devem constituir importantes objetivos de estudo futuro.

2) Se a intenção é caracterizar respostas totais à seca, é evidente que tão importante quanto o estudo das modificações metabólicas da parte aérea, é o estudo das modificações na raiz. A não consideração deste aspecto (que se expressa claramente na relação raiz/parte aérea) pode significar deixar de considerar uma parcela importante da resistência total observada.

Diferenças Varietais

Houve diferenças altamente significativas entre variedades para a maioria dos parâmetros avaliados neste experimento. Isto significa que, as variedades diferiram em susceptibilidade ao *stress* hídrico e que o ambiente proporcionado pela casa de vegetação foi bastante adequado para permitir a expressão destas diferenças. A existência de diversidade genotípica para uma característica afetada por deficiência hídrica implica a existência de resistência diferencial entre variedades.

A primeira e mais óbvia diferença entre variedades foi nos seus C.H.R., conforme o *stress* se desenvolveu (Fig.11). Piranão mostrou um C.H.R. superior as outras variedades após dois

dias de *stress* e manteve esta superioridade até o final do período experimental. A diferença entre Piranão e IPEACS III, a variedade que se mostrou mais afetada pelas condições de dessecação, foi de aproximadamente 10% no final do período experimental. Esta diferença demonstra *per se* a existência de resistência diferencial entre ambas as variedades. É difícil explicar, no contexto dos presentes dados, a razão destas diferenças. Como LEVITT (1972) destacou, a manutenção de um elevado conteúdo hídrico foliar sob condições de *stress* poderia ser logrado por uma das seguintes alternativas: a) maior sensibilidade estomática na variedade mais resistente, permitindo um mais rápido fechamento estomático desde o início do período de *stress*. b) Uma maior taxa de absorção de água pelas raízes, que compensasse a velocidade de perda de água por transpiração. Este autor relacionou estes mecanismos como ligados ao componente de *drought avoidance* da resistência total.

Os dados do presente trabalho permitem as seguintes inferências:

1) Se as diferenças em C.H.R. fossem decorrentes da maior sensibilidade estomática ao *stress* hídrico, deveriam ser esperadas quedas em T.A.L. a valores relativamente altos de hidratação foliar na variedade Piranão. Isto poderia ser interpretado como uma maior eficiência na conservação da água nos tecidos. Contudo, os dados não demonstram que este seja o caso. Após três dias de *stress*, o C.H.R. de, Piranão foi aproximadamente de 84% (Fig. 1) e sua T.A.L. foi ainda positiva (Fig.15). Co-

mo já foi discutido, com relação aos valores médios entre variedades, é provável que a um C.H.R., inferior a 85%, a maioria dos estomatos começam a fechar. A figura 16 oferece outro suporte para esta interpretação. Nela são apresentadas as linhas de regressão entre o C.H.R. e as respectivas T.A.L. das três variedades. Este procedimento foi adotado em vista de que as comparações entre as T.A.L. das respectivas variedades em função do tempo de dessecação estão confundidas pela variação do C.H.R. que foi diferente em cada variedade. Pode ser apreciado na figura 16 que as diferenças entre os coeficientes de regressão são pequenas e as retas tendem a se confundir a níveis relativamente altos de C.H.R.. Também, é claro que a observação da T.A.L. nos níveis mais baixos de C.H.R. atingidos pelas três variedades implica numa considerável extrapolação das linhas de regressão. As pendentes indicam uma ligeira superioridade de Centralmex para prevenir quedas em T.A.L. por decréscimo unitário em C.H.R. As equações predizem que a T.A.L. torna-se nula a um valor de 80.3% de C.H.R. para Centralmex, 80.9% para Piranão e 83.0% para IPEACS III. A extrapolação implica assumir que os teores de clorofila, atividade enzimática, etc. mudam a uma taxa constante dentro da faixa extrapolada. É claro que, se existissem taxas diferenciais de variação, sobretudo a baixos níveis de C.H.R., obviamente os parâmetros da regressão poderia mudar para Centralmex e Piranão. Os valores de C.H.R. para os quais a T.A.L. torna-se nula, tal como determinado pelas pendentes das linhas de regressão, não significam exatamente o ponto no qual os estomatos fecham em 100%. É provável que os estômatos comecem a fechar a valores superio-

res de C.H.R. De qualquer forma, esta evidência, ainda que indireta, parece indicar como improvável a possibilidade de que Piranão deva seu maior conteúdo hídrico relativo a um fechamento prematuro de estômatos em relação às outras variedades.

2) A segunda possibilidade, uma maior taxa de absorção de água pelas raízes, deveria ser explicada pelas diferenças em tamanho radicular.

Assumindo uma densidade radicular de $1\text{g}/\text{cm}^3$, (RUSSEL, 1977), é notório da figura 12 que um volume significativamente maior de raízes poderia ser esperado de Piranão. Isto deveria conduzir a uma maior superfície de absorção de água, e nas condições experimentais usadas, a um mais rápido esgotamento do conteúdo hídrico nos potes, correspondentes a esta variedade. Contudo, no presente experimento, o conteúdo gravimétrico de água nos potes não diferiu grandemente entre as variedades. É provável que a restrição do volume radicular a um pequeno volume de solo tenda a suprimir as diferenças em resistência radicular entre variedades (HENZELL et al., 1975).

O alongamento foliar e a área foliar total foram parâmetros extremamente sensíveis a deficiência hídrica. As figuras 13 e 14 mostram que Piranão foi a variedade que manteve maior duração de área foliar durante todo o período de *stress*. A duração da área foliar (integral da área foliar em função do tempo, RADFORD, 1967) pode ser um importante caracter sob condições de *stress*. Diferenças em duração de área foliar podem ser atribuídas diretamente a diferenças em alongamento foliar

(figura 13) que por sua vez, depende da existência de pressão de turgência positiva na folha. Isto somente pode acontecer em situações onde o C.H.R. decresce em forma contínua, se a folha é capaz de acumular solutos suficientes para produzir um abaixamento no potencial osmótico maior que o do potencial hídrico total. Como as duas quantidades são negativas, a diferença entre elas ($\Psi_{\text{folha}} - \Psi_p$), o potencial de turgência (Ψ_p), permanecerá positivo, a despeito da situação de *stress* hídrico (LEVITT, 1972; HSIAO et al., 1976b). No presente caso, pode ser visto que a valores relativamente baixos de C.H.R. (tais como os verificados no terceiro e quarto dias, Fig. 11) o conteúdo de solutos orgânicos osmoticamente ativos (representados grosseiramente pela soma do pool de N-solúvel, tabelas 14 e 15, e o pool de carboidrato solúvel, tabela 18) foi ligeiramente superior em Piranão. Se é somado a isto, o teor de íons inorgânicos que constituem os principais solutos osmorregulatórios (CRAM, 1976), poderia ser estimada a osmolaridade total do suco celular da folha. Tal determinação não foi feita no presente trabalho, devido à impossibilidade de determinar crioscopicamente a fração solúvel que foi preparada em Etanol 80% (ver Material e Métodos). Contudo, a hipótese parece plausível para justificar a expansão de área foliar (ainda que reduzida) em Piranão sob condições de *stress*. HSIAO et al. (1976b) explicaram a diferença de produtividade entre milho e sorgo em condições de *stress* hídrico no campo, como decorrente deste efeito. Um maior conteúdo foliar de solutos permite ao sorgo manter uma taxa de fotossíntese maior que a de milho, devido a

existência de turgência positiva. Isto permite que o sorgo mantenha abertos os estômatos a valores de **folha**, nos quais os estômatos de milho estão fechados. Contudo, existem diferenças intervarietais em sensibilidade estomática tanto para milho quanto para sorgo (HENZELL et al., 1975), e é possível que a diferença entre as variedades de sorgo mais susceptíveis à seca e as de milho, mais resistentes, em termos de produtividade, sejam praticamente insignificantes (HSIAO et al., 1976b).

Isto sugere, então, a necessidade de avaliar não somente o C.H.R. foliar, mas também o potencial osmótico. Presumivelmente, se igual a C.H.R., uma variedade apresenta uma pressão osmótica maior no suco celular que outra, isto deve constituir uma evidência de maior resistência à desidratação.

Um segundo elemento de resistência diferencial entre variedades é mostrado na figura 12. Piranão mostrou diferenças significativas em peso seco de raiz e parte aérea com respeito às outras variedades. No final do período, Piranão superou Centralmex e IPEACS III, o que levou a um menor percentual de redução em matéria seca total (Tabela 12) em Piranão, e a uma maior T.C.R. (Fig.15). Esta superioridade em peso seco total pode ser atribuída a uma maior T.A.L. em Piranão (Fig.15), desde que as variações em R.A.F. foram pequenas entre as variedades (Fig. 15 e Tabela 12). Esta superioridade em T.A.L. poderia indicar que Piranão possui uma capacidade intrínseca para manter a fotossíntese sob condições de *stress*. Contudo, a figura 16, indica, dentro das limitações impostas pela extrapolação

das linhas de regressão, que essa superioridade pode ser melhor atribuída a sua maior capacidade de manutenção de níveis de hidratação do que a uma capacidade intrínseca por fotossíntese sob condições de *stress*. A alta relação raiz/parte aérea obtida nas três variedades, deveu-se à depressão de peso seco da parte aérea (Fig. 12). Entretanto, em termos comparativos, Piranão foi a variedade onde esta relação (raiz/parte aérea) foi obtida com um mínimo decréscimo de parte aérea e um máximo incremento em raiz. Na situação oposta, IPEACS III, que também teve um aumento final da relação raiz/parte aérea, mostrou desde o segundo dia, quedas contínuas de peso seco tanto de raiz como da parte aérea. A parte aérea decresceu a uma taxa maior do que a raiz, conduzindo ao incremento da relação raiz/parte aérea (Fig. 12). A existência desta variação genotípica na relação raiz/parte aérea pode ser outra importante fonte de variação na resistência à seca.

Aparentemente, este mecanismo de resistência independe de qualquer capacidade "citoplasmática" para tolerar a seca, e parece depender da manutenção de uma ativa translocação de fontes energéticas e biossintéticas da parte aérea para a raiz.

A tabela 17 mostra a variação do teor de carboidrato solúvel nas três variedades. Como esperado, houve um incremento em função do período de *stress*. No final do período experimental, a acumulação de carboidrato em Centralmex apresentou um incremento de 2.18 sobre o nível do controle; em Piranão, este incremento foi de 2.29 e, em IPEACS III, de 2.21. No fi-

nal do período experimental, o teor de carboidrato em Piranão foi significativamente superior a Centralmex e IPEACS III. Não se sabe se esta superioridade de Piranão em carboidrato solúvel reflete uma maior hidrólise de amido ou uma menor inibição em fotossíntese, decorrente de um conteúdo hídrico maior, como é sugerido pelas correlações da figura 16.

Na tabela 17 pode ser visto também que os teores iniciais (dia 0) não diferem entre as variedades. Desde que os respectivos C.H.R. das variedades no dia 0 foram altos para as três variedades (superiores a 95%, Fig. 11), a tabela 17 parece indicar que per se, as variedades não exibem diferenças genotípicas, para teor de carboidrato solúvel, quando em situações livres de *stress*. Entretanto, quando as condições de demanda evapotranspirativa aumentam, o nível de carboidrato solúvel parece responder de forma diferente nas três variedades. Na figura 21 é mostrada a variação em carboidrato solúvel somente nos controles, onde, no dia 1 e 2, o C.H.R. decresceu a níveis considerados de *stress*. A tendência geral de variação indica claramente que as três variedades tenderam a acumular carboidrato durante o breve período de *stress* (dias 1 e 2). O *pool* acumulado durante estes dois dias sofreu uma brusca depleção no dia 3, voltando aos valores *pré-stress* no quarto dia. Contudo, este padrão se expressou diferentemente entre as variedades. Os valores de C.H.R. para os controles variaram, durante o período, de forma, em geral, concordante e sem grandes diferenças (Fig. 17).

Piranão manteve durante o período um nível de carboidrato solúvel superior as outras variedades, exceção feita do segundo dia. IPEACS III manteve níveis consistentemente mais baixos e, no final do período, seu nível de carboidratos solúveis era ligeiramente inferior ao nível *pré-stress* (dia 0). Centralmex mostrou o nível máximo de acumulação no segundo dia, no terceiro, sofreu uma queda drástica e no quarto, mostrou uma recuperação de nível intermediário entre aquela de Piranão e IPEACS III.

Na figura 17 é mostrada a tendência de variação em T.A.L. nos controles, para as três variedades.

Durante os primeiros dois dias, a maioria das plantas controles ficaram em situação de *stress*, como evidenciam os valores de C.H.R. Isto determinou uma queda drástica em assimilação líquida. As três variedades mostraram-se uniformemente afetadas, salvo no primeiro dia, quando Centralmex mostrou-se particularmente afetado. O restabelecimento de altos níveis de turgência celular, no terceiro dia, determinou um incremento nas três variedades. Piranão recuperou-se a taxas significativamente superiores às outras variedades, e manteve esta superioridade durante o quarto dia. Centralmex e IPEACS III exibiram níveis similares durante todo o período experimental. Como já indicado, Centralmex teve, nos potes controles, uma maior R.A.F. que as outras variedades. No entanto, esta maior área exposta por unidade de peso seco não chegou a compensar os efeitos depressivos dos primeiros dois dias sobre a fixação líqui-

da de CO₂, por unidade de área foliar. Em conseqüência, exibiu taxas de crescimento relativas menores que Piranão (valores não mostrados na Fig. 17).

A figura 17 indica, portanto, que a recuperação de Piranão a situações de stress leves é consideravelmente maior.

As figuras 21 e 17 mostram uma estreita correspondência entre os padrões de variação de carboidrato solúvel e T.A.L.. Isto conduz à conclusão de que os teores de carboidratos acumulados durante um período de stress moderado podem ser decisivos na determinação das T.C.R. pós-stress, principalmente através de seu efeito na T.A.L.

Uma vez que Piranão acumulou mais carboidratos que as outras duas variedades, é possível esperar taxas de recuperação pós-stress maiores nesta variedade.

Um terceiro elemento de resistência diferencial entre variedades, surge da comparação dos indicadores referentes ao metabolismo de N. Na figura 20 é mostrada a evolução da relação N solúvel/N proteico. Como já destacado, este indicador é importante porque reflete o efeito líquido do stress hídrico sobre o conjunto do metabolismo de N.

A relação N solúvel/N proteico foi baixa (menor que 0.1) para todas as variedades no dia 0 do stress, manteve-se baixa e sem diferenças entre as variedades após 24 horas sob stress e depois começou a aumentar exponencialmente. O maior valor do indicador, correspondeu, no final do período a IPEACS III (0.88). Em Piranão, o valor da relação foi a metade daque-

le de IPEACS III, e Centralmex exibiu um valor intermediário.

Na tabela 16 pode ser verificado que o teor de N-proteico diferiu significativamente tanto entre como dentro de variedades. Em particular, os teores iniciais (dia 0) diferiram marcadamente entre variedades. Durante os primeiros dois dias, IPEACS III manteve um teor significativamente superior, mas no terceiro e quarto dias sofreu uma queda drástica, o que também se refletiu num maior percentual de redução com respeito ao controle, no final do período experimental (Tabela 17).

A comparação da tabela 16 com a 17, também indica que tanto em termos absolutos quanto relativos, Piranão foi mais eficiente que as outras variedades em manter o teor proteico a despeito da situação de stress. Isto é notório a partir do segundo dia. Centralmex parece ter sido pouco afetado por um dia de *stress* hídrico, mas a partir do segundo dia o teor de N-proteico experimentou uma queda com uma pendente maior que Piranão. No final do experimento, seu teor era 48% menor que aquele do controle, e intermediário entre o percentual de redução de Piranão e IPEACS III.

Com relação ao *pool* de N-solúvel, Piranão mostrou níveis significativamente menores de acumulação em N-amino e e N-amoniacoal que as outras variedades, um teor de N-nítrico ligeiramente superior a Centralmex e um teor de prolina ligeiramente maior que IPEACS III (Tabelas 14 e 15).

Estes resultados sugerem a existência de diferenças intervarietais para manutenção do teor de N-proteico, os resul-

tados da comparação favorecendo novamente a Piranão.

Os dados relativos à atividade de NRase (Fig. 18 e Tabela 13) mostram uma tendência similar. Assim, após quatro dias de stress, a atividade de NRase em Centralmex foi reduzida em 90% e a de Piranão em 60% (Tabela 13), enquanto que seus respectivos C.H.R. diferiram em somente 7% (Fig. 11).

De todos os indicadores metabólicos de deficiência hídrica usados neste experimento, o que tem recebido maior atenção, em relação a resistência à seca é o teor de prolina.

Na figura 19, é aparente a existência de um nível basal de acumulação de prolina, que para Centralmex e Piranão parece ocorrer na faixa de 90-85% de C.H.R. IPEACS III parece começar a sua acumulação depois de Piranão (em termos de C.H.R. decrescente), entretanto, como esta variedade experimentou uma queda drástica de C.H.R. (superior a 10%), entre o primeiro e o segundo dia, não foi possível observar a variação do teor de prolina numa faixa aparentemente crítica. Contudo, como o seu teor de prolina não diferiu daquele de Centralmex e Piranão durante o segundo dia (Tabela 15), variedades estas que apresentaram C.H.R. superiores a IPEACS III (Fig. 11), é possível que esta última variedade comece a acumular prolina a valores de C.H.R. menores que as outras duas variedades. O padrão de resposta observado entre variedades, quanto a taxas e nível absoluto de acumulação, é difícil de ser explicado se são levadas em consideração as afirmações anteriores de que variedades que acumulam mais prolina podem ser mais resistentes à se-

ca que aquelas que acumulam menor quantidade (PALFI e JAHASZ, 1971; SINGH et al., 1973). Piranão que, por outros indicadores, mostrou maiores índices de resistência, teve um nível de acumulação não muito diferente daquele de IPEACS III, que foi a variedade mais afetada na comparação. Por outro lado, Centralmex que mostrou consistentemente respostas médias entre Piranão e IPEACS III para a maioria dos parâmetros, mostrou o menor nível de acumulação (Tabela 15 e Figura 19).

Por outro lado, esta resposta oferece outros aspectos de difícil interpretação. Os incrementos em prolina, são devidos a uma combinação de biossíntese de novo, a partir de glutamato (STEWART et al., 1966) e de hidrólise proteica. Em Piranão é mais provável que uma alta proporção do *pool* total acumulado seja efetivamente originado por biossíntese de novo, em vista de que o grau de hidrólise proteica foi aparentemente baixo. No outro extremo, IPEACS III deve ter acumulado prolina em alto nível devido a uma maior atividade proteolítica. Mas, como indica a tabela 18, esta variedade mostrou comparativamente um nível mais baixo de acumulação de carboidrato, e portanto, permanece como possibilidade que, não se verificando nesta variedade uma alta translocação para as raízes, uma parte do *pool* de carboidrato tenha sido usado para a produção de glutamato e este, posteriormente, para produzir prolina.

Também, se Centralmex e Piranão começaram a acumular prolina a valores superiores de C.H.R. que IPEACS III, como sugere a figura 19, então o fechamento estomático deveria ter

acontecido primeiro nestas variedades. Entretanto, pelo menos para o caso de Piranão, os argumentos contrários à hipótese de que esta variedade tivesse fechado os estômatos a valores superiores de C.H.R. que as outras variedades, já foram discutidos anteriormente. Portanto, a resposta geral parece bastante complexa e governada por fatores não controlados neste experimento.

Se a acumulação de prolina é um processo que possa conferir resistência dentro de stress, então prolina deveria atuar como um metabolito de bloqueio de níveis tóxicos de amônia (KEMBLE e MacPHERSON, 1954); ou como *osmoticum*, contribuindo para os processos osmorregulatórios da folha (MEASURES, 1975; CRAM, 1976). Os dados atuais revelam que é improvável que prolina funcione como um metabolito de bloqueio de amônia, visto que os dois parâmetros variaram em sentido crescente nas três variedades (Tabelas 14 e 15). Por outro lado, se prolina atuou como *osmoticum*, a sua contribuição não deveter sido muito grande, porque se assim fosse, poderia ser esperado um maior efeito osmorregulatório em IPEACS III, prevenindo as quedas drásticas em área foliar registradas nesta variedade (Fig. 14). Tem se sugerido também que prolina é um fator de resistência porque serve como fonte de N e sustrato respiratório na fase de recuperação pós-stress. Esta possibilidade foi comprovada diretamente por BLUM e EBERCON (1976) em sorgo. A velocidade de recuperação deveria ser maior se um pool energético rapidamente utilizável fosse acumulado durante o período do stress. Para açúcar solúvel, foi verificada uma relação deste tipo, a par-

tir da observação de sua variação nos potes controles. Como prolina não acumulou significativamente até valores de 80-85% de C.H.R. (Fig. 19) não foi possível observar, nos controles, uma tendência similar à de carboidrato.

Em vista dessas dificuldades de interpretação, conclui-se que serão necessários mais estudos, tanto ao nível fisiológico básico, quanto em condições de campo, antes de usar efetivamente este parâmetro como indicador de resistência à seca em milho.

Da discussão anterior é notório que a caracterização da resistência total a dessecação implica a avaliação de múltiplas características entre variedades. No presente caso, foram identificadas três prováveis fontes de resistência: tolerância à desidratação (diferenças em C.H.R.), tolerância à perda de proteína e incremento na relação raiz/parte aérea. Então, como critério geral poder-se-ia estabelecer que a identificação de fatores de resistência deveria ser feita através de combinação de indicadores (relação N-solúvel/N-proteico, relação Carboidrato solúvel/Carboidrato total; regressão de potencial osmótico sobre C.H.R., relação raiz/parte aérea, R.A.F., T.A.L., etc.) antes que por indicadores isolados (teor de carboidrato solúvel, matéria seca total, teor de prolina, etc.).

Deveria ser discutido se o padrão metabólico observado pode conferir vantagens às variedades em condições de campo.

Desafortunadamente, comparações entre as variedades

aqui utilizadas, ou outras de similares características, em situações de *stress* hídrico no campo são inexistentes na literatura. Num experimento programado para outras finalidades, GALVÃO (1973) comparou a produção de campo de Centralmex, Piranão e o híbrido comercial AG-357. Este autor observou um grau de resposta baixo para o aumento da população de plantas e o nível de nitrogênio, e atribuiu isto a uma má distribuição das chuvas durante o ano em que se realizou o trabalho. Então, é altamente provável que deficits hídricos limitados tenham afetado as populações. Apesar disso, ele observou que o cultivar Piranão mostrou uma alta tolerância a plantios densos por apresentar boa percentagem de sobrevivência, baixa percentagem de acamamento e de grãos não comerciáveis, e menor redução no peso médio das espigas pela elevação da densidade de semeadura. A "boa percentagem de sobrevivência" pode ser um caracter ligado a resistência à seca, mas a "alta tolerância a plantios densos" pode refletir também uma maior eficiência de uso de água (maior produção de matéria seca por unidade de água evapotranspirada) nesta variedade. Existe evidência de que cultivares de porte baixo usam melhor a água que aqueles de porte alto (ROSIC, 1963; citado por JUGENHEIMER, 1976).

A resistência ao acamamento é uma importante vantagem agrônômica da variedade Piranão, decorrente da introdução nesta variedade do fator "braquítico-2" (br_2) que reduz a altura da planta por encurtamento dos entrenós (GALVAO, 1974). CAMP (1954, citado por MIRANDA, 1972) comentou que os cultivares

de milho baixos, de colmo curto e profundamente enraizados, são os melhores sob as condições de seca prevaescentes nas áreas marginais do Corn Belt e no sul e sudeste dos Estados Unidos. Contudo, também tem se destacado que a excessiva proliferação radicular nos primeiros estágios de desenvolvimento, pode não ser um atributo desejável, na medida em que esgotaria mais rapidamente a água disponível no solo, privando a planta de recursos hídricos na floração, fase crítica para a maioria das culturas (DILLEY et al., 1975).

Da discussão anterior, podem tornar-se aparentes as dificuldades envolvidas na avaliação de campo. Por um lado, Piranão apresenta características fenotípicas que provavelmente a tornam mais resistente à seca e/ou mais eficiente no uso de água do que outras variedades. Por outro lado, a expressão destas diferenças pode depender das características físicas do solo (capacidade de retenção de água, conductibilidade hidráulica, resistência mecânica à penetração de raízes, etc.). Avaliações especificamente programadas para testar variedades em condições de campo, para resistência ao *stress* hídrico, são urgentemente necessárias face a atual carência de dados. Contudo, os resultados de campo devem ser avaliados com prudência, já que correlações "diretas" com respostas em casa de vegetação, são em geral difíceis de se obter (LEVITT, 1972, BOYER e McPHERSON, 1975, SULLIVAN e EASTIN, 1974, LARSON, 1975, LUDLOW, 1976).

As principais limitações para a extrapolação de resultados de casa de vegetação para o campo parecem decorrer dos

seguintes fatores:

1) Em casa de vegetação, as raízes são confinadas a volumes discretos de solo, determinados pelo tamanho dos potes-usados. Isto determina que para um mesmo nível de demanda evapotranspirativa a intensidade do *stress* seja muito maior em casa de vegetação do que no campo (LUDLOW, 1976).

2) No campo, salvo raras exceções, as plantas sempre estão submetidas a um certo grau de *stress* atmosférico. Em milho, o limite superior para a turgência relativa (C.H.R.) no campo, parece estar limitado pela taxa de transpiração. Então, a menos que o deficit de pressão de vapor seja menos que 10 mbars, é duvidoso que sejam obtidos valores maiores de 99%. Esta condição somente se verifica quando existe orvalho ou tempo chuvoso (DOWNEY e MILLER, 1971). Provavelmente, o C.H.R. para plantas bem irrigadas, em condições de campo, num dia de alta radiação seja menor ao valor estabelecido neste trabalho para delimitar uma situação de *stress*. A resposta das plantas no campo é adequar o metabolismo basal a esta pressão evapotranspirativa natural. Esta é a base do fenômeno de *hardening*, largamente descrito na literatura (GATES, 1968; LEVITT, 1971; SULLIVAN e EASTIN, 1974, HSIAO e ACEVEDO, 1974; LARSON, 1975; ARNON, 1975b; LUDLOW, 1976). O resultado deste processo é que, no campo, as respostas em geral, evidenciam um grau de sensibilidade menor que em ambientes controlados. A tabela 1 mostra este efeito com relação ao potencial de turgência e a resistência estomática. Efeitos similares têm sido descritos para fotossíntese (BEADLE et al., 1973; BOYER, 1976; LUDLOW, 1976).

Surpreendentemente, não existe praticamente informação publicada acerca da magnitude das diferenças entre casa de vegetação e campo para metabolismo de N em milho. TEARE et al. (1974) seguiram a evolução diurna da atividade de NRase em sorgo, em condições de campo. Eles comprovaram que a atividade enzimática incrementou em forma paralela à radiação solar, a despeito da progressiva queda em potencial hídrico foliar, determinada pelo incremento na demanda evapotranspirativa. Somente por volta das 12:00 h, quando **folha** atingiu um valor de - 15 atm (e os estômatos começaram a fechar), a atividade de NRase começou a decrescer à potenciais hídricos de - 13 bars, em ambiente controlado, MORILLA et al. (1973) determinaram um decréscimo de atividade de NRase em plântulas de milho de 75% com respeito a controles mantidos a alto potencial hídrico. Sorgo é mais resistente à seca do que milho (HENZELL et al., 1975; LUDLOW, 1976; HSIAO et al., 1976b), mas como os mecanismos fisiológicos básicos são similares em ambas as espécies, não seria surpreendente se variedades altamente resistentes à seca (como parece ser o caso de Piranão no presente experimento) mostrassem padrões similares ao sorgo em condições de campo.

Da discussão anterior, dois aspectos devem ser destacados:

- 1) Um indicador bioquímico ou fisiológico que mostre uma alta sensibilidade em ambientes artificiais, não deve repetir necessariamente, esta condição em condições de campo.

- 2) O ambiente proporcionado por uma casa de vegeta-

ção pode ser suficiente para separar os efeitos varietais daqueles decorrentes do *stress* hídrico, tal como verificado no presente trabalho. Contudo, no estágio atual do problema, os testes de campo devem constituir uma parte essencial da metodologia de avaliação, pela simples razão de que ainda são pouco conhecidos os fatores que governam as respostas fisiológicas num dado ecossistema.

Finalmente como foi destacado por vários autores (KRAMER, 1974; LANGE et al., 1976; HSIAO et al., 1976a), uma abordagem menos empírica do problema, e uma ativa colaboração entre físicos do solo, fisiologistas, climatologistas e fitotecnistas, poderia resultar numa melhor compreensão das diferenças dos resultados obtidos por pesquisadores básicos de *stress* hídrico e aqueles envolvidos com o estudo do comportamento das plantas no campo.

VI. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, permitem as seguintes conclusões:

1. Os dados relativos à germinação e crescimento de plântulas revelaram diferenças entre variedades que não foram decorrentes dos respectivos pesos iniciais das sementes. Isto evidenciou que em adição ao efeito direto do potencial osmótico, efeitos outros, provavelmente decorrentes da natureza do soluto empregado como *osmoticum* foram responsáveis pelas respostas observadas. Isto resulta em uma séria limitação ao emprego do teste de germinação como método de avaliação da resistência intervarietal ao *stress* hídrico, já que é difícil, sem emprego de testes adicionais, separar ambos os efeitos.

2. Comparando-se as respostas das variedades ao *stress* hídrico na fase de plântula com as obtidas na fase de 6-8 folhas, conclui-se:

- 2.1. A variedade IPEACS III teve uma performance consistentemente inferior em ambas as fases de desenvolvimento.

2.2. A variedade Centralmex mostrou-se superior em percentagem de germinação final e no alongamento da parte aérea, durante a fase de plântula. Inversamente, Piranão que mostrou um comportamento intermediário para estas características, na fase de plântula, mostrou índices superiores de acumulação de matéria seca na fase mais avançada de crescimento.

2.3. Devido as dificuldades envolvidas na interpretação do teste de germinação, é difícil estabelecer se esta inversão na ordem de resistência ao stress observada entre as variedades Piranão e Centralmex, reflete uma diferença real entre elas na fase de plântula.

2.4. Em qualquer caso, os resultados sugerem a inconveniência da extrapolação dos resultados obtidos na fase de plântula para fases de crescimento mais avançadas. Cada fase de crescimento deverá ser avaliada independentemente e sua possível ligação discutida a posteriori.

3. Com relação à resposta a dessecação progressiva do solo em casa de vegetação:

3.1. Embora as condições ambientais tenham flutuado durante os quatro dias do período experimental, o ambiente de casa de vegetação permitiu a separação dos efeitos varietais daqueles decorrentes da dessecação progressiva do solo a um nível significativo para a maioria dos parâmetros estudados.

3.2. O Conteúdo Hídrico Relativo (C.H.R.) mostrou alta variação entre variedades, e foi um indicador mais sensível do stress hídrico vegetal que a variação da umidade do solo.

3.3. A análise do crescimento mostrou ser uma metodologia apropriada para examinar as relações entre acumulação de matéria seca e expansão de área foliar sob condições de stress hídrico. Em particular, a Taxa de Crescimento Relativo (T.C.R.) mostrou ser um parâmetro com maior grau de sensibilidade como indicador que a matéria seca total. A Taxa de Assimilação Líquida (T.A.L.) mostrou uma alta correlação com parâmetros metabólicos.

3.4. A tendência geral de variação dos indicadores metabólicos seguiu estreitamente a seqüência esperada em função da posição de cada indicador com respeito ao processo metabólico do qual participa.

3.4.1. Com relação ao metabolismo de N, notou-se um acúmulo das frações N-amino livre, N-nítrico, N-amoniacal e prolina, e decréscimo no teor de K-proteico e de atividade de Nitrato reductase em resposta à dessecação progressiva do solo. O teor de N-amino livre mostrou-se o mais sensível dos indicadores ligados ao metabolismo de N.

3.4.2. O teor de carboidrato solúvel tendeu a incrementar conforme se desenvolveu o stress hídrico, e constituiu-se em um indicador particularmente sensível a deficits hídricos leves e moderados.

3.4.3. Devido a que, o teor foliar dos indicadores metabólicos usados, neste experimento, podem ser conseqüência de complexos eventos, envolvendo conjuntamente inibição de biosíntese, aumento de hidrólise, e efeitos de translocação, é

improvável que o uso isolado de quaisquer um deles renda informações precisas com respeito a resistência à seca. Entretanto, todos podem constituir, dependendo de sua sede, indicadores mais ou menos precisos de deficiência hídrica em milho.

4. As diferenças entre variedades foram decorrentes de variações no C.H.R., taxas de alongamento foliar, acumulação de matéria seca total, partição de matéria seca entre raiz e parte aérea, relação N-solúvel/N-proteico e no teor de carboidrato solúvel.

4.1. A variedade Piranão manteve durante a dessecação progressiva do solo um maior C.H.R., taxas significativamente superiores de acumulação de matéria seca em raiz e parte aérea, maior relação raiz/parte aérea (este efeito também notado na fase de plântula), maior atividade de nitrato-reductase e uma menor relação N-solúvel/N-proteico que as outras duas variedades.

4.2. Os dados sugerem que, três mecanismos poderiam estar envolvidos na resistência diferencial encontrada entre as variedades: tolerância à desidratação (diferenças em C.H.R.); tolerância a perda de proteínas (diferenças nos teores de N-proteico e nas relações N-solúvel/N-proteico), e incrementos na relação raiz/parte aérea.

Os dois primeiros mecanismos parecem depender de fatores ligados à resistência citoplasmática. O último mecanismo é provavelmente uma expressão de osmorregulação diferencial

dentro da planta, em resposta ao *stress* hídrico. Este processo pode ser dependente do aumento da translocação de carboidratos e compostos nitrogenados da parte aérea para a raiz. É necessário dedicar maior atenção a este problema, com especial ênfase no estudo de padrões de translocação sob condições de deficiência hídrica.

4.3. Foi demonstrada a existência de diferenças varietais para o nível de acumulação de prolina. Piranão, a variedade que mostrou-se mais resistente à seca em função dos diversos indicadores utilizados, acumulou prolina à níveis bastante próximos a IPERCS III, a variedade menos resistente em função desses indicadores. É concluído que, a seleção de plantas resistentes através do emprego isolado deste indicador, pode envolver consideráveis riscos devido a que, ainda estão pouco esclarecidos os eventos fisiológicos básicos que governam a acumulação de prolina. Em particular, se deveria dispor de uma metodologia auxiliar, para separar em forma rápida, do teor total de prolina acumulada, a fração devida a biossíntese de novo da hidrólise proteica.

5. As respostas obtidas no presente experimento não devem ser interpretadas a priori, como um possível padrão de resposta no campo. Experimentos específicos, visando a determinação da sensibilidade, em condições naturais, dos indicadores aqui utilizados, são necessários para quantificar a magnitude das diferenças entre os ambientes naturais e aqueles prevalentes no campo.

VII. RESUMO

Três variedades de milho (*Zea mays* L.), Piranão, Centralmex e IPEACS III, foram submetidas a stress hídrico em duas fases do crescimento vegetativo.

As diferenças na taxa e percentagem final de germinação, alongamento da raiz e do coleóptilo foram avaliadas nas três variedades, quando submetidos a um stress osmótico de -15 atmosferas, usando-se manitol como *osmoticum*. Centralmex mostrou a maior percentagem de germinação final nestas condições e IPEACS III, a menor; Piranão apresentou um comportamento intermediário. Diferenças entre as variedades nos respectivos percentuais de alongamento da raiz e coleóptilo foram notadas ao serem comparadas com seus controles mantidos em água deionizada.

Quando as variedades foram comparadas em um estágio mais avançado de crescimento (6-8 folhas), e o stress hídrico induzido por dessecação progressiva do solo, em casa de vegetação, a variedade IPEACS III mostrou-se severamente afetada,

Piranão, relativamente, a menos afetada, apresentando Centralmex um comportamento intermediário. Neste último estágio de crescimento, fez-se uma comparação da sensibilidade de distintos indicadores metabólicos à deficiência hídrica.

Com relação ao metabolismo de N, foram avaliados os teores foliares de N-nítrico, N-amoniacal, N-amino livre, prolina e N-proteico. No que diz respeito ao metabolismo de carboidratos, avaliou-se o teor foliar de carboidratos solúveis. Foram observados incrementos nos teores de N-amoniacal, N-nítrico, N-amino livre, prolina e carboidratos solúveis. Concomitantemente, observou-se decréscimos para o teor de N-proteico e a atividade de nitrato-reductase. Este padrão geral de variação, em resposta a *stress* hídrico, se expressou em forma diferencial (estatisticamente significativa) entre variedades, indicando que, o ambiente proporcionado pela casa de vegetação foi apropriado para a separação dos efeitos decorrentes do *stress* hídrico daqueles devidos às características varietais.

Os teores de N-amino livre e carboidrato solúvel mostraram uma maior sensibilidade a deficits hídricos moderados.

Em adição aos indicadores metabólicos, realizou-se a análise de crescimento, que mostrou ser um procedimento apropriado para descrever as variações em taxas de acumulação de matéria seca e expansão de área foliar entre as variedades.

Os dados sugeriram que, as diferenças observadas em resistência ao *stress* hídrico entre as variedades podem ser decorrentes de três tipos de efeitos: tolerância à desidrata-

ção (diferenças em C.H.R.), tolerância a perda de proteínas (diferenças nos teores de N-proteico e na relação N-solúvel/N-proteico) e incrementos na relação raiz/parte aérea.

A evolução do teor foliar de prolina foi particularmente observada nos três cultivares, visando-se ligar o seu teor à explicação das diferenças em sensibilidade (ou resistência) ao stress hídrico. Os resultados atualmente obtidos, mostraram que, pelo menos em milho, é necessário um estudo mais detido dos fatores que governam a acumulação deste metabólito, antes de aplicar-se indiscriminadamente este parâmetro como indicador de resistência à seca.

Finalmente, foi destacada a necessidade de experimentação direta no campo, visando a determinação do grau de sensibilidade dos distintos indicadores e a quantificação das diferenças com respeito ao comportamento das variedades em casa de vegetação.

VIII. SUMMARY

A study was made of the effect of water stress on three corn (*Zea mays* L.) cultivars: Piranao, Centralmex and IPEACS III.

Under the effect of a - 15 atm stress (using mannitol as *osmoticum*), Centralmex showed the highest percent germination while IPEACS III showed the lowest. The germination of Piranao seeds fell in between. There also differences in root and coleoptile growths of the three varieties as compared to that of the controls (germinated in demineralized water).

At a more advanced stage of growth (6-8 leaves, plants in pots kept in a greenhouse), the soil-water stress affected the plants differently. IPEACS III continued to be severely affected but Piranao was now the least affected, with Centralmex falling in between.

The effects of water stress upon the plant metabolic patterns resulted in a increase in the leaf content of nitrate-N, free amino-N, ammonia-N, free proline and soluble sugars.

There was on the other hand a reduction in nitrate reductase activity and protein content.

Although the same general metabolic pattern was observed for the three varieties, significant differences could be detected among the varieties. These results indicated that the greenhouse environment was adequate for the study of plant responses to water stress, even enabling the distinction between varietal differences.

The content of free amino-N and soluble sugars in the plant leaves showed a higher sensitivity to moderate water stress than the other indicators. A special attention was given to the study of the increase in free proline levels in the leaves. The elucidation of the factors governing the relative accumulation of this metabolite in corn leaves requires more detailed studies. Only then could proline content be considered a safe indicator of water stress resistance for corn plants.

The plants under water stress were also submitted to growth analysis. This test was very efficient for the study of dry weight and leaf expansion variation among varieties.

The results of this study shows that three main factors are responsible for the plant resistance to water stress, namely:

- a. Tolerance to dehydration (differences in R.W.C.)
- b. resistance to loss in protein (differences in protein-N levels and free-N/protein-N ratios)

c. increase in root/shoot ratios.

The present study shows the necessity of experiments with field grown plants, to check the sensitivity of the various factors studied and to compare the behavior of different corn varieties in the field with that in greenhouse.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, E., HSIAO, T.C. e HENDERSON, D.W., 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiol.*, 48:631-636.
- ALLAWAY, W.G. e MILTHORPE, F.L., 1976. Structure and functioning of stomata in: Water deficits and plant growth. Vol. IV T.T. Kozlowski (Ed.) Academic Press, New York, London.
- ARAD, S. e RICHMOND, A.E., 1976. Leaf cell water and enzyme activity. *Plant Physiol.*, 57:656-658.
- ARNON, I., 1975a. Physiological principles of dryland crop production in: Physiological aspects of dryland farming. U.S. Gupta (Ed.). Applied Science Publishers Ltd., England,
- ARNON, I., 1975b. Mineral nutrition of maize. International Potash Institute. Bern-Worblaufen, Switzerland.
- AUNG, L.H., 1974. Root-shoot relationships in: The plant root and its environment. E.W. Carson (Ed.). University Press of Virginia. Charlottesville.

- BARDZIK, J.M., MARSH Jr., H.V. e HAVIS, J.R., 1971. Effects of water stress on the activities of three enzymes in maize seedlings. *Plant Physiol.*, 47:828-831.
- BARLOW, E.W.R. e BOERSMA, , 1976. Interaction between leaf elongation, photosynthesis and carbohydrate levels of water-stressed corn seedlings. *Agron. J.*, 68:923-927.
- BARLOW, E.W.R., BOERSMA, L. e YOUNG, J.L., 1976a. Root temperature and soil water potential effects on growth and soluble carbohydrate concentration of corn seedlings. *Crop Sci.*, 16:59-62.
- BARLOW, E.W.R., CHING, T.M. e BOERSMA, L., 1976b. Leaf growth in relation to ATP levels in water stressed corn plants. *Crop Sci.*, 16:405-407.
- BARRS, H.D. e WEATHERLEY, P.E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.*, 15:413-428.
- BASSIRI, A., KHOSH-KHUI, M. e ROUHANI, I., 1977. The influences of simulated moisture stress conditions and osmotic substrates on germination and growth of cultivated and wild safflowers. *J. Agri. Sci., Camb.*, 88:95-100.
- BATES, L.S., WALDREN, R.P. e TEARE, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207.
- BEADLE, C.L., STEVENSON, K.R., NEUMAN, H.H., THURTELL, G.W. e KING, K.W., 1973. Diffusive resistance, transpiration and

- photosynthesis is in single leaves of corn and sorghum in relation to leaf water potential. *Can. J. Plant. Sci.*, 53: 537-544;
- BIERHUIZEN, E.J., 1976. Irrigation and water use efficiency. in water and plant life. *Ecological Studies* vol. 19. O. Lange, L. Kappen C.E.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- BLUM, A. e EBERSON, A., 1976. Genotypic responses to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Sci.*, 16:428-431.
- BOGGES, S.F., PALEG, L.G. e ASPINALL, D., 1975. Δ^1 - pyrroline-5-carboxylic acid dehydrogenase in barley, a proline-accumulating species. *Plant Physiol.*, 56:259-262.
- BOGGES, S.F., PALEG, L.G. e ASPINALL, D., 1976. Stress metabolism IX. The significance of end-product inhibition of proline biosynthesis and of compartmentation in relation to stress induced proline accumulation. *Aust. J. Plant Physiol.* 3:503-511.
- BOYER, J.S., 1970a. Leaf enlargement and metabolic rates of corn, soybean and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiol.*, 46:233-235.
- BOYER, J.S., 1970b. Differing sensitivity of photosynthesis to low leaf water potentials in corn and soybean. *Plant Physiol.*, 46:236-239.
- BOYER, J.S., 1976. Water deficits and photosynthesis. in: Wa-

- ter deficits and plant growth. Vol IV. T.T. Kozlowski (Ed.) Academic Press, New York, London.
- BOYER, J.S. e McPHERSON, H.G., 1975. Physiology of water deficits in cereal grains. *Advan. Agron.*, 27:1-23.
- BREMNER, J.M., 1965. Inorganic forms of nitrogen. In: *Methods of soil analysis*, Vol 2. C.A. Black (Ed.) Am. Soc. Agron. n° 9, Madison, Wisconsin.
- BREMNER, J.M. e KEENEY, D.R., 1965. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta.*, 32:485-495.
- BROWN, R.H. e BLASER, R.E., 1970. Soil moisture and temperature effects on growth and soluble carbohydrates of orchardgrass (*Dactylis glomerata*). *Crop Sci.*, 10:213-21.
- CAMPOS, A.C. e TOZANI, R., 1973. Reações de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) ao clorato de potássio. *Arq. Univ. Fed. Rural Rio de Janeiro.*, 3:31-37.
- CATSKY, J., 1974. Direct methods of water content determinative. In: *Methods of studying plant water relations. Ecological studies*. Vol 9. B. Slavik (Ed.). Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, New York.
- CHEN, D.; KESSLER, B. e MONSELISE, S.P., 1964. Studies on water regime and nitrogen metabolism of citrus seedling grown under water stress. *Plant Physiol.*, 39:379-386.
- CHU, T.M.; ASPINALL, D. e PALEG, L.G., 1974. Stress metabolism. XI. Temperature stress. and the accumulation of proline in

- barley and radish. Aust. J. Plant Physiol. 1:87-97.
- CHU, T.M.; ASPINALL, D. e PALEG, L.G., 1976a. stress metabolism VII. Salinity and proline accumulation in barley. Aust. J. Plant Physiol., 3:219-228.
- CHU, T.M.; ASPINALL, D. e PALEG., L.G., 1976b. Stress metabolism VIII. Specific ion effects on proline accumulation in barley. Aust. J. Plant Physiol., 3:503-511.
- COBB III, B.F.; CONTE, F.S. e EDWARDS, M. A., 1975. Free amino acids and osmoregulation in Penaeid shrimp. J. Agric. Food. Chem., 23:1170-1173.
- COOPER, J.P., 1970. Potential production and energy conversion in temperate and tropical grasses. Herb. Abstr., 40:1-15.
- COOPER, C.L. e MacDONALD, P.W., 1970. Energetics of early seedling growth in corn (*Zea mays* L.). Crop. Sci., 10:136-139.
- CRAM, W.J., 1976. Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In: Encyclopedia of plant physiology, New Series, vol. 2. Part A. U. Luttge e M.G. Pitman (Ed.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, New York.
- CROY, L.I. e HAGEMAN, R.H., 1970. Relationship of nitrate reductase activity to grain protein production in wheat. Crop. Sci., 10:280-285.
- CUTLER, J.M. e RAINS, D.W., 1977. Effects of irrigation history on responses of cotton to subsequent water stress. Crop. Sci., 17:329-334.

- DAINTY, J., 1976. Water relations of plants cells. in: Encyclopedia of plant physiology. New Series. Vol 2. Part A. U. Lutge e M.G. Pitman (Ed.). Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York.
- DECKARD, E.L.; LAMBERT, R.J. e HAGEMAN, R.H., 1973. Nitrate reductase activity in corn leaves as related to yields of grain and grain protein. Crop. Sci., 13:343-350.
- DENMEAD, O.T. e SHAW, R.H., 1960. the effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. Agron. J., 52:272-274.
- DILLEY, D.R.; HEGGESTAD, H.E.; POWERS, W.L. e WEISER, C.J., 1975. Environmental stress. in: Crop productivity. Research imperatives. A.W. Brown; T.C. Byerly; M. Gibbs e A.San Pietro (Ed.). Michigan Agric. Sta., Charles Kettering Foundation.
- DONALD, C.M., 1963. Competition among crop and pasture plants. Advan. Agron., 15:1-118.
- DOVE, L.D., 1969. Phosphate absorption by air-stressed root systems. Planta, 86:1-9.
- DOWNEY, L.A. e MILLER, J.W., 1971. Rapid measurements of relative turgidity in maize (*Zea mays* L.). New Phytol., 70: 555-560.
- DRAPER, S.R., 1975. Aminoacid changes associated with the development of cold hardiness in perennial ryegrass. J. Sci. Fd. Agric., 26:1171-1176.
- ECK, H.V. e HAGEMAN, R.H., 1974. Nitrate reductase activity in

- sudangrass cultivars. *Crop Sci.*, 14:283-287.
- ECK, H.V.; GILMORE, E.C.; FERGUSON, D.B. e WILSON, G.C., 1975. Heritability of nitrate reductase and cyanide levels in seedlings of grain sorghum cultivars. *Crop Sci.*, 15:421-424.
- EILRICH, G.L. e HAGEMAN, R.H., 1973. Nitrate reductase activity and its relationship to accumulation, of vegetative and grain nitrogen in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.*, 13:59-65.
- FANOUS, M.A., 1967. Test for drought resistance in Pearl millet (*Pennisetum typhoideum*). *Agron. J.*, 59:337-340.
- FERNANDES, M.S., 1974. Effects of light and temperature on the nitrogen metabolism of tropical rice. Ph.D. Thesis, Michigan State University, 80p.
- FERNANDES, M.S., 1977. Absorção e metabolismo de nitrogênio em plantas. Instituto de Agronomia da U.F.R.R.J., Boletim nº 1 (no prelo).
- FRANCIS, C.A.; RUTGER, J.N. e PALMER, A.F.E., 1969. A rapid method for plant leaf área estimation in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, 9:537-539.
- GALVAO, J.D., 1974. Comportamento do milho Piranão (Braquíptico-2) e de milhos de porte normal em diferentes níveis de nitrogênio e populações de plantas. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutor. Piracicaba, São Paulo., 93p.

- GARDNER, W.H., 1965. Water Content. in: Method of soil analysis. Vol I., C.A. Black (Ed.). Am. Soc. Agron. N° 9., Madison, Wisconsin.
- GATES, C.T., 1964. The effect of water stress on plant growth. J. Australian Inst. Agri. Sci., 30:3-22.
- GATES, C.T., 1968. Water deficits and growth of herbaceous plants. in: Water deficits and plant growth. Vol II., T. T. Kozlowski (Ed.). Academic Press, New York, London.
- GREENWAY, H. e LEAHY, M., 1970. Effects of rapidly and slowly permeating osmotica on metabolism. Plant Physiol., 46: 259-262.
- GILES, K.L.; BEARDSSELL, M.F. e COHEN, D., 1974. Cellular and ultrastructural changes in mesophyll and bundle sheath cells of maize in response to water stress. Plant Physiol., 54:208-212.
- GILES, K.L.; COHEN, D. e BEARDSSELL, M.F., 1976. Effects of water stress on the ultrastructure of leaf cells of sorghum bicolor. Plant Physiol., 57:1-14.
- GOODMAN, P.J.; HUGHES, D.M.; FOTHERGILL, M. e ELLIS, P.B., 1974. Genetic variation in the activity of nitrate reductase in lolium. Plant Soil., 41:435-443.
- HANSON, A.D.; NELSEN, C.A. e EVERSON, E.H., 1977. Evaluation of Free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. Crop Sci., 17: 722-726.

- HEBER, U. e SANTARIUS, K.A., 1976. Water stress during freezing. in: Water and plant life. Ecological Studies. Vol 19. O. Lange; L. Kappen e E.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.
- HELMERICK, R.H. e PFEIFER, R.P., 1954. Differential varietal responses of winter wheat germination and early growth to controlled limited moisture conditions. Agron. J., 46:560-562.
- HENZELL, R.G.; MCCREE, K.J.; van BAVEL, C.H.M. e SCHERTZ, K.F., 1975. Method for screening sorghum genotypes for stomatal sensitivity to water deficits. Crop Sci., 15:516-518.
- HILLEL, D., 1972. Soil moisture and seed germination. in: Water deficits and plant growth. Vol III, T.T. Kozlowski, (Ed.). Academic Press., New York and London.
- HSIAO, T.C., 1970. Rapid changes in levels of polyribosomes in *Zea mays* in response to water stress. Plant Physiol., 46: 281-285.
- HSIAO, T.C., 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol., 24:519-570.
- HSIAO, T.C. e ACEVEDO, E., 1974. Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance. Agric. Meteorol., 14:59-84.
- HSIAO, T.C.; ACEVEDO, E.; FERERES, E. e HENDERSON, D.W., 1976a. Stress metabolism. Water stress, growth and osmotic adjustment. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., 273:479-500.

- HSIAO, T.C.; FERERES, E.; ACEVEDO, E. e HENDERSON, D.W., 1976b. Water stress and dynamics of growth and yield of crop plants. In: Water and plant life. Ecological studies. Vol 19., O. Lange, L. Kappen e E.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg; New York.
- HUFFAKER, R.C.; RADIN, T.; KLEINKOPF, G.E. e COX, E.L., 1970. Effects of mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of the carboxylative phase of photo-synthesis in barley. *Crop Sci.*, 10:471-474.
- HUFFAKER, R.C. e PETERSON, L.W., 1974. Protein turnover in plants and possible means of its regulation. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25:363-389.
- HURD, E.A.; 1976. Plant breeding for drought resistance. In: Water deficits and plant growth. Vol IV. T. T. Kozlowski (Ed.). Academic Press, New York, San Francisco, London.
- HURD, E.A. e SPRATT, E.D., 1975. Root patterns in crops as related to water and nutrient uptake. In: Physiological aspects of dryland farming. U.S. Gupta (Ed.). Applied Science Publishers Ltd., England.
- ITAI, C. e BENZONI, A., 1976; Water stress and hormonal response. In: Water and plant life. Ecological Studies, Vol 19, O.L. Lange, L. Kappen e E.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- JACCOUD, A. e CASTRO, A.F. de, 1974. Curvas de caracterização de umidade dos solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Município de Itaguaí. *Anais do*

- Décimo Quarto Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Santa Maria, RS., pp.150-178.
- JAWORSKI, E.G., 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 43:1274-1279.
- JOHNSON, D.A. e BROWN, R.W., 1977. Psychrometric analysis of turgor pressure response: a possible technique for evaluating plant water stress resistance. *Crop Sci.*, 17:507-510.
- JUGENHEINER, R.W., 1976. Corn: improvement, seed production, and uses. John Wiley & Sons, New York-London, Sydney-Toronto.
- KEMBLE, A.R. e MacPHERSON, H.T.; 1954. Liberation of amino acids in perennial ryegrass during wilting. *Biochem. J.*, 58: 46-50.
- KILEN, T.C. e ANDREW, R.H., 1969. Measurement of drought resistance in corn. *Agron. J.*, 61:669-672.
- KLUGE, M., 1976. Carbon and nitrogen metabolism under water stress. In: Water and plant life. Ecological Studies Vol. 19, O.L. Lange; L. Kappen e E.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg, New York.
- KOEPPE, D.E.; MILLER, R.J. e BELL, D.T., 1973. Drought-affected mitochondrial processes as related to tissue and whole plant responses. *Agron. J.*, 65:566-569.
- KOZLOWSKI, T.T. (Ed.), 1972. Water deficits and plant growth III. Plant responses and control of water balance. Academic Press, New York and London.

- KOZLOWSKI, T.T. (Ed.), 1976. Water deficits and plant growth. IV. Soil water measurement, plant responses, and breeding for drought resistance. Academic Press, New York, San Francisco, London.
- KRAMER, P.J., 1974. Fifty years of progress in water relations research. *Plant Physiol.*, 54:463-471.
- KYLIN, A. e QUATRANO, R.S., 1975. Metabolic and biochemical aspects of salt tolerance. In: *Plants in saline environments. Ecological studies. Vol 15.* A. Poljakoff-Mayber e J. Gale (Ed.). Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin.
- LARCHER, W., 1975. *Physiological plant ecology.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LANGE, O.L.; KAPPEN, L. e SCHULZE, L.D. (Ed.), 1976. *Water and plant life. Problems and modern approaches. Ecological studies. Vol 19.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LARQUE-SAAVEDRA, A. e WAIN, R.L., 1974. ABA levels in relation to drought tolerance in varieties of *Zea mays* L., *Nature*, 251:716-717.
- LARSON, K.L., 1975. Drought injury and resistance of crop plants. In: *Physiological aspects of dryland farming.* U. S. Gupta (Ed.). Applied Science Publishers Ltd., England.
- LEVITT, J., 1972. *Responses of plants to environmental stresses.* Academic Press, New York, San Francisco, London.
- LUDLOW, M.M., 1976. Ecophysiology of C₄ grasses. In: *Water*

- and plant life. Ecological studies. Vol 19. O.L. Lange; L. Kappen e L.D. Schulze (Ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- MACHADO, R.C.R.; RENA, A.B. e VIEIRA, C., 1976. Efeito da desidratação osmótica na germinação de sementes de vinte cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ceres*, 23: 310-320.
- MACNICOL, P.T., 1976. Rapid metabolic changes in the wounding response of leaf disc following excision. *Plant Physiol.*, 57:80-84.
- MADRUGA, L.A.N. e RENA, A.B., 1977. Variações na concentração de prolina livre em folhas de plantas intactas de cinco cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a desidratação. *Ceres.*, 24:226-236.
- MAGNAVACA, R., 1976. Diretrizes do programa de pesquisa de milho do Centro National de Pesquisa de milho e sorgo. Ata da XXI Reunião Técnica Anual do Milho e V do Sorgo Granífero. Instituto de Pesquisas Agronômicas, R.S.
- MARANVILLE, J.W. e PAULSEN, G.M., 1970. Alteration of carbohydrate composition of corn (*Zea mays* L.) seedlings during moisture stress. *Agron. J.*, 62:605-608.
- MATTAS, R.E. e PAULI, A.W., 1965. Trends in nitrate reduction and nitrogen fractions in Young corn (*Zea mays* L.) plants during heat and moisture stress. *Crop Sci.*, 5:181 - 184.

- McCUINNIES, J.W., 1960. Effects of moisture stress and temperature on germination of six range grasses. *Agron. J.*, 52: 159-162.
- McMICHEL, B.L. e ELMORE, C.D., 1977. Proline accumulation in water stressed cotton leaves. *Crop Sci.*, 17:905-908.
- McPHERSON, H.G. e BOYER, J.S., 1977. Regulation of grain yield by photosynthesis in maize subjected to a water deficiency. *Agron. J.*, 69:714-718.
- MEASURES, J.C., 1975. Role of aminoacids in osmoregulation of non-halophilic bacteria. *Nature*, 257:398-400.
- MICHEL, B.E., 1970. Carbowax 6000 compared with mannitol as a suppressant of cucumber hypocotyl elongation. *Plant Physiol*, 45:507-509.
- MILLAN, A.J.; SILVA, J.C. e GALVÃO, J.D., 1977a. Herança da velocidade de germinação na variedade de milho "Piranão". *Ceres*, 24: 278-288.
- MILLAN, A.J.; SILVA, J.C. e GALVAO, J.D., 1977b. Seleção visando a tolerância à salinidade causada por sulfato de amônio, na variedade de milho "Piranão". *Ceres*, 24:386-393.
- MIRANDA, L.T. de., 1972. A característica "latência" do milho (*Zea mays* L.) e suas possibilidades no melhoramento. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor. Piracicaba, São Paulo., 93p.
- MORILLA, C.; BOYER, J.S. e HAGEMAN, R.H., 1973. Nitrate reduc-

- tase activity-and polyribosomal content of corn (*Zea mays* L.) having low leaf water potentials. *Plant. Physiol.*, 51: 817-824.
- NAYLOR, A.W., 1972. Water deficits and nitrogen metabolism. In: water deficits and plant growth. Vol III, T.T. Kozlowski (Ed.). Academic Press, New York and London.
- NIR, I.; POLJAKOFF-MAYBER, A. e KLEIN, S., 1970. The effect of water stress on the mitochondria of root cells. *Plant Physiol.*, 45:173-177.
- NOUR, A.M. e WEIBEL, D.E., 1978. Evaluation of root characteristics in grain sorghum. *Agron. J.*, 70:217-218.
- PAL, U.R.; JOHNSON, R.R. e HAGEMAN, R.H., 1976. Nitrate reductase activity in heat (drought) tolerant and intolerant maize genotypes. *Crop Sci.*, 16:775-780.
- PÁLFI, G. e JUÁSZ, J., 1971. The theoretical basis and practical application of a new method of selection for determining water deficiency in plants. *Plant Soil*, 34:503-507.
- PARKER, J., 1972. Protoplasmic resistance to water deficits. In: Water deficits and plant growth. Vol III. T.T. Kozlowski (Ed.). Academic Press. New York and London.
- PARMAR, M.T. e MOORE, R.P., 1968. Carbowax 6000, mannitol, and sodium chloride for simulating drought conditions in germination studies of corn (*Zea mays* L.) of strong and weak vigor. *Agron. J.*, 60:192-195.
- PEARCE, R.B.; MOCK, J.J. e BAILEY, T.B., 1975. Rapid method

- for estimating leaf area per plant in maize. *Crop Sci.*, 15: 691-694.
- PLAUT, Z., 1973. The effect of soil moisture tension and nitrogen supply on nitrate reduction and accumulation in wheat seedlings. *Plant Soil*, 38:81-94.
- PORTAS, C.A.M. e TAYLOR, H.M., 1976. Growth and survival of Young plant roots in dry soil. *Soil Sci.*, 121:170-175.
- RADFORD, P.J., 1967. Growth analysis formulae their use and abuse. *Crop Sci*, 7:171-175.
- RAMOS, D.P.; CASTRO, A.F. de e CAMARGO, .M.N., 1973. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. *Pesq. agrop. bras.*, Sér. Agron., 8:1-27.
- RENA, A.B. e MASCIOTTI, G.Z., 1976. Efeito do deficit hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio e o crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ceres* , 23:288-301.
- RICHARDS, L.A. e WADLEIGH, C.H., 1952. Soil water and plant growth. *Agronomy*. Vol II. B.T. Shaw, (Ed.) Academic Press Inc., publishers. New York.
- ROBINS, J.S. e DOMINGO, C.E., 1953. Some effects of severe soil moisture deficits at specific stages in corn. *Agron.J.*, 45:612-621.
- RUSSEL, R.S., 1977. Plant root systems: their function and interaction with the soil. McGraw-Hill Book Company (UK) Limited, London.

- SHRRMA, M.L., 1973. Simulation of drought and its effect on germination of five pasture species. *Agron. J.*, 65:982-987.
- SINGH, T.N.; PALEG, L.G. e ASPINALL, D., 1973. Stress metabolism III. Variations in response to water deficit in the barley plant. *Aust. J. biol. Sci.*, 26:65-76.
- SLATYER, R.O., 1969. Physiological significance of internal water relations to crop yield. In: *Physiological aspects of crop yield*. J.D. Eastin; F.A. Haskins; C.Y. Sullivan e C. H. M. Van Bavel (Ed.), *Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am. Madison, Wisconsin*.
- SLAVIK, B. (Ed.), 1974. *Methods of studying plant water relations. Ecological studies. Vol 9. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York.*
- STEWART, C.R.; MORRIS, C.L. e THOMPSON, F.L., 1966. Changes in aminoacid content of excised leaves during incubation. II. Role of sugar in the accumulation of proline in wilted leaves. *Plant Physiol.*, 41:1585-1590.
- SULLIVAN, C.Y. e EASTIN, J.D., 1974. Plant physiological responses to water stress. *Agric. Meteorol.*, 14:113-127.
- TEARE, I.D.; MANAM, R. e KANEMASU, E.T., 1974. Diurnal and seasonal trends in nitrate reductase activity in field grown sorghum plants. *Agron. J.*, 66:733-736.
- TODD, G.W., 1972. Water deficits and enzymatic activity. In: *Water deficits and plant growth. Vol III. T. T. Kozlowski (Ed.). Academic Press. New York and London.*

- TRAVIS, R.L.; HUFFAKER, R.C. e KEY, J.L., 1970. Light-induced development of polyribosomes and the induction of nitrate reductase in corn leaves. *Plant Physiol.*, 46:800-805.
- TROLL, W. e LINDSLEY, J., 1955. A photometric method for the determination of proline. *J. biol. Chem.*, 215:655-660.
- TURNER, N.C., 1974. Stomatal behavior and water status of maize, sorghum and tobacco under field conditions. *Plant Physiol.*, 53:360-365.
- VIEIRA DA SILVA, J., 1976. Water stress, ultrastructure and enzymatic activity. In: water and plant life. Ecological studies. Vol 19. O.L. Lange, L. Kappen e E.D. Schulze (Ed.) Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York.
- VIETS, Jr., F.G., 1971. Effective drought control for successful dryland agriculture. In: Drought injury and resistance in crops. K.L. Larson e J.D. Eastin (Ed.). *Crop Sci. Soc. Am. Special publication number 2*. Madison, Wisconsin.
- WALDREN, R.P. e TEAE, I.D., 1974. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant Soil*, 40:689-692.
- WILLIAMS, T.V.; SNELL, R.S. e ELLIS, J.F., 1967. Methods of measuring drought tolerance in corn. *Crop Sci.*, 7:179-182.
- WINTER, E.J., 1974. Water, soil and the plant. The MacMillan Press Ltd., London.
- WOLF, J.M., 1975. Water constraints to corn productivity in Central Brazil. Ph.D. Thesis. Cornell University, Ithaca,

New York, 199p.

- WRIGHT, L.N., 1904. Drouth tolerance - Program controlled environmental evaluation among range grass genera and species. *Crop Sci.*, 4:472-474.
- WRIGHT, L.N., 1971. Drought influence on germination and seedling emergence. In: Drought injury and resistance in crops. K.L. Larson e J.D. Eastin (Ed.). *Crop Sci. Soc. Am. Special publication number 2*. Madison, Wisconsin.
- WRIGHT, L.; WRENCH, P.; HINDE, R.W. e BRADY, C.J., 1977. Proline accumulation in tubers of Jerusalem artichoke. *Aust. J. Plant Physiol.*, 4:51-60.
- YEM, E.W. e WILLIS, A.J., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by antrone. *Biochem. J.*, 57: 508-514.
- YEM, E.W. e COCKING, E.C., 1955. The determination of aminoacids with ninhydrin. *Analyst*, 80:209-213.
- YOUNIS, M.A.; STICKLER, F.C. e SORENSEN, E.L., 1963. Reactions of seven alfafa varieties under simulated moisture stresses in the seedling stage. *Agron. J.*, 55:177-182.
- YOUNIS, M.A.; PAULI, A.W.; MITCHELL, H.L. e STICLER, F. C., 1965. Temperature and its interaction with light and moisture in nitrogen metabolism of corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Crop Sci.*, 5:321-326.
- ZIESERL, J.F.; RIVENBARK, W.L. e HAGEMAN, R.H., 1963. Nitrate reductase activity protein content, and yield of four maize hybrids at varying plant populations. *Crop Sci.*, 3:27-32.