

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FENOTIPAGEM PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM EUCALIPTO**

Hélio Sandoval Junqueira Mendes
Biólogo

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FENOTIPAGEM PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM EUCALIPTO**

Hélio Sandoval Junqueira Mendes

**Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula
Coorientadora: Profa. Dra. Nádia Figueiredo de Paula**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2015

Mendes, Helio Sandoval Junqueira

M538f

Fenotipagem para estudos de tolerância a deficiência hídrica em eucalipto / Hélio Sandoval Junqueira Mendes. -- Jaboticabal, 2015

xi, 67p.: il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Rinaldo Cesar de Paula

Banca examinadora: Sérgio Valiengo Valeri, Miguel Luis Menezes de Freitas, Bruno Ettore Pavan, Gustavo Vitti Moro

Bibliografia

1. Tamanho de vasos. 2. Açúcares solúveis totais. 3. Estresse hídrico. 3. Eucalipto I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.67:634.0.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FENOTIPAGEM PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM EUCALIPTO

AUTOR: HÉLIO SANDOVAL JUNQUEIRA MENDES

ORIENTADOR: Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA

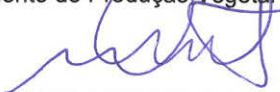
CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. NADIA FIGUEIREDO DE PAULA


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS) , pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. GUSTAVO VITTI MÔRO
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. SERGIO VALIENGO VALERI
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS
Instituto Florestal de São Paulo / São Paulo/SP


Prof. Dr. BRUNO ETTORE PAVAN
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Data da realização: 03 de fevereiro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Hélio Sandoval Junqueira Mendes – nascido em 6 de Maio de 1985 em Guará, SP, é Biólogo formado pela UNESP – Ilha Solteira - SP em 2008. Concluiu o Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, em fevereiro de 2011, no qual foi bolsista da CAPES. Em março do mesmo ano iniciou o Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) sendo bolsista da CAPES de março de 2011 a março de 2014.

DEDICATÓRIA

A minha filha Bárbara.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de vida.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula pela orientação, paciência e pelo exemplo de profissionalismo.

À Profa. Dra. Nádia Figueiredo de Paula pela coorientação.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Sérgio Valiengo Valeri, Prof. Dr. Miguel Luis Menezes de Freitas, Prof. Dr. Gustavo Vitti Moro e prof. Dr. Bruno Ettore Pavan, pelas sugestões fundamentais para melhoria deste trabalho.

À minha Esposa Deise, pela ajuda e incentivo.

Aos amigos e companheiros de curso e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT:	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Experimento 1: Comportamento de híbridos de eucalipto sob duas condições de disponibilidade hídrica em cilindros de PVC	11
3.1.2 Avaliações de crescimento	13
3.1.3 Avaliações fisiológicas	13
3.1.4 Análises bioquímicas	14
3.1.5 Análise dos dados	15
3.2 Experimento 2: Comportamento fisiológico de clones de eucalipto sob deficiência hídrica progressiva em vasos de diferentes tamanhos	15
3.2.1 Tratamentos	15
3.2.2 Avaliações fisiológicas	17
3.2.3 Análise dos dados	17
3.3 Experimento 3: Comportamento de clones de eucalipto sob dois regimes hídricos em dois tamanhos de vasos.....	18
3.3.1 Tratamentos.....	18
3.3.2 Avaliações	19
3.3 Análise dos dados	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Experimento 1: Comportamento de híbridos de eucalipto sob duas condições de disponibilidade hídrica em cilindros de PVC	21
4.2 Experimento 2: Comportamento fisiológico de clones de eucalipto sob deficiência hídrica progressiva em vasos de diferentes tamanhos.	31
4.3 Experimento 3: Comportamento de clones de eucalipto sob dois regimes hídricos em dois tamanhos de vasos.....	35
4.3.1 Desempenho dos clones por meio de características bioquímicas e fisiológicas..	35
4.3.2 Desempenho dos clones por meio de características de crescimento.....	45

4.3.3 Diferenciação dos clones de eucalipto quanto às características de crescimento, fisiológicas e bioquímicas nos experimentos II e III	54
5 CONCLUSÕES	55
6 REFERÊNCIAS	56

FENOTIPAGEM PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM EUCALIPTO

RESUMO – A cultura do eucalipto é de grande importância para o setor florestal brasileiro, constituindo-se numa excelente opção madeireira para diversos usos. Nos últimos anos, o cultivo do eucalipto tem-se expandido para regiões com altos índices de deficiência hídrica, impondo-se um novo desafio para melhoristas e silvicultores que é a recomendação de genótipos tolerantes à seca. Com isto, objetivou-se neste trabalho avaliar diferentes formas de imposição de deficiência hídrica em eucalipto, proporcionadas pela combinação de tipos de vasos e regimes de irrigação, buscando-se avançar nos métodos de fenotipagem em estudos de tolerância à seca. Para estudar as alterações fisiológicas, bioquímicas e no crescimento de mudas de clones de *Eucalyptus* submetidos a diferentes condições de disponibilidade hídrica, foram conduzidos três experimentos. No primeiro experimento em recipientes cilíndricos de PVC sob dois regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados e R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha) e três híbridos de eucalipto (H1 e H2 - híbridos de *Eucalyptus urophylla* X *E. tereticornis* e H3 - híbrido de *E. urophylla* X *E. brassiana*) foram avaliadas as seguintes características: a) crescimento: altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, matéria seca de folhas, de caule + ramos, de raízes, da parte aérea e total, relação raiz/parte aérea; b) fisiológicas: taxas de assimilação líquida, condutância estomática, transpiração, potencial hídrico, danos ao sistema de membranas, conteúdo relativo de água; c) bioquímicas: teores de açúcares redutores e açúcares solúveis totais em folhas e raízes. No segundo experimento acompanhou-se a sobrevivência de cinco clones de eucalipto, sendo quatro clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (G1, G2, G3 e G5) e um de *E. urophylla* (G4), após a suspensão da irrigação, em vasos de diferentes tamanhos (3,6 L, 8 L, 25 L e 100 L). Foram avaliadas as trocas gasosas e contabilizado o intervalo de tempo para a morte dos clones. No terceiro experimento foram utilizados vasos de dois tamanhos (8 e 25 L), dois regimes de irrigação (os mesmos do experimento 1) e os cinco clones do segundo experimento, sendo avaliadas as mesmas características bioquímicas, de crescimento e fisiológicas do experimento 1. Observou-se que a deficiência hídrica ocasionou alterações em todas as características avaliadas nos genótipos de eucalipto. Os genótipos apresentaram diferenças nas características fisiológicas e de crescimento que resultaram em maior ou menor grau de tolerância. A condutância estomática, conteúdo relativo de água, potencial hídrico foliar, danos ao sistema de membranas e relação raiz/parte aérea foram eleitas para fenotipagem. Recomenda-se o uso de vasos de 25 L para estudos de tolerância à seca em eucalipto, pois proporcionam melhores resultados quanto a velocidade e severidade da deficiência hídrica. Para utilização de vasos menores volumes deve-se reduzir o tempo de condução do experimento e ciclos de irrigação.

Palavras-chave: tamanho de vasos, açúcares solúveis totais, açúcares redutores, estresse hídrico.

PHENOTYPING FOR STUDIES OF TOLERANCE TO WATER DEFICIENCY AT EUCALYPT

ABSTRACT:- The eucalyptus culture has great importance for the Brazilian forestry sector, being an excellent timber option for many purposes. Over recent years, the eucalyptus cultivation has expanded to regions with high levels of water deficit, imposing a new challenge for breeders and foresters that is recommendation of drought resistant genotypes. Thus, this work aim to evaluate the imposition of different ways of water stress on eucalypt, provided by types of pots and irrigation schemes combination, in order to advance in phenotyping methods in drought tolerance studies. Therefore, changes in *Eucalyptus* clones seeding physiological, biochemical and growth under different water availability conditions were studied. Three experiments were conducted: the first was conducted in cylindrical recipients of PVC under two irrigation regimes (R1 – alternate day and R2 - interruption of watering until visible wilting occurred) and three hybrids (H1 and H2 - *Eucalyptus urophylla* x *E. tereticornis* and H3 - hybrid *E. urophylla* x *E. brassiana*). Were evaluated in this experiment the following aspects: a) growth: height, stem diameter, number of leaves, leaf area, dry mass of leaves of stem + branches, root, aerial part, total and root/aerial part ratio; b) physiological: net assimilation rates, stomatal conductance, transpiration, water potential, membrane system damage, relative water content; c) biochemical: reducer and total soluble sugars content in leaves and roots. In the second experiment was monitored the survival of five clones of eucalypt (four hybrids of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* – C1, C2, C3 and C5) and one clone of *E. urophylla* (C4): after watering interruption, in different sizes pots (3,6 L, 8 L, 25 L and 100 L). The gas exchange was evaluated and the hybrids death time delay counted. The third experiment was performed in two sizes pots (8 and 25 L), two irrigation schemes (the same as in the first experiment – R1 and R2) and the five genotypes from the second experiment, evaluating the same biochemical, growth physiological aspects of first experiment. It was observed that the water stress caused changes in the evaluated aspects in genotypes *Eucalyptus*. The genotypes presented differences in physiological and growth aspects which resulted in greater or lower degree of tolerance. The stomatal conductance, relative water content, leaf water potential, damage in the membrane system and root/aerial part ratio were elected to phenotyping. It is recommended the use pots bigger than 25 L for drought tolerance studies in *Eucalyptus*, as they provide better results as the speed and severity of water stress. For small pots volumes use, it should reduce the conduction time of the experiment and irrigation cycles.

Keywords: size pots, total soluble sugars, reducing sugars, water stress

1 INTRODUÇÃO

A cultura do eucalipto é de grande importância para o setor florestal brasileiro. Por apresentar crescimento rápido e boa adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras, o eucalipto torna-se uma excelente opção madeireira para produção de celulose e papel, bioenergia, produtos sólidos e para recuperação de áreas degradadas. Nos últimos anos, a expansão da cultura tem-se dado em regiões com altos índices de deficiência hídrica, o que limita a produtividade, impondo novos desafios às áreas de melhoramento florestal e silvicultura para recomendação de genótipos com bom desempenho nestas condições.

As atuais projeções das mudanças climáticas preveem que a escassez de água e a incidência de altas temperaturas irão aumentar em muitas regiões do globo, ocasionando, também, a expansão de zonas áridas na terra (MISSON et al., 2010).

Assim, é importante a integração de diferentes linhas de pesquisas a fim de identificar e superar as limitações genéticas e agronômicas das culturas, em relação ao crescimento e a produtividade, em ambientes desfavoráveis, particularmente os sujeitos à seca (CHAVES; DAVIES, 2010). Portanto, a busca por cultivares tolerantes à seca e o entendimento dos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e de crescimento, utilizados pelas plantas para tolerar essa condição é uma das grandes preocupações da comunidade científica.

As primeiras respostas fisiológicas das plantas à deficiência hídrica é a queda na condutância estomática e na fotossíntese, devido ao fechamento dos estômatos e, conseqüentemente, a redução na fixação de carbono resultando em menor crescimento. As alterações morfológicas estão entre as principais modificações visíveis das plantas sob deficiência hídrica, a exemplo da redução da área foliar, senescência e queda de folhas (PAULA; PAULA; MARINO, 2012).

Em situações de estresse hídrico, ocorre diminuição significativa na eficiência da fotossíntese e, assim, redução no fornecimento de açúcares solúveis (sacarose, glicose e frutose) para suprir tecidos. Em condições de privação de açúcar, alterações fisiológicas e bioquímicas substanciais ocorrem para sustentar a

respiração e outros processos metabólicos (JORNET et al., 1986; YU, 1991). Deste modo, mudas em fases iniciais de desenvolvimento, são mais vulneráveis a flutuações de açúcares solúveis e constituem excelente material para estudo de diferentes estresses ambientais (ROSA et al., 2009)

De acordo com Paula, Paula e Marino (2012), os programas de melhoramento florestal conduzidos no Brasil foram direcionados prioritariamente para as características de crescimento e, mais recentemente, para qualidade da madeira. Assim, apesar dos grandes avanços no melhoramento do eucalipto, ainda é escasso o conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e de crescimento associados à tolerância à seca.

Para o estudo e identificação corretos dos mecanismos de tolerância à seca e uso destes em programas de melhoramento, o processo de fenotipagem deve ser o mais criterioso e preciso possível. Como trabalhar com condições controladas em campo é praticamente impossível, a maioria dos estudos de tolerância à seca é conduzida em condições semicontroladas de casa de vegetação, usando-se vasos e regimes diferenciados de disponibilidade hídrica às plantas. Busca-se, com isto, garantir o isolamento do efeito que se pretende estudar e relacionar os resultados obtidos com o que seria encontrado em condições de campo.

Isto não é uma tarefa fácil, de forma que a busca por processos precisos de fenotipagem é, atualmente, uma das grandes preocupações dos melhoristas de plantas, de uma forma geral. Com isto, busca-se a melhor caracterização de genótipos quanto ao comportamento sobre deficiência hídrica e a elucidação dos mecanismos de tolerância à seca.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes formas de imposição de deficiência hídrica em eucalipto, proporcionadas pela combinação de tipos de vasos e regimes de irrigação, buscando-se avançar nos métodos de fenotipagem em estudos de tolerância à seca. Para tanto, foram estudadas as alterações fisiológicas, bioquímicas e no crescimento de mudas de clones de *Eucalyptus* submetidos a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A área de árvores plantadas no mundo é de 264 milhões de hectares e representa 7% de todas as florestas globais e 22% das florestas destinadas à exploração comercial. A maior parte da área de plantios de árvores (61%) localiza-se na China, Índia e Estados Unidos. No Brasil, existem 7,6 milhões de hectares de árvores plantadas para fins industriais (IBÁ, 2014).

Para atender a crescente demanda por produtos de base florestal, a área com florestas plantadas para fins comerciais tem aumentado gradativamente. Em 2013, dos 7,6 milhões de hectares, 5.473.176 hectares eram de plantios com eucalipto. Isto representa um aumento de 3,2% (169.012 ha) na área plantada, frente ao indicador de 2012. Essa área é composta pelos segmentos de celulose e papel (32%), produtores florestais independentes (26%), siderurgia a carvão vegetal (15%), painéis de madeira (6%), além das áreas de investidores institucionais e pertencentes a outros segmentos, principalmente ao agronegócio (IBÁ, 2014).

Os estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do sul, concentram aproximadamente 3 milhões de hectares dos plantios brasileiros, contudo estados com menos tradição na cultura tem sido alvo de investimentos principalmente para o setor de bioenergia (IBÁ, 2014).

A expansão das florestas plantadas com o gênero *Eucalyptus* no Brasil resulta de uma série de fatores que favorecem o seu plantio em larga escala, dentre os quais se destacam o rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade e a qualidade da madeira, além de ser um gênero com muitas espécies e variedades adaptadas às diversas condições de clima e solo. Devido a estas características, o eucalipto consolidou-se no setor florestal e passou a ser considerado uma fonte de riqueza econômica e social, gerando empregos diretos e indiretos (SILVA, 2005).

O sucesso obtido com o melhoramento genético do eucalipto no Brasil foi grande, especialmente associando a seleção com a propagação assexuada, que não só permitiu o aumento da produtividade de madeira como também o aumento da resistência a alguns patógenos e, sobretudo, maior uniformidade dos plantios comerciais (BISON, 2004).

A cultura do eucalipto no Brasil é altamente produtiva e, sobretudo, baseada em florestas clonais formadas com materiais de elevada produtividade média, da

ordem de 45 a 60 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (SILVA, 2008). O incremento médio anual está em torno de 35 m³ ha⁻¹ ano⁻¹, podendo variar, dependendo da região, dos tratos culturais e do material genético entre 30 e 60 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (ALFENAS et al., 2004).

O plantio de florestas clonais apresenta vantagens que devem ser levadas em consideração: permite obter maior produção de biomassa por unidade de área plantada, apresenta também significativas melhorias na qualidade da madeira e a homogeneização da madeira para fins industriais proporcionando, assim, ganhos significativos tanto em processos quanto em produtos (ASSIS, 1996).

Nos últimos anos, a cultura do eucalipto tem-se expandido para regiões com altos índices de deficiência hídrica. Por exemplo, novas fronteiras como a região nordeste, especialmente estados da Bahia, Piauí e Maranhão. A água, contudo, é um dos principais fatores que controlam a produtividade das plantas e a sua escassez é um dos mais importantes problemas da agricultura atual (SHAO, 2008; STAPE et al., 2010; MARTORELL et al., 2014). Dessa forma o grande desafio para os melhoristas florestais, hoje é a obtenção de genótipos tolerantes a situações de alta deficiência hídrica.

A água é a substância mais importante na superfície da Terra, sendo responsável pelos principais processos bioquímicos que ocorrem em plantas (LARCHER, 2006). Sua estrutura e propriedades influenciam na estrutura das proteínas, membranas, ácidos nucléicos e outros constituintes das células, sendo o principal constituinte do tecido vegetal, o que representa 50% da massa fresca nas plantas lenhosas e cerca de 80 a 95% nas plantas herbáceas (KRAMER; BOYER, 1995) Atua como reagente no metabolismo vegetal, transporte e translocação de solutos, na turgescência celular, na abertura e fechamento dos estômatos entre outros (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Espécies de ciclo longo, como do gênero *Eucalyptus*, são frequentemente submetidas a algum estresse ambiental, principalmente a deficiência hídrica (SHULAEV et al., 2008), que pode levar à paralisação do crescimento e perdas consideráveis em produtividade (MARTINS et al., 2010; TATAGIBA, 2006). Essas condições adversas podem ocorrer em diferentes estádios de desenvolvimento das plantas, em diferentes intensidades e períodos, dias ou meses, com efeitos completamente diferentes sobre a fisiologia ou adaptação. Dessa forma as plantas

podem combinar diferentes estratégias de respostas frente à deficiência hídrica, causando diversas alterações (VERSLUES et al., 2006).

Essas alterações incluem redução do conteúdo de água, diminuição do potencial hídrico, perda do turgor, fechamento de estômatos, redução da expansão celular e área foliar e do crescimento das plantas, maior crescimento do sistema radicular e queda de folhas. Quando severo, o estresse além de resultar em inibição da fotossíntese e distúrbios do metabolismo, de uma forma geral, pode culminar com a morte da planta (JALEEL et al., 2008; PAULA; PAULA; MARINO, 2012).

Na planta, a água se movimenta basicamente pela diferença entre o potencial de vapor d'água na atmosfera em torno das folhas e o potencial da água do solo. Assim, existe na planta um complexo sistema hidráulico, onde todas as partes funcionais são interligadas por uma fase líquida, permitindo o movimento da água nas folhas, no xilema e nas raízes, sendo esse movimento causado pela redução do potencial da água nas folhas, resultante da transpiração (AWARD; CASTRO, 1983). O balanço hídrico da planta é controlado pela transpiração foliar e a absorção de água no solo, que em condições adversas como a deficiência hídrica diminui o teor relativo de água e o turgor foliar. Assim sendo, o conteúdo hídrico foliar em condições iguais ou inferiores a 75% diminuem significativamente a atividade fotossintética (SMIT; SINGELS, 2006).

A determinação do potencial hídrico foliar é uma importante ferramenta para se avaliar o seu "status" hídrico das plantas (KRAMER; BOYER, 1995) e pode ser considerada uma importante característica fenotípica. Para Pereira et al. (2006), o potencial hídrico reflete as condições da dinâmica do processo do transporte da água no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo o principal componente responsável pelo fluxo de água na planta.

O fechamento estomático limita as trocas gasosas, reduzindo a transpiração e fotossíntese (BEDON et al., 2011), principalmente por causa de mudanças na difusão de CO₂ da atmosfera para o local de carboxilação (FLEXAS et al., 2006; WARREN et al., 2011). Segundo Kennan et al. (2010), a principal causa de menores taxas de fotossíntese é a menor difusão de CO₂ em situação de deficiência hídrica. Hinckley et al. (1991) informam que a inibição da fotossíntese se dá, principalmente, pela menor taxa de absorção de CO₂, devido ao fechamento dos estômatos. Já em

estresse duradouro, a inibição não estomática da fotossíntese é muito importante e pode envolver diminuição na atividade de enzimas responsáveis pela carboxilação.

Há evidências de que sob condições de deficiência hídrica, há ocorrência de danos ao sistema de membranas, efeitos mediados pela produção e acumulação de espécies reativas de oxigênio, desencadeando processos peroxidativos de lipídios, com perda de eletrólitos pela célula e consequente perda de turgescência (QUEIROZ et al., 2002). A ocorrência da peroxidação lipídica em membranas causa danos na estrutura e funcionamento da mesma, alterando sua fluidez, inativando receptores e enzimas da membrana (HALLIWELL; CHIRICO, 1993).

Maiores quantidades de espécies reativas de oxigênio promovem o estresse oxidativo, causando diversas injúrias, como desintegração de clorofila, fragmentação do DNA, extravasamento iônico, modificações protéicas e peroxidação de lipídios (MOLLER et al., 2007). A alteração nos teores de lipoperóxidos é indicador de prevalência de dano oxidativo nos tecidos (CATANEO et al., 2005), causado por fatores como o deficiência hídrica. Em plantas submetidas a severo estresse hídrico, Baisak et al. (1994) observaram aumento dos teores de lipoperóxidos. Resultados semelhantes foram encontrados por Gonçalves (2013), em que híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob deficiência hídrica, apresentaram aumento nos teores de lipoperóxidos, provavelmente causando a desestruturação dos sistemas de membranas nos tecidos foliares.

Para determinação de danos ao sistema de membranas, uma outra característica fenotípica indicativa de deficiência hídrica, pode-se usar o teste de condutividade elétrica de uma solução de embebição, que relaciona a quantidade de substâncias liberadas pelo tecido foliar com a integridade do sistema de membranas. Assim, é comum haver aumento da lixiviação de solutos das células com membranas danificadas, o que leva ao aumento da condutividade elétrica no meio, sendo a deficiência hídrica um dos agentes causadores desse aumento (SISTON, 2013; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Em características de crescimento em estudos de estresse hídrico o estudo de crescimento de raízes é de grande importância. À medida em que aumenta a deficiência hídrica, as camadas superiores do solo vão secando e as raízes se aprofundam nas camadas mais úmidas, exigindo uma alocação de biomassa para

suas extremidades (CORREIA; NOGUEIRA, 2004). A razão entre a biomassa de raízes e da parte aérea parece ser governada por um balanço funcional entre absorção de água pelas raízes e fotossíntese pela parte aérea. A parte aérea continuará crescendo até que a absorção de água pelas raízes torne-se limitante; inversamente, as raízes crescerão até que a demanda por fotossintatos da parte aérea iguale-se ao suprimento. Este balanço funcional é alterado, se o suprimento hídrico decrescer (TAIZ; ZEIGER 2013; CHAVES et al., 2003; BLUM, 2005).

Em área de plantios de *E. urograndis*, Figueiredo et al. (2011) encontraram reduções significativas em características de crescimento como altura, diâmetro de coleto e massa de matéria seca, na fase inicial em área com déficit hídrico evidente. Tatagiba et al. (2006), trabalhando com deficiência hídrica induzida em clones comerciais de eucalipto em vasos, encontraram reduções significativas em área foliar, altura e diâmetro do coleto. Otto et al. (2013) detectaram perda fotossintética importante em região de deficiência hídrica e aumento considerável de produtividade em área com bom suprimento hídrico.

Além das características de crescimento e trocas gasosas, outras características fenotípicas podem ser empregadas em estudos de deficiência hídrica, a exemplo dos teores de carboidratos.

Os carboidratos são os componentes químicos orgânicos mais abundantes nos tecidos vegetais, funcionando como material de reserva energética ou como material estrutural dos tecidos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os principais carboidratos, não estruturais, acumulados em folhas e frutos das plantas são o amido e os açúcares solúveis redutores e não redutores. Entre os açúcares redutores, os principais são a glicose e a frutose, enquanto o principal açúcar não redutor é a sacarose, mobilizada nos processos de transporte na direção fonte/dreno. Os açúcares redutores e não redutores formam os açúcares solúveis totais. O amido, por ser um carboidrato insolúvel, é a reserva mais difundida de carbono armazenada nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os açúcares solúveis desempenham um papel central no metabolismo de plantas como fontes de carbono e de energia nas células e estão continuamente se ajustando, como resultado do equilíbrio entre sua produção e utilização (CHAVES, 1991). Além disso, a produtividade vegetal é influenciada por características

morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte e dos órgãos consumidores dos fotoassimilados, conhecidos como dreno (TAIZ; ZEIGER, 2013). Folhas mais velhas, fotossinteticamente ativas, têm a produção de carboidratos maior que o necessário para suprir o metabolismo e crescimento. O excedente dessa produção de fotoassimilados é, então, exportado para os tecidos menos ativos (mais jovens, dreno). Durante o crescimento vegetativo, a maioria dos carboidratos é transportada para as raízes e folhas jovens, enquanto após o florescimento, os carboidratos são direcionados prioritariamente, para os frutos, tubérculos e raízes de reserva (ROISTSCH et al., 2003).

Mais de 80% de CO₂ assimilado durante a fotossíntese é canalizado para a síntese de sacarose (KOCH et al., 2004), a qual é a principal forma de transporte de carbono orgânico exportado a partir da fonte fotossintética, e portanto, é um processo crucial para a sobrevivência e produtividade das plantas. Dessa forma, alterações induzidas por estresses ambientais são muito importantes (KOCH et al., 2004; RIZHSKY et al., 2004).

Segundo Kramer e Boyer (1995), a seca exerce importante influência no teor de carboidratos em diversas espécies. Em virtude do efeito da seca, o amido é degradado nos tecidos que o acumulam; a redução na quantidade de amido é uma consequência da atividade da amilase, sendo acompanhada por um aumento da quantidade de açúcares solúveis redutores. Na maioria das plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (folhas) para as regiões de consumo (caule, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos) onde será utilizada para o crescimento e/ou armazenamento.

Apesar de ser a condição ideal, é difícil encontrar estudos sobre tolerância à seca em eucalipto em condições controladas de campo, de forma que as pesquisas são feitas, em sua maioria, de forma indireta ou no estágio de mudas, em vasos, em condições controladas ou semicontroladas. A utilização de vasos é uma opção interessante para isolamento dos fatores em estudos de deficiência hídrica.

Por outro lado, os vasos constituem-se em sistemas fechados, limitando o adequado desenvolvimento do sistema radicular, impedindo a absorção de água em camadas mais profundas (PAULA; PAULA; MARINO, 2012).

Muitos experimentos têm sido conduzidos com plantas em vasos pequenos em casas de vegetação ou em salas de crescimento, submetendo-as a secas drásticas e rapidamente impostas. As respostas assim obtidas guardam pouco paralelismo com o que se observa no campo e, portanto, os resultados comparativos auferidos devem ser analisados com reserva.

A limitação ao crescimento do sistema radicular imposta pelo cultivo em vasos altera o seu padrão de crescimento e de eficiência na absorção de água. As espécies arbóreas apresentam maior resposta a deficiência hídrica quando cultivadas em vasos comparado ao cultivo no campo. Esse fato provavelmente ocorre devido à maior capacidade de acesso as reservas de água no perfil do solo durante o crescimento no campo, que passa a ser limitada no cultivo em vaso (SHEM et al., 2009). Dessa forma boa parte das informações auferidas por fisiologistas, voltadas à tolerância à seca tem uma utilidade limitada para o melhorista (CAVATTE et al., 2012)

Trabalhos evidenciam o uso de diferentes vasos de diferentes volumes, mas trabalhos que comparam volumes de substratos em vasos e diferentes recipientes em trabalhos de deficiência hídrica em eucalipto são escassos ou nulos. SILVA, (2013), testou seca progressiva em eucalipto em vasos de 8 L, a fim de diferenciar híbridos de *E. urograndis*. Mendes et al. (2013) avaliaram respostas fisiológicas em deficiência hídrica, em diferentes ciclos de irrigação também utilizando vasos de 8 L. Butrinowski et al. (2013) avaliaram o desenvolvimento inicial de mudas de *Eucalyptus grandis* em vasos de 20 L.

Fernandes, Cairo e Novaes (2014) também trabalharam com respostas fisiológicas em híbridos de eucalipto em ambiente de casa de vegetação, com regime de seca progressiva, mas com tamanho de vaso fixo sem comparação entre os mesmos.

Considerando os poucos estudos comparando esses métodos, o uso de recipientes com maior relação altura/diâmetro, ou altura/largura, que possibilitem a exploração do solo em maior profundidade pode ser uma alternativa para simular de forma mais precisa as condições que uma muda encontraria no campo, nos primeiros momentos após o plantio. Também, o uso de vasos com maior capacidade volumétrica, em detrimento de vasos pequenos (menores que 5 L de substrato)

podem possibilitar informações mais consistentes das alterações nas plantas sob seca induzida.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa constou de três experimentos, envolvendo diferentes genótipos de eucalipto submetidos a diferentes formas de imposição da deficiência hídrica (seca progressiva e ciclos de aplicação da deficiência hídrica) e, ou diferentes tipos e tamanhos de vasos. Os experimentos foram conduzidos na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Câmpus de Jaboticabal (FCAV/UNESP). O município de Jaboticabal está situado a 21°16” de latitude sul, 48°19” de longitude oeste e 575 m de altitude. Segundo a classificação climática de Köppen o clima é de transição entre os tipos CWA (quente e inverno seco) e AW (tropical de inverno seco), de acordo com VENTURA et al. (1965/66).

3.1 Experimento 1: Comportamento de híbridos de eucalipto sob duas condições de disponibilidade hídrica em cilindros de PVC

O experimento foi estabelecido no delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 x 2 (3 genótipos e 2 regimes de irrigação), com quatro repetições por tratamento, totalizando 24 recipientes.

O período de condução do experimento foi de 90 dias, entre junho a setembro de 2012, e as mudas dos três híbridos de eucalipto, produzidas por miniestaquia em tubetes de 55 cm³, com idade de aproximadamente 80 dias, foram plantadas em cilindros de PVC de 80 cm de altura por 20 cm de diâmetro (Figura 1), preenchidos com 25 dm³ de um Latossolo Vermelho eutroférico típico, textura argilosa, A moderado, caulínítico-oxídico (LVef) (Andrioli e Centurion, 1999), proveniente de áreas da FCAV/UNESP. Ao solo, seco à sombra e peneirado, incorporou-se 157 mg.dm⁻³ de carbonato de cálcio, 92 mg.dm⁻³ de carbonato de magnésio e 500 mg.dm⁻³ de superfosfato simples, 10 dias antes do plantio das mudas. Sete dias após o plantio foi feita a aplicação de 30 mg dm⁻³ de N, via sulfato de amônio, e 200 mg.dm⁻³ de K₂O, via cloreto de potássio, em solução.



Figura 1. Aspecto da montagem do Experimento 1 em recipientes de PVC.

3.1.1 Tratamentos

Os tratamentos foram resultantes da combinação de três híbridos de eucalipto (H1 e H2 - híbridos de *Eucalyptus urophylla* X *E. tereticornis* e H3 - híbrido de *E. urophylla* X *E. brassiana*) submetidas a dois regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados, ou seja, plantas sem restrição hídrica e R2 - plantas irrigadas, com posterior suspensão da irrigação até o aparecimento de sintomas iniciais de deficiência hídrica: desidratação/murcha; curvatura da gema terminal). Final do ciclo de suspensão de irrigação.

Antes do plantio, a umidade do solo de todos os recipientes foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção de água (CMRA).

Após o plantio, as mudas dos três híbridos passaram por um período de aclimação de 10 dias, sendo então estabelecidos os dois regimes de irrigação. As plantas do regime de irrigação R2, ao final do ciclo de suspensão da irrigação, eram irrigadas até o solo atingir 60% da CMRA, suspendendo-se novamente a irrigação, repetindo-se o ciclo. A quantidade de água repostada nos recipientes foi determinada a partir de um aparelho TDR (Campbell Scientific Ltd.), com determinação da umidade do solo (v/v) a 20, 40 e 60 cm da altura do recipiente, através de perfurações prévias na estrutura de PVC. No decorrer do experimento, foram conduzidos 9 ciclos de suspensão de irrigação.

3.1.2 Avaliações de crescimento

No início e ao final do experimento foram determinados o diâmetro do coleto (mm), a altura (cm), o número de folhas, a área foliar (cm^2), através de um aparelho medidor de área foliar (Li-Cor 3100), a massa de matéria seca de folhas, de caule, de raízes, da parte aérea e total (g) e a relação massa de matéria seca de raízes e massa de matéria seca da parte aérea. A altura foi determinada com régua graduada (0,1 cm), o diâmetro do coleto com paquímetro digital (0,01 mm), a área foliar com um medidor de área foliar (Li-Cor 3100), as raízes foram peneiradas e lavadas e a massa de matéria seca dos componentes das plantas, foi determinada em balança de precisão (0,0001 g) após submeter o material vegetal à secagem, em estufa de circulação de ar, a 65 °C por 96 h.

3.1.3 Avaliações fisiológicas

Ao final de cada ciclo de suspensão de irrigação, ou seja, quando as plantas manifestavam os sintomas de deficiência hídrica (murcha e curvatura da gema terminal) e antes da irrigação das mesmas, foram avaliados os seguintes características em todas as plantas do experimento: taxas de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), usando-se um analisador de gases a infravermelho, portátil (LCPro⁺ SYSTEM, ADC) sob concentração de CO_2 ambiente ($390 \pm 10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), FFFA (fluxo de fótons fotossinteticamente ativo) de $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperatura da folha mantida a 26 °C. Essas avaliações foram realizadas nos períodos compreendidos entre 8 h e 10 h 30 min, em folhas totalmente expandidas, no terço médio das plantas. Ao todo foram realizados onze avaliações de trocas gasosas, sendo duas antes da imposição dos regimes de irrigação e nove ciclos de avaliações após a aplicação dos tratamentos hídricos. As duas primeiras avaliações serviram para caracterização das plantas.

Determinou-se o conteúdo relativo de água (CRA), conforme método de Catsky (1974), em seis ciclos de suspensão da irrigação, e o potencial hídrico foliar

(Ψ_{wf}) ao final experimento, por meio de uma bomba de pressão (SCHOLANDER et al., 1965).

Também ao fim do experimento foram avaliados os danos ao sistema de membranas (Danos, %), ou perda da integridade do sistema de membranas, por meio da quantificação da condutividade elétrica da solução de embebição de discos foliares. Foram retirados quatro discos foliares de 1 cm de diâmetro, por repetição, os quais foram lavados superficialmente para eliminar possíveis impurezas e, posteriormente, colocados em 75 mL de água deionizada a 25 °C por 24 h, para determinação da condutividade elétrica (CE-24h) da solução. Posteriormente, a solução contendo os discos foliares foi fervida a 100 °C, esfriada e avaliada a condutividade elétrica total da solução (CE-Total). O nível de danos ao sistema de membranas foi determinado pela relação entre os valores de CE-24h/CE-Total, expressa em porcentagem. Esse teste foi adaptado, com base no teste da integridade do sistema de membranas para determinação do vigor de sementes (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

3.1.4 Análises bioquímicas

Foram determinados os teores de açúcares redutores pelo método de Somogy-Nelson (1944-45), por espectrofotometria a 620 nm, utilizando-se uma curva padrão construída a partir de uma solução de glicose ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) com intervalo de 0,1 a 1,0 mL.

Ainda, determinou-se o teor de açúcares solúveis totais pelo método da Antrona (TREVELYAN; HARRISON, 1952), por espectrofotometria a 630 nm, utilizando uma curva padrão de glicose ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), com intervalo 0,1 a 1,0 mL.

3.1.5 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Nos casos de interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores estudados (híbridos x regimes de irrigação) procedeu-se ao desdobramento da mesma. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os dados fisiológicos foram avaliados a partir das médias dos ciclos de suspensão da irrigação estudados. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Adicionalmente, elaborou-se gráficos de variações percentuais nas características, por híbridos ou na média dos três híbridos, no regime de irrigação 2 em relação ao regime 1. A variação (%) foi calculada com o uso da seguinte fórmula: $Variação(\%) = \left(1 - \frac{X_{i_R2}}{X_{i_R1}}\right) * 100$, em que X_{i_R2} e X_{i_R1} , é o valor da característica i no regime de irrigação 2 e no regime de irrigação 1, respectivamente. Desta forma, valores positivos indicam redução na característica e valores negativos, acréscimos na mesma sob restrição hídrica.

3.2 Experimento 2: Comportamento fisiológico de clones de eucalipto sob deficiência hídrica progressiva em vasos de diferentes tamanhos

O experimento foi instalado no delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 5 x 4 (5 clones de eucalipto e 4 tamanhos de recipientes), com 20 repetições, totalizando 400 vasos (parcelas) e teve duração de 135 dias de junho a outubro de 2013.

3.2.1 Tratamentos

Os tratamentos foram resultantes da combinação de cinco clones de eucalipto, sendo quatro clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (C1, C2, C3 e C5) e um de *E. urophylla* (C4), plantados em vasos preenchidos com

diferentes volumes de solo: 3,6 L, 8,0 L, 25 L e 100 L (Figura 2). O substrato utilizado foi areia lavada de fundo de rio com sistema de fertirrigação no período de aclimação, conforme procedimentos descritos por Barreto et al. (2007), exceto no que se refere a aplicação de B, que constou da adição de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ B, via ácido bórico.

Após o plantio, foi utilizada cobertura morta sobre o substrato e durante 15 dias todas as mudas foram irrigadas de forma a garantir a sua sobrevivência. Passado esse período de aclimação, os recipientes foram umedecidos até a completa saturação, suspendendo-se a irrigação e monitorando a sobrevivência e parâmetros fisiológicos das plantas até a morte das mesmas. O experimento foi conduzido entre 06 de junho e 22 de outubro de 2013, inicialmente em ambiente aberto, porém devido a boa sobrevivência das plantas estabelecidas nos vasos de maior tamanho (25 e 100 L), estas foram transferidos para uma casa de vegetação, dada a maior possibilidade de ocorrência de chuvas a partir do mês de setembro na região (Tabela 1).



Figura 2. Aspecto do Experimento 2, em diferentes tamanhos de vasos,.

Tabela 1. Dados meteorológicos dos meses de junho a outubro de 2013 no município de Jaboticabal (SP).

Mês	Tmax (°C)	Tmin (°C)	Tmed (°C)	UR %	Precipitação mm	ND	Insolação (h)
Junho	27,2	15,4	20,1	79,3	31,4	6,0	193,3
Julho	26,3	12,4	18,2	72,5	33,0	2,0	240,1
Agosto	29,0	12,3	19,8	57,0	0,0	0,0	273,8
Setembro	30,3	15,9	22,3	59,5	66,5	6,0	229,7
Outubro	30,2	17,4	23,0	65,6	90,8	8,0	229,4

Tmax: temperatura máxima (°C); Tmin: temperatura mínima (°C); Tmed: temperatura média (°C); UR: umidade relativa (%); ND: número de dias com chuva. Fonte: Estação agroclimatológica – FCAV-UNESP.

3.2.2 Avaliações fisiológicas

Da suspensão da irrigação até a morte das plantas, foram realizadas avaliações periódicas de taxas de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), em cinco plantas de cada tratamento. Essas avaliações foram realizadas conforme procedimentos descritos no item 3.1.3.

3.2.3 Análise dos dados

Os dados de trocas gasosas (taxas de assimilação líquida - A , condutância estomática - g_s e transpiração - E), após a suspensão da irrigação foram apresentados em gráficos (média \pm erro padrão da média), para cada avaliação ao longo do período experimental, até a morte das plantas.

A partir do monitoramento da sobrevivência, calculou-se o número de dias (média \pm erro padrão da média) de sobrevivência. A sobreposição da média \pm erro padrão da média, entre dois tratamentos, foi interpretada como igualdades entre esses tratamentos.

3.3 Experimento 3: Comportamento de clones de eucalipto sob dois regimes hídricos em dois tamanhos de vasos

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 5 x 2 x 2 (5 clones de eucalipto, 2 tamanhos de recipientes e 2 regimes de irrigação), com seis repetições, totalizando 120 vasos (parcelas), entre os meses de novembro de 2013 e janeiro de 2014, com uma duração de 90 dias.

O solo, seco à sombra e peneirado, foi adubado utilizando 200 mg dm⁻³ de carbonato de cálcio, 50 mg.dm⁻³ de carbonato de magnésio e 1000 mg dm⁻³ de superfosfato simples, aplicados em uma única vez, e incorporados ao solo com uso de uma betoneira. Sete dias após o plantio foi feita aplicação de 30 mg dm⁻³ de N e 200 mg.dm⁻³ de K₂O. Após 45 dias do experimento foi realizada adubação de cobertura com 40 mg dm⁻³ de N, na forma de sulfato de amônio.

3.3.1 Tratamentos

Os tratamentos foram resultantes da combinação dos mesmos cinco clones de eucalipto, quatro clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* e um de *E. urophylla*, usados no experimento 2 (item 3.2.1) em combinação com dois tamanhos de vasos (8 e 25 L), escolhidos com base nos resultados do experimento 2, e dois regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados, ou seja, plantas sem restrição hídrica e R2 - plantas irrigadas, com posterior suspensão da irrigação até o aparecimento de sintomas iniciais de deficiência hídrica: desidratação/murcha; curvatura da gema terminal), conforme descrito para o experimento 1 (item 3.1.1). Os vasos foram preenchidos com um Latossolo Vermelho eutroférico típico, textura argilosa, A moderado, caulínítico-oxídico (LVef) (Andrioli e Centurion, 1999), proveniente de áreas da FCAV/UNESP.

3.3.2 Avaliações

Foram avaliadas características de crescimento como diâmetro do coleto (mm), a altura (cm), o número de folhas, a área foliar (cm²), a massa de matéria seca de folhas, de caule, de raízes, da parte aérea e total (g) e relação massa de matéria seca de raízes e massa de matéria seca da parte aérea, conforme descrito no item 3.1.2.

Avaliações fisiológicas de taxas de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), danos ao sistema de membranas (Danos %) e potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}), foram realizadas conforme procedimentos descritos no item 3.1.3.

Análises bioquímicas dos teores de açúcares redutores e açúcares solúveis totais em raízes e folhas foram feitas, conforme apresentado no item 3.1.4.

Uma visão do experimento, na fase final de avaliação é apresentada na Figura 3.

3.3 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$), com desdobramentos das interações significativas ($p \leq 0,05$).

As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os dados fisiológicos foram avaliados a partir das médias dos ciclos de suspensão da irrigação. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Adicionalmente elaborou-se gráficos de variações percentuais nas características, por clones ou na média dos cinco clones, no regime de irrigação 2 em relação ao regime 1, ou no vaso de 8 L em relação a de 25 L, conforme descrito no item 3.1.5.



Figura 3. Aspecto do experimento 3, em vasos de 8 L, na fase final de avaliação. À esquerda, regime de irrigação sem limitação hídrica (R1), à direita regime de irrigação ao final do período de suspensão da irrigação (R2), indicando o momento da avaliação fisiológica.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados e discutidos separadamente por experimento.

4.1 Experimento 1: Comportamento de híbridos de eucalipto sob duas condições de disponibilidade hídrica em cilindros de PVC

A interação híbridos x regimes de irrigação foi significativa para taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s), altura (Alt), massa de matéria seca de folhas (MSF), de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) e para a relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA), Tabelas 2 e 3.

As variações nos valores de taxa de assimilação líquida (fotossíntese), condutância estomática e transpiração nos três híbridos e nos dois regimes de irrigação ao longo do experimento encontram-se na (Figura 4). Nas duas primeiras avaliações, os regimes de irrigação ainda não haviam sido aplicados e, as variações em fotossíntese, condutância estomática e transpiração foram semelhantes entre os genótipos. Na terceira avaliação, ou seja, após a aplicação dos regimes de irrigação, os valores dessas características sob suspensão da irrigação foram sensivelmente reduzidos, principalmente para condutância estomática e para os híbridos 1 e 2. Sem limitação hídrica (R1), o híbrido 1 apresentou menores valores de trocas gasosas, mas sob suspensão da irrigação (R2) diferenças entre os híbridos foram observadas até a quinta avaliação (terceiro ciclo de estresse), em que o híbrido 3 supera os híbridos 1 e 2. Com o desenvolvimento das plantas, notadamente a partir do quarto ciclo de suspensão de irrigação (sexta avaliação), as diferenças entre os híbridos foram reduzidas, especificamente sob suspensão de irrigação, o que pode ser atribuído a maior demanda hídrica dada a maior área transpiracional.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para taxa de assimilação líquida ($A - \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), condutância estomática ($g_s - \text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), potencial hídrico foliar ($\Psi_f - \text{MPa}$), conteúdo relativo de água nas folhas (CRA - %); danos ao sistema de membranas (Danos - %); teor ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de açúcares redutores nas folhas (ARF) e nas raízes (ARR) e teor ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de açúcares solúveis totais nas folhas (ASTF) e nas raízes (ASTR), em plantas de três híbridos de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (R) em casa de vegetação.

Fontes de Variação										
	A	g_s	E	Ψ_{W_f}	CRA	Danos	ARF	ARR	ASTF	ASTR
RI	520,1**	220,5**	692,5**	567,2**	124,7**	21,9**	1,2 ^{ns}	13,6**	20,5**	2,1 ^{ns}
Híbridos (H)	20,4**	16,7**	14,2**	0,1 ^{ns}	2,2 ^{ns}	0,2 ^{ns}	1,2 ^{ns}	1,6 ^{ns}	2,1 ^{ns}	2,2 ^{ns}
RI*H	3,7*	4,4*	2,2 ^{ns}	0,3 ^{ns}	0,7 ^{ns}	0,1 ^{ns}	2,1 ^{ns}	0,5 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,4 ^{ns}
CV%	9,03	18,91	7,31	7,19	1,87	6,23	14,48	9,95	6,45	12,03
Média	12,73	0,346	3,4	-2,36	84,12	0,353	6,09	2,89	93,3	39,5
Regimes de irrigação					Médias					
R1	18,08	0,545	4,74 a	-0,90 a	91,28 a	0,311b	5,65	3,31 a	82,3 b	36,8
R2	7,38	0,148	2,06 b	-3,83 b	76,97 b	0,396 a	6,54	2,47 b	104,3 a	42,2
Híbridos					Médias					
H1	10,618	0,242	3,02 B	-2,40	83,71	0,346	5,49	3,17	91,3	45,0
H2	13,953	0,369	3,54 A	-2,31	85,92	0,359	6,85	2,66	100,1	34,7
H3	13,627	0,427	3,64 A	-2,35	82,75	0,356	5,94	2,83	88,6	38,7

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). ** - valor significativo ($p \leq 0,01$) pelo teste F; * valor significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste F; ^{ns} - valor não significativo ($p > 0,05$) pelo teste F. Médias seguidas por uma mesma letra, minúscula para regimes de irrigação e maiúscula para híbridos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O estresse hídrico afeta a fotossíntese, tanto pelo fechamento dos estômatos, limitando a troca gasosa, como pelo comprometimento metabólico (FLEXAS et al., 2002). Segundo Warren et al. (2011), a diminuição da concentração de CO_2 da atmosfera para o sítio de carboxilação é geralmente considerada a principal causa da diminuição da fotossíntese nestas situações.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para altura (Alt - cm); diâmetro do coleto (DC – mm); número de folhas (NF - \sqrt{x}); área foliar (AF - cm²); comprimento de raízes (CRaiz - cm); massa de matéria seca (g.planta⁻¹) de folhas (MSF), de raízes (MSR), de caule (MSC), da parte aérea (MSPA = MSF+MSC) e total (MST = MSPA+MSR) e relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) em plantas de três híbridos de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Fontes de Variação	Valores de "F"/Características										
	Alt	DC	NF	AF	CRaiz	MSF	MSR	MSC	MSPA	MST	RPA
RI	200,3**	615,2**	229,1**	1654,5**	0,05 ^{ns}	1204,6**	287,4**	355,1**	1183,6**	1012,4**	20,5**
Híbrido	80,0**	7,6**	9,9**	15,9**	4,58*	7,5**	32,8**	7,1**	1,3 ^{ns}	8,4**	9,2**
RI*H	10,9**	3,4 ^{ns}	1,1 ^{ns}	1,1 ^{ns}	0,06 ^{ns}	3,8*	19,1**	3,3 ^{ns}	4,0*	3,6 ^{ns}	5,9*
CV(%)	5,18	3,94	5,90	6,65	6,23	7,54	11,47	11,42	7,16	7,24	14,82
Média	69,8	6,49	8,2	1768,3	100,9	17,800	11,893	8,684	26,485	38,379	0,486
Regimes de irrigação											
	Médias										
R1	80,2	7,79 a	9,9 a	2744,9 a	101,2	27,308	16,613	12,499 a	39,807	56,420 a	0,419
R2	59,3	5,19 b	6,4 b	791,6 b	100,7	8,293	7,173	4,871 b	13,164	20,336 b	0,552
Híbridos											
	Médias										
H1	57,2	6,44 AB	8,8 A	1946,6 A	106,4 A	18,372	14,867	7,778 B	26,150	40,170 A	0,569
H2	70,9	6,26 B	7,7 B	1740,8 B	97,5 B	18,721	11,411	8,639 AB	27,359	38,770 AB	0,474
H3	80,6	6,76 A	8,1 B	1617,4 B	99,9 AB	16,309	9,402	9,637 A	25,946	35,348 B	0,415

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). ** - valor significativo ($p \leq 0,01$) pelo teste F; * valor significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste F; ^{ns} - valor não significativo ($p > 0,05$) pelo teste F. Médias seguidas por uma mesma letra, minúscula para regimes de irrigação e maiúscula para híbridos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A restrição hídrica promoveu maior redução na condutância estomática do que na fotossíntese, com variações entre os híbridos (Figura 4a). Sob boa disponibilidade hídrica, o híbrido 1 apresentou menores valores nas duas características; sob irrigação suspensa, o híbrido 2 apresentou maior taxa de fotossíntese que o híbrido 1, porém sem diferenças entre os híbridos para condutância estomática (Tabela 4).

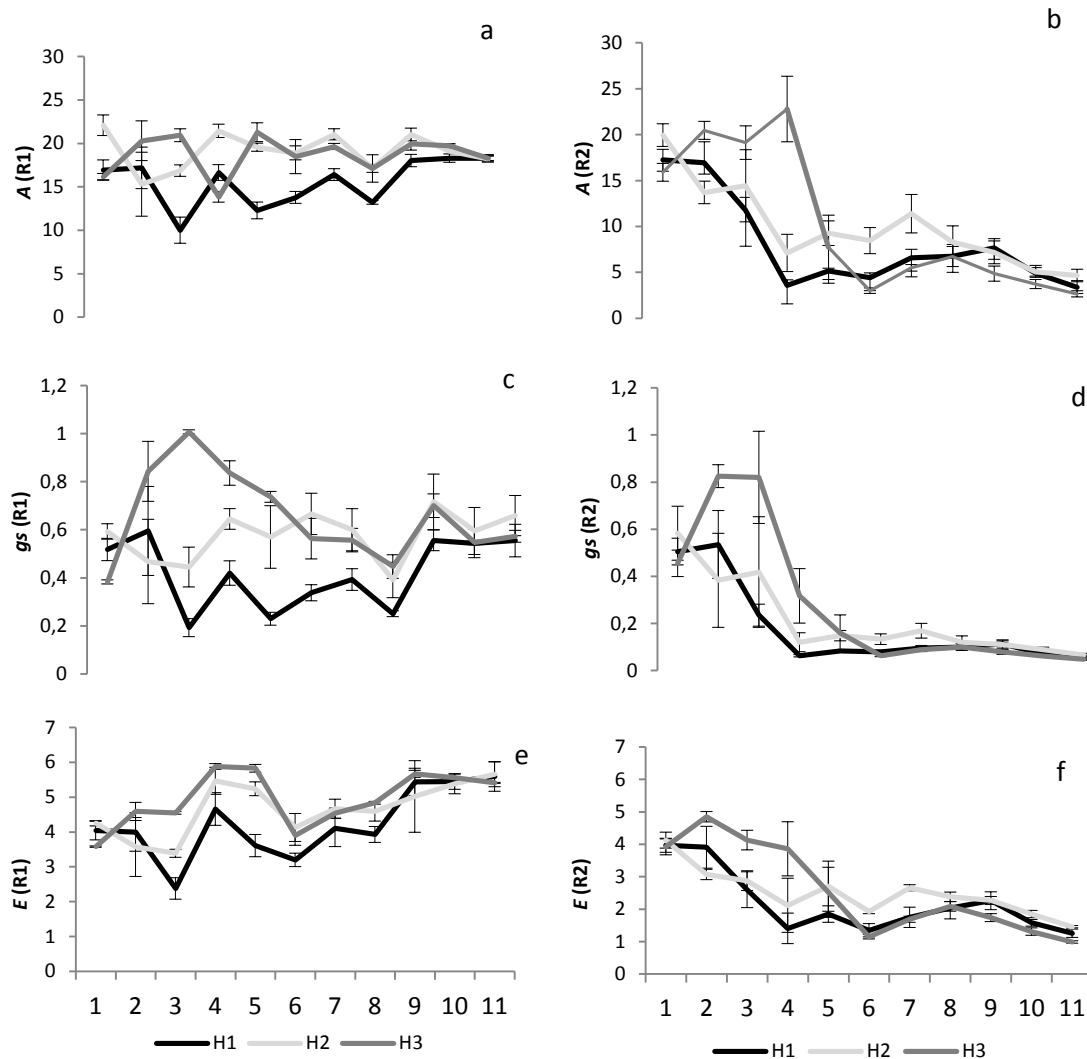


Figura 4. Monitoramento das trocas gasosas (taxa de assimilação líquida (a e b) – A : $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), condutância estomática (c e d) (g_s : $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) e transpiração (e e f) (E : $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) em plantas de três híbridos de eucalipto (H1, H2 e H3) submetidas a dois regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação).

Assim, a condutância estomática pode ser considerada a característica fisiológica chave, para prever o uso da água e fotossíntese líquida (KATUL, 2000; MCFARLANE; WHITE; ADAMS 2004), podendo ser usada como indicadora do grau de estresse hídrico (FLEXAS; MEDRANO, 2002). Além disso, a condutância estomática pode ser uma ferramenta útil no melhoramento genético para maior produtividade em ambientes propensos à seca, por fornecer uma ligação crucial entre a perda de água pela transpiração e ganho de carbono (e, portanto, do

crescimento) e entre a economia de água pelo fechamento dos estômatos e maior estresse por calor (PITA et al., 2005).

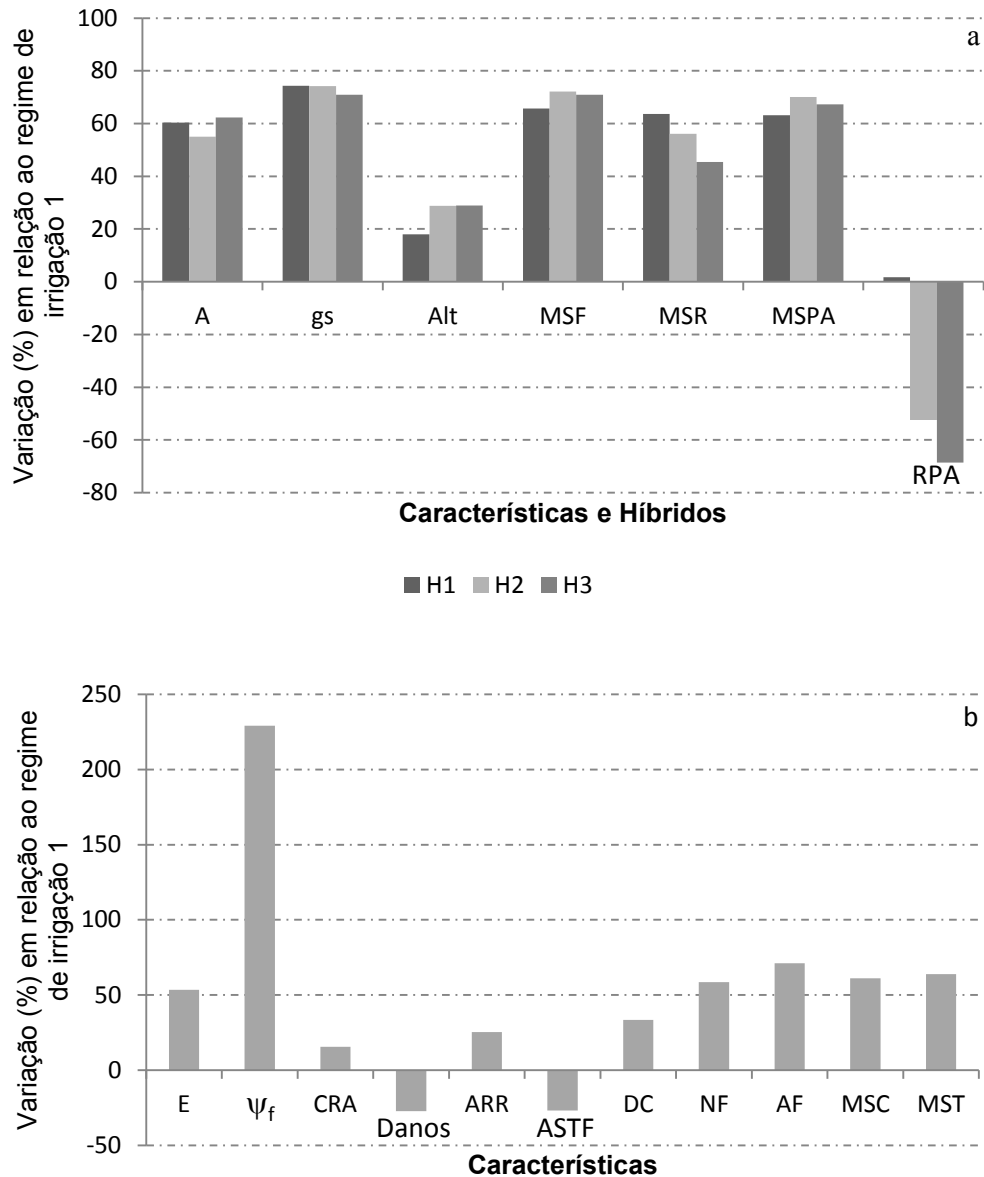


Figura 5. Variações (%) em taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s), altura (Alt), massa de matéria seca de folhas (MSF), de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) e relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) em cada híbrido (a) e em transpiração (E), potencial hídrico foliar (ψ_f), conteúdo relativo de água (CRA), danos ao sistema de membranas (Danos), teores de açúcares redutores nas raízes (ARR) e de açúcares solúveis totais nas folhas (ASTF), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF) e massa de matéria seca de caule (MSC) e total (MST) na média dos três híbridos (b) cultivados sob restrição hídrica em relação ao suprimento adequado de água. Valores positivos indicam redução e negativos indicam aumento na característica sob restrição hídrica.

Tabela 4. Desdobramento da interação híbridos x regimes de irrigação para taxa de assimilação líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), altura de plantas (Alt - cm), massa de matéria seca ($\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$) de folhas (MSF), de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) e relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) em plantas de três híbridos de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Híbridos	A		g_s		Alt		RPA	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
H1	15,2 Ab	6,0 Bb	0,386 Ab	0,099 Ba	63,5 Ac	52,1 Bc	0,574 Aa	0,564 Aa
H2	19,2 Aa	8,7 Ba	0,588 Aa	0,152 ba	82,9 Ab	59,0 Bb	0,376 Bb	0,573 Aa
H3	19,8 Aa	7,5 Bab	0,663 Aa	0,193 ba	94,2 Aa	66,9 Ba	0,309 Bb	0,521 Aa

Híbridos	MSF		MSR		MSPA	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
H1	27,366 Aab	9,377 Ba	21,811 Aa	7,923 Ba	38,224 Ab	14,076 Ba
H2	29,294 Aa	8,147 Ba	15,867 Ab	6,954 Ba	42,106 Aa	12,614 Ba
H3	25,263 Ab	7,354 Ba	12,161 Ac	6,643 Ba	39,091 Aab	12,801 Ba

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para regimes de irrigação e minúsculas para híbridos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A limitação hídrica imposta aos três híbridos promoveu menor turgor das plantas, dado pelos menores valores de conteúdo relativo de água (CRA), de potencial hídrico foliar e de maiores níveis de danos ao sistema de membranas (Danos).

Reduções expressivas no CRA de seis espécies de eucalipto sob quatro diferentes regimes de irrigação, foram também observadas por Merchant et al. (2007), o que acarretou o fechamento parcial dos estômatos, provocando quedas na fotossíntese e transpiração, concordando com os resultados aqui obtidos.

A água é a força motriz para a organização de fosfolipídios e, em parte, para a conformação de muitas proteínas nas membranas biológicas. Por isso, se ocorre deficiência de água a organização celular é prejudicada porque as membranas sofrem mudanças estruturais e as proteínas desnaturam (HOEKSTRA et al., 2001). Conseqüentemente, é comum haver aumento da lixiviação de solutos das células com membranas danificadas, o que leva ao aumento da condutividade elétrica.

Assim, o aumento de 27% (Tabela 2; Figura 5b) nos danos ao sistema de membranas celulares constatado nas plantas sob deficiência hídrica, revela um

sistema de membranas mais desestruturado, com perda da permeabilidade seletiva de solutos, liberando maior quantidade de lixiviados na solução de embebição dos discos foliares e indica que a restrição hídrica imposta, mesmo não sendo severa, causou deterioração dessas membranas.

A menor disponibilidade hídrica às plantas também resultou em menor crescimento e acúmulo de matéria seca (Tabelas 2, 3 e 4; Figuras 4 e 5), independentemente do híbrido. Dentre as características de crescimento e acúmulo de massa seca, a massa seca de folhas foi a mais sensível à restrição hídrica, seguida pela massa seca da parte aérea e de raízes; por outro lado, a altura mostrou-se menos sensível à limitação hídrica mas com grande variação entre os híbridos (Tabelas 3 e 4; Figura 5).

Menor acúmulo de matéria seca em plantas sob restrição hídrica é amplamente relatado na literatura, conforme observado por Merchant et al. (2007) em seis espécies de *Eucalyptus*. Para esses autores isso fortalece a hipótese de que em *Eucalyptus* é comum o ajuste da área transpiracional de acordo com a disponibilidade hídrica.

Cavatte et al. (2012) descrevem o paradoxo existente entre os mecanismos que evitam a perda excessiva de água e o acúmulo de biomassa vegetal. A área foliar e a condutância estomática são os principais fatores que determinam as taxas transpiratórias, e a diminuição nessas características reduzem o potencial hídrico foliar (Tabela 4, Figura 5b). No entanto, esses fatores são também determinantes da quantidade de carbono acumulado pelas plantas, uma vez que uma área foliar reduzida pode diminuir a interceptação de radiação luminosa, contribuindo para a redução da taxa fotossintética levando ao menor influxo de CO₂ para o interior dos cloroplastos. Dessa forma, o comportamento dos três híbridos foi prejudicado com a deficiência hídrica, mas, de acordo com Szota et al. (2011), essas alterações podem indicar uma resposta favorável das plantas ao agente estressante, aumentando a capacidade de sobrevivência das plantas.

O híbrido 1 não alterou o padrão de alocação de biomassa entre a parte aérea e o sistema radicular nos dois regimes de irrigação (Tabela 4). Porém os híbridos 2 e 3, apresentaram maior relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) no regime de irrigação 2 (Figura 5a). Isto

ocorreu apenas em termos proporcionais, uma vez que sob limitação hídrica o acúmulo de massa de matéria seca foi menor, independentemente do componente da planta.

Para Chaves et al. (2003), mesmo uma deficiência hídrica moderada é capaz de promover um ajuste coordenado de adaptações fisiológicas, morfológicas e anatômicas, direcionando a partição de fotoassimilados e o crescimento de raízes para a busca de recursos. Costa e Silva et al. (2004) verificaram em *Eucalyptus globulus*, cultivados em vasos, que o clone tolerante apresentou maior investimento no desenvolvimento das raízes em condições adequadas de disponibilidade hídrica e manteve o crescimento do sistema radicular por um período maior que o clone sensível em condições de deficiência hídrica, otimizando a relação entre a área de transpiração e de absorção, explicando sua maior resistência à seca. A arquitetura radicular e sua capacidade de exploração das camadas mais profundas e úmidas do solo, juntamente com maior razão entre a raiz e parte aérea, são características importantes de escape à deficiência hídrica (MAGALHÃES-FILHO et al., 2008).

Assim, o híbrido 1 além de manter equilíbrio de acúmulo de massa de matéria seca entre sistema radicular e parte aérea nos dois regimes de irrigação, também apresentou maior comprimento do sistema radicular, por exemplo, comparativamente ao híbrido 2, podendo, a partir dessas características ser considerado mais tolerantes à deficiência hídrica.

Na ausência de interação significativa entre híbridos x regimes de irrigação, observou-se efeito isolado de híbridos apenas sobre o comprimento de raízes (CRaiz), em que o híbrido 1 superou o híbrido 2 (Tabela 3); efeito isolado do regime de irrigação ocorreu sobre o potencial hídrico foliar, conteúdo relativo de água, porcentagem de danos ao sistema de membranas (Danos), teores de açúcares redutores nas raízes (ARR) e de açúcares totais nas folhas (ASTF). Destas características, ASTF e Danos aumentaram sob restrição hídrica. Efeito simultâneo dos regimes de irrigação e de híbridos ocorreu para diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, transpiração, massa de matéria seca de caule e total (Tabelas 2 e 3, Figura 5b); sendo que todas essas características foram prejudicadas pela restrição hídrica, não havendo, porém, um padrão de comportamento bem definido entre os híbridos.

O híbrido 1 apresentou menor transpiração, talvez como forma compensatória do maior número de folhas e área foliar; o híbrido 2 apresentou comportamento intermediário para massa de matéria seca de caule e total e o híbrido 3 se destacou em diâmetro do coleto, massa de matéria seca de caule e transpiração. Não houve diferenças nos teores de açúcares redutores nas folhas (ARF) e de açúcares totais nas raízes (ASTR) entre os híbridos nem entre os regimes de irrigação (Tabelas 2 e 3).

De acordo com Vandoorne et al. (2012), a inibição do crescimento associada à manutenção da atividade fotossintética leva ao acúmulo de açúcares solúveis nas células em condição de déficit hídrico e este açúcar acumulado pode desempenhar funções importantes como sinalizador, protetor de moléculas ou participar de ajuste osmótico. Mitchell et al. (2012), estudando alterações nas concentrações de carboidratos em espécies de eucalipto, verificaram que inicialmente pode ocorrer acúmulo de açúcares devido à redução do crescimento, mas com o passar do tempo, pode haver esgotamento desses açúcares que culmina com a morte das plantas.

O aumento de 27% na concentração de ASTF, aqui observado, provavelmente se deve à redução do crescimento, pois as plantas não foram submetidas à seca extrema, mas pode estar relacionado ao ajuste osmótico, de forma a manter o turgor e o conteúdo de água da célula em níveis adequados à atividade fisiológica (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A concentração de açúcares solúveis em folhas de *E. globulus* aumentou em plantas submetidas à seca progressiva, comparativamente às plantas bem irrigadas (DUAN et al., 2013). Também, de acordo com o observado por Pinheiro e Chaves (2010), a queda na assimilação de CO₂ pode diminuir as atividades das enzimas envolvidas na glicólise, o que limita a disponibilidade de fosfoenolpiruvato (PEP), levando a um acúmulo de açúcares solúveis. Resultados semelhantes foram observados em plantas de *Quercus pubescens* e *Quercus ilex* sob deficiência hídrica em vasos, onde houve um aumento da concentração foliar de açúcares solúveis, apesar da diminuição da assimilação líquida de CO₂ (RODRIGUES-CALCERRADA et al., 2011).

Resultados diferentes a esses foram observados em dois cultivares de *Olea europaea* L. submetidos a estresse hídrico contínuo sem reirrigação, em que o conteúdo de carboidratos solúveis totais diminuiu acentuadamente após o 20º dia, e ao 30º a queda total foi de 27%. Em dois porta enxertos de laranjeira Valência submetidos à deficiência hídrica, os teores de carboidratos totais foram menores sob deficiência hídrica, em todas as partes da planta assim como sua redução na fitomassa. Nestas situações o estresse contínuo que pode ter chegado a situação drástica, causou esgotamento desses carboidratos originado especialmente pela queda de assimilação de CO₂ (BOUSSADIA et al., 2013; MAGALHÃES-FILHO et al., 2008).

Embora os híbridos tenham apresentado, para algumas características, padrões distintos de respostas frente aos dois regimes de irrigação, é fato que a restrição hídrica prejudicou o comportamento dos três híbridos. De uma forma geral, o híbrido 1 apresenta menores valores de trocas gasosas (fotossíntese, condutância estomática e transpiração), de altura e de massa seca de caule, desempenho intermediário em massa seca de folhas e diâmetro do coleto e superioridade em número de folhas, área foliar, comprimento de raízes e massa seca total. Também, o híbrido 1 possui maior relação raiz/parte aérea, sob condições adequadas de disponibilidade hídrica, sem alterar esse padrão sob déficit hídrico. A partição de matéria seca de forma semelhante pelo híbrido 1, nas duas condições hídricas, pode indicar que essa característica seja intrínseca ao mesmo, o qual não altera o padrão de alocação de biomassa entre a parte aérea e o sistema radicular sob condições restritivas, apesar de ter sido o clone com maior redução percentual no incremento em massa seca de raízes. Os híbridos 2 e 3 aumentaram a relação raiz/parte aérea sob limitação hídrica, pela redução proporcionalmente maior da massa seca da parte aérea em relação sistema radicular.

4.2 Experimento 2: Comportamento fisiológico de clones de eucalipto sob deficiência hídrica progressiva em vasos de diferentes tamanhos.

Após a suspensão da irrigação, nos vasos de menor volume de solo (3,6 e 8 L) os clones apresentaram mortalidade bastante rápida, variando em média de 8,2 a 9,15 dias nos vasos de 3,6 L e entre 17,25 a 18,25 dias nos vasos de 8 L (Figura 5), impossibilitando a diferenciação entre os clones, nesses dois tamanhos de vasos.

A queda nos valores de assimilação líquida (fotossíntese - A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) foi acentuada quando as plantas foram cultivadas nos vasos de 3,6 e 8 L, já imediatamente após a suspensão da irrigação e praticamente sem diferenças entre os clones nesses dois tamanhos de vasos (Figura 6 e 7).

Em híbridos de eucalipto, submetidos a seca progressiva, em vasos de 10 kg de amostra de um neossolo quartzarênico, Silva (2013) chegou a resultados semelhantes, em que por volta de 15 a 20 dias todas as plantas já estavam mortas, como resultado do estresse severo aplicado. Dessa forma, a identificação de mecanismos fisiológicos relacionados às características de trocas gasosas que favorecem a sobrevivência dos clones foi comprometida.

Os resultados obtidos para os vasos de 3,6 L são semelhantes aos encontrados com mudas de *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus globulus*, multiplicadas por sementes com um ano de idade e cultivadas em vasos de 5 L, que sobreviveram durante 7 dias, apresentando rápido declínio na taxa fotossintética e na condutância estomática (GINDABA; ROZANOV; NEGASH, 2004).

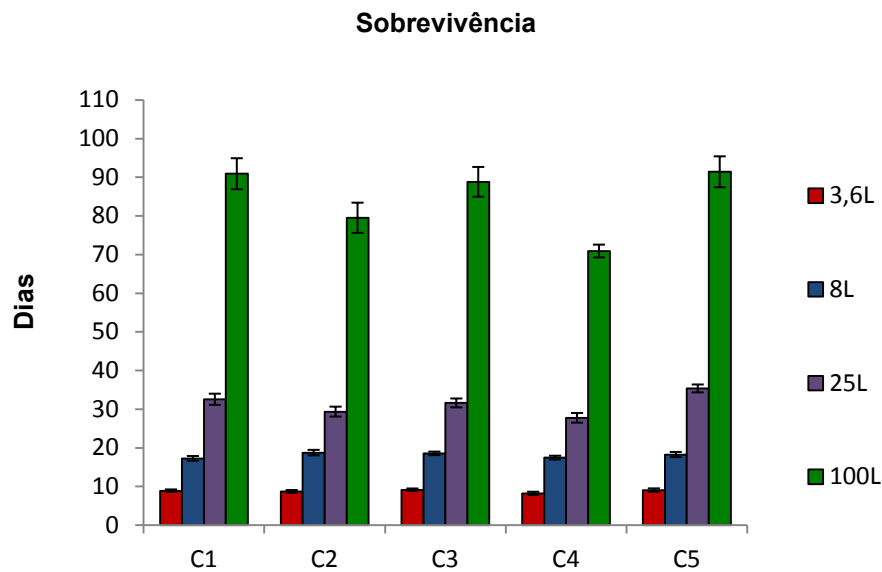


Figura 6. Sobrevivência de clones de eucalipto após suspensão de irrigação em vasos de 4 3,6 L, 8 L, 25 L e 100 L.

Em seca progressiva estabelecida em vasos de 10 L, em ipê-roxo (*Tabebuia impetigionsa*) houve queda proporcional na taxa de transpiração à medida em que a deficiência hídrica se acentuou ao longo de 30 dias (RODRIGUES et. al., 2013), provavelmente proporcionada pela diminuição do potencial hídrico e fechamento parcial, ou até total, dos estômatos limitando as trocas gasosas e por consequência a transpiração.

Nos vasos de 25 L os clones se diferenciaram, onde o H4 sobreviveu, em média 7 dias menos que o C5, respectivamente 27,75 e 35,35 dias de sobrevivência. Em vasos de 100 L, a diferença de sobrevivência entre os clones foi bem nítida, em que C5, C1 e C3 mostraram-se mais tolerantes à deficiência hídrica progressiva, sobrevivendo em média por 91,4, 90,9 e 88,8 dias, respectivamente, após a suspensão da irrigação, contra 70,9 dias do C4 e 79,5 dias do C2.

Observa-se, pelo tempo médio de sobrevivência que os clones C1, C3 e C2 são de comportamento intermediário e o C4 o mais sensível à deficiência hídrica. Mesmo nos vasos de menor volume, em que essas diferenças não foram significativas, essa foi a tendência de comportamento.

Em vasos de 25 L os valores de A e g_s mantiveram-se pouco alterados, não se diferenciando dos valores obtidos em vasos de 100 L, até por volta do 18º dia; a

partir daí a queda nesses valores foram rápidas até o 30º dia. Em vasos de 100 L, os clones apresentaram queda de forma mais lenta e gradual nas trocas gasosas, em que as plantas mantiveram suas atividades até aproximadamente 80 dias. Dessa maneira, constata-se que nesse tamanho de vaso, o estresse ocorreu de forma mais lenta e menos severa permitindo a melhor diferenciação dos clones.

Observa-se, ainda, que à medida em que as plantas têm maior volume de substrato para exploração e, conseqüentemente, maior volume de água disponível, as diferenças entre os clones se acentuam, permitindo separá-los quanto a tolerância à deficiência hídrica. Condições muito limitantes ao crescimento das plantas podem fazer com que os clones tenham desempenhos semelhantes, não possibilitando a separação de materiais possivelmente promissores para cultivos em áreas sujeitas à deficiência hídrica (VELLINI et al., 2008).

Assim, em trabalhos visando a fenotipagem para estudos de tolerância à deficiência hídrica, o uso de vasos com maior capacidade volumétrica torna-se mais interessante por possibilitar a detecção de diferenças entre os genótipos. Nos vasos pequenos a perda de água por evapotranspiração é muito rápida, fazendo com que os clones, mesmo com comportamentos distintos, se assemelhem, dificultando a detecção de diferenças entre os mesmos, pelo menos ao se adotar a manifestação dos primeiros sinais de murcha para as avaliações fisiológicas. Estes problemas, talvez possam ser contornados, realizando-se avaliações periódicas, mais próximas, antes que as plantas manifestem sintomas de deficiência hídrica.

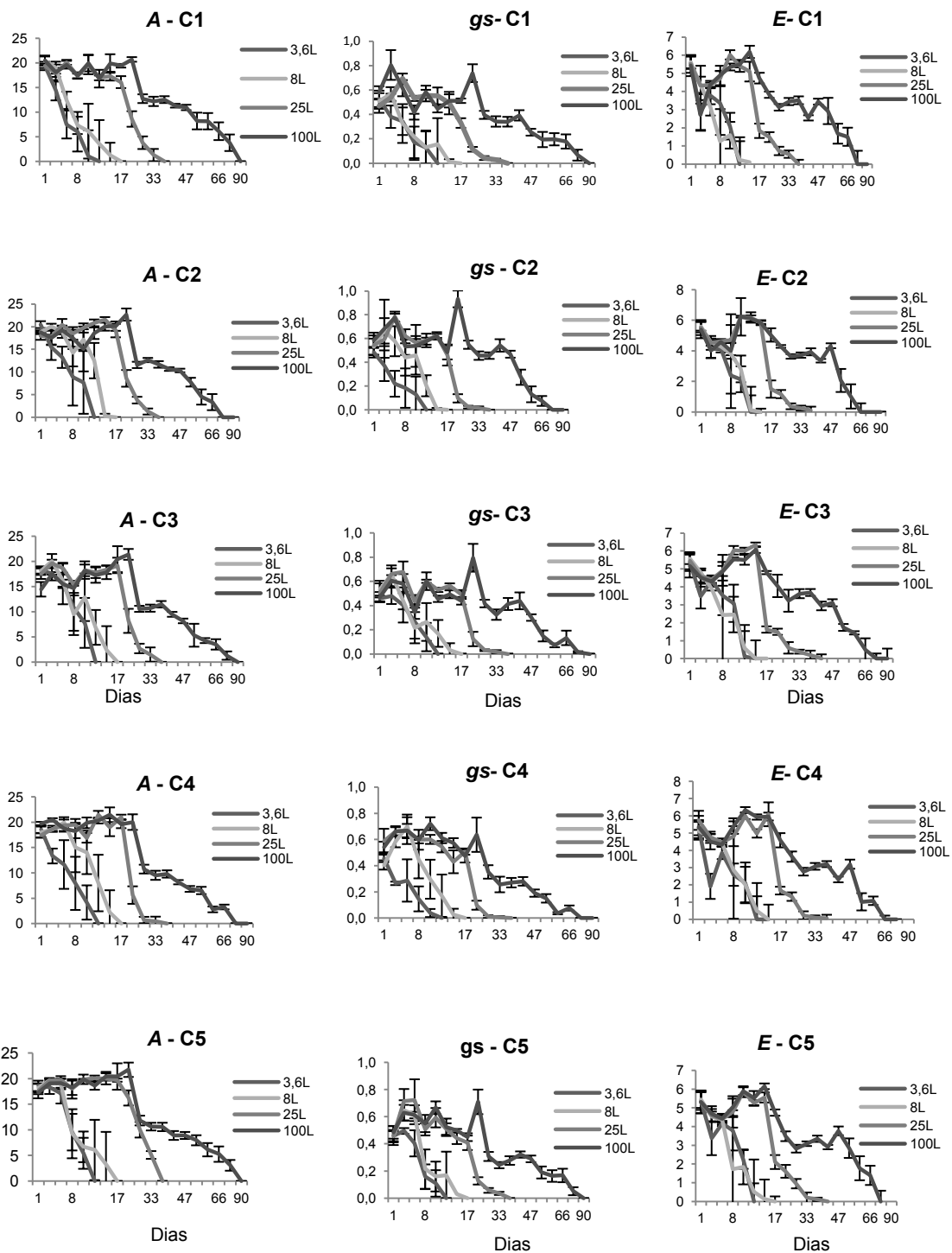


Figura 7. Taxa de assimilação líquida ($A - \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), condutância estomática ($g_s - \text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), e transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) em clones de eucalipto cultivados em vasos de diferentes tamanhos, após suspensão de irrigação até a morte das plantas.

4.3 Experimento 3: Comportamento de clones de eucalipto sob dois regimes hídricos em dois tamanhos de vasos

4.3.1 Desempenho dos clones por meio de características bioquímicas e fisiológicas.

A interação regime hídrico x clones x vasos (RI x C x V) foi significativa apenas para potencial hídrico foliar - Ψ_{wf} (Tabelas 5 e 6). Interações significativas entre regime hídrico x clones (RI x C) foram observadas para taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), Tabelas 5 e 7. Também, interações significativas entre regime hídrico x vasos (RI x V) foram observadas para g_s , E , Ψ_{wf} e teor de açúcares redutores em raízes (Tabelas 5 e 8) e interações significativas entre clones e vasos (C x V) foram observadas apenas para A e Ψ_{wf} (Tabelas 5 e 9).

O potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}) foi afetado tanto pelos regimes de irrigação, apresentando valores cerca de três vezes menor no R2, quanto pelos tamanhos de vasos (Tabela 6). O potencial hídrico foliar reflete as condições da dinâmica do processo de transporte no sistema solo-planta-atmosfera. Dessa forma, esses valores no R2 podem ter sido resultante de alterações bioquímicas que levam a mudanças na concentração do fluido celular, e também pode ser resultado da diminuição do volume das células das folhas, os dois como consequência da deficiência hídrica imposta no tratamento (FERNANDES; CAIRO; NOVAIS, 2014; PALLARDY, 2008)

O decréscimo do teor de água no solo diminui o potencial hídrico na folha, onde as células não se encontram mais túrgidas, contribuindo para diminuição da condutância estomática, e promovendo o fechamento parcial ou total dos estômatos. Esse fechamento bloqueia o influxo de CO_2 para as folhas, afetando o acúmulo de fotoassimilados, podendo levar a paralisação de crescimento das plantas e, conseqüentemente, perdas de produtividade (GHOLZ et al., 1990)

Tabela 5. Resumo da análise de variância características fisiológicas: taxa assimilação líquida (A - $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), (médias dos ciclos de suspensão), danos ao sistema de membranas (Danos - %), potencial hídrico foliar (Ψ_{wf} - MPa). Características bioquímicas: teor ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de açúcares redutores nas folhas (ARF) e nas raízes (ARR) e teor ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de açúcares solúveis totais nas folhas (ASTF) e nas raízes (ASTR), em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Fontes de	Valores de "F"/Características								
Varição	A	g_s	E	Danos	Ψ_{wf}	ARF	ARR	ASTF	ASTR
RI	2035,8**	890,4**	2223,9**	6,4*	3262,4**	33,0**	21,5**	3,3 ^{ns}	69,7**
Clone	5,5**	1,2 ^{ns}	2,3 ^{ns}	6,5**	1,4 ^{ns}	10,4**	2,6*	6,5**	2,4 ^{ns}
Vaso	51,4**	9,0**	1,7 ^{ns}	17,8**	11,8**	11,2**	5,2*	0,02 ^{ns}	5,6*
RlxC	5,6*	3,3*	3,0*	0,1 ^{ns}	1,3 ^{ns}	0,7 ^{ns}	1,8ns	0,8 ^{ns}	1,05 ^{ns}
RlxV	2,6 ^{ns}	12,1**	35,7**	10,2 ^{ns}	6,8*	0,5 ^{ns}	12,8**	1,2 ^{ns}	2,8 ^{ns}
CxV	3,9**	1,9 ^{ns}	2,4 ^{ns}	2,4 ^{ns}	3,6**	1,1 ^{ns}	2,4 ^{ns}	1,6 ^{ns}	2,3 ^{ns}
RlxCxV	0,5 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,2 ^{ns}	0,8 ^{ns}	2,9*	1,7 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,2 ^{ns}
CV(%)	8,04	19,7	9,24	10,74	10,94	14,89	16,58	11,86	18,71
Média	8,66	0,277	3,59	0,356	-2,08	41,62	12,67	91,25	24,75
Médias de regimes de irrigação									
R1	11,53	0,425	5,03	0,349 b	-0,89	50,60 a	10,20	96,7	33,88 a
R2	5,79	0,128	2,16	0,367 a	-3,26	32,64 b	15,05	85,78	15,23 b
Médias de Vasos									
V 8	8,2	0,262	3,64	0,343 b	-2,01	36,46 b	13,64	91,46	26,78 a
V 25	9,11	0,292	3,55	0,373 a	-2,15	46,78 a	11,7	91,04	22,33 b
Médias de Clones									
C1	8,78	0,255	3,51	0,364 AB	-2,07	32,33 AB	9,84 B	89,82 ABC	18,77
C2	8,55	0,279	3,6	0,390 A	-2,11	40,39 AB	14,62 A	82,52 BC	22,97
C3	8,94	0,282	3,68	0,350 B	-2,02	58,63 A	14,26 AB	101,52 AB	29,12
C4	8,12	0,281	3,47	0,347 B	-2,15	46,32 AB	12,71 AB	111,35 A	28,13
C5	8,9	0,285	3,71	0,339 B	-2,03	30,43 C	11,93 AB	71,05 C	23,78

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). ** - valor significativo ($p \leq 0,01$) pelo teste F; * valor significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste F; ^{ns} - valor não significativo ($p > 0,05$) pelo teste F. Médias seguidas por uma mesma letra, minúscula para regimes de irrigação e tamanhos e vasos e maiúscula para clones, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Em híbridos de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*, aos 17 meses de idade, houve diferença em torno de 1 MPa, nos tratamentos com restrição hídrica em relação aos tratamentos com boa disponibilidade hídrica, em condições de campo (FERRAZ, 2012). Em tratamentos com deficiência hídrica em vasos a restrição pode ser ainda maior, visto os resultados de potencial hídrico foliar obtidos no presente experimento.

No R1, não houve diferença entre os vasos e clones, visto que existe uma condição hídrica favorável às plantas. No R2, nos vasos de 8 L, C2 e C4 apresentaram valores mais baixos, enquanto que nos vasos de 25 L o C2 apresentou valor mais alto agrupando-se com os demais clones diferenciando-se apenas de C1. Entre os vasos, o C1, C3 e C5 apresentaram valores mais baixos nos vasos de 25 L diferenciando-se dos valores encontrados nos vasos de 8 L (Tabela 6).

O padrão de resposta dos clones quanto ao potencial hídrico foliar é distinto entre os dois tamanhos de vasos no R2, em que no vaso de 8 L há uma diferenciação clara entre os genótipos, com a formação de dois grupos exclusivos, um formado pelo C2 e C4 com potencial hídrico mais baixo, e outro formado pelo C1, C3 e C5, com potencial hídrico superior. Essa resposta pode ser resultado da maior sinalização, e pela rapidez com que o estresse é detectado pela planta, em razão da menor disponibilidade de recursos como solo e água em vasos de 8 L.

No vaso de 25 L, essa distinção não é tão evidente, distinguindo-se apenas o C1, de potencial hídrico mais negativo, do C2, de maior potencial hídrico. Ressalta-se, porém, que a avaliação do potencial hídrico foliar foi feita ao final do experimento, momento que o vaso de 8 L poderia estar limitando o crescimento das plantas, dada a menor quantidade de solo e água disponíveis.

Tabela 6. Desdobramento da interação regimes de irrigação x clones x vasos para potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em vasos com capacidade para 8 e 25 L, em casa de vegetação

Clones	Ψ_{wf}			
	R1		R2	
	V8	V25	V8	V25
C1	-0,84 AaX	-0,90 AaX	-2,99 BbY	-3,57AaY
C2	-0,96 AaX	-0,92 AaX	-3,38 AaY	-3,18 AbY
C3	-0,91 AaX	-0,87 AaX	-3,10 BbY	-3,30 AabY
C4	-0,81 AaX	-0,95 AaX	-3,41 AaY	-3,45 AabY
C5	-0,84 AaX	-0,90 AaX	-2,93 BbY	-3,46 AabY

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). V8 – Vasos com 8 L de solo; V25 – vasos com 25 L de solo. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula (A, B) para tamanhos de vasos dentro de cada regime hídrico e clone, maiúscula (X, Y) para regimes de irrigação, para um mesmo tamanho de vaso e clone, e minúsculas (a, b) para clones, dentro de cada regime de irrigação e tamanho de vaso, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quanto a interação regimes de irrigação x clones (RI x C), reduções de 50% em média, no regime de irrigação 2 em relação ao R1, ocorreram para taxa de assimilação líquida, em que o clone 4 apresentou a maior redução (57%), seguido pelo C2 (56%), C1 (48,3%), C3 (44,6%) e, por último pelo C5, com redução de 43,4% (Figura 8).

A condutância estomática (g_s) apresentou redução média entre os clones de 70%, no R2 em relação ao R1, em que o C2 reduziu 77%, seguido pelo C4 e C1 com 72%, C3 com 65,5% e, novamente por último, pelo C5 com redução de 61%. Para transpiração (E) a média de redução foi de 57%, em que as maiores reduções ocorreram para o C4 (61,2%) e C2 (61%), seguidos por C1 (57,7%), C3 (54%) e C5 com 50,8%. Assim, dentre as características de trocas gasosas, a condutância estomática foi a mais sensível à restrição hídrica (Tabela 7; Figura 8), porém, com alterações bem menos intensas do que a verificada para o Ψ_{wf} .

Tabela 7. Desdobramento da interação regimes de irrigação x clones para taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s - $\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Clones	A		g_s		E	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
C1	11,58 Aa	5,98 Bab	0,398 Aa	0,111 Ba	4,94 Aa	2,09 Bab
C2	11,76 Aa	5,34 Bbc	0,455 Aa	0,103 Ba	5,18 Aa	2,02 Bb
C3	11,51 Aa	6,37 Ba	0,420 Aa	0,145 Ba	5,04 Aa	2,32 Bab
C4	11,36 Aa	4,89 Bc	0,443 Aa	0,120 Ba	5,00 Aa	1,94 Bb
C5	11,44 Aa	6,47 Ba	0,410 Aa	0,460 Ba	5,06 Aa	2,49 Ba

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para regimes de irrigação e minúsculas para clones, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

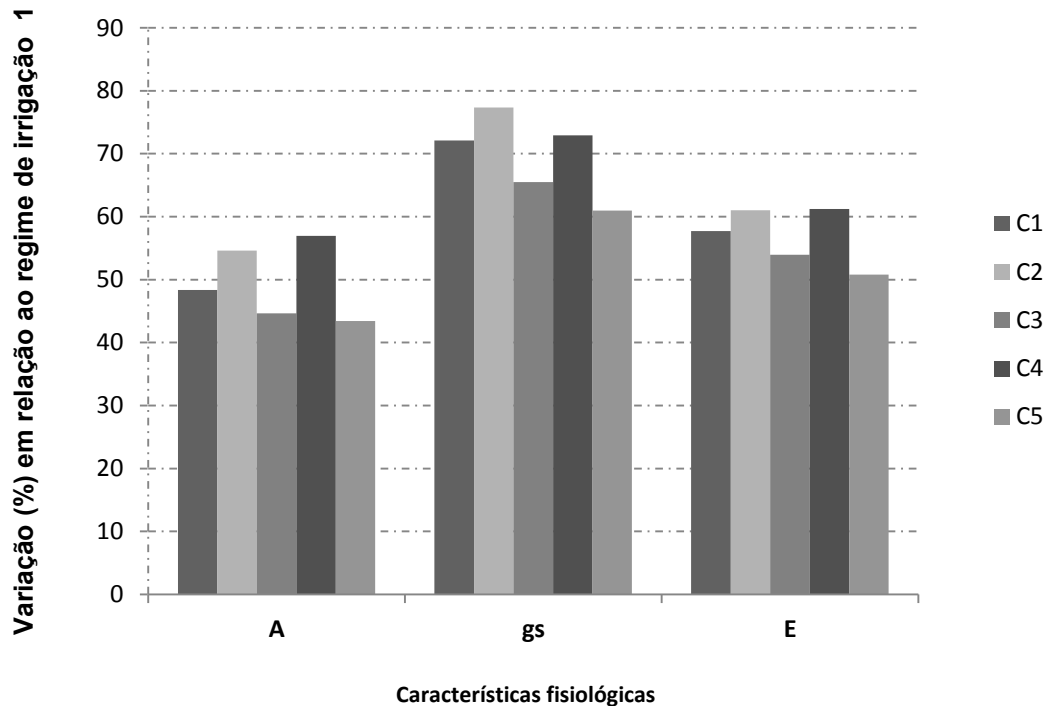


Figura 8. Variações (%) em (a) taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s), Transpiração (E), para os cinco clones cultivados sob restrição hídrica em relação ao suprimento adequado de água. (Valores positivos indicam redução e negativos indicam aumento na característica sob restrição hídrica)

Lima, Jarvis e Rhizopoulou (2003), analisaram as trocas gasosas em cinco espécies de *Eucalyptus*, submetidas a deficiência hídrica em vasos de 4 L, e observaram que as taxas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração

foram menores em todas as plantas submetidas à deficiência hídrica, quando comparadas com as taxas das mesmas plantas irrigadas, corroborando com os resultados neste experimento (Figura 8). Estudando seis espécies de eucalipto sob diferentes condições de disponibilidade hídrica, Merchant et al. (2007) observaram reduções mais acentuadas na condutância estomática do que na taxa fotossintética, a exemplo do observado aqui (Figura 8).

Segundo Mielke et al. (1999), é provável que a condutância estomática dependa do potencial hídrico da folha, que diminui sob condições de estresse. A diminuição da g_s e E , e, por fim, da taxa fotossintética (A) em consequência do fechamento estomático, é identificada como sendo as primeiras respostas para reduzir a perda da água pelas plantas sob deficiência hídrica (CHAVES et al., 2003; PITA et al., 2005). Situação ressaltada por Santos, Guimarães e Klein et al. (2012), identificando o controle estomático como importante ferramenta de combate à desidratação foliar, pois é um dos primeiros ajustes desenvolvido pela planta a fim de evitar a continuidade da perda de água.

Analisando a interação regime de irrigação x vasos (RI x V), observa-se para g_s em relação ao R1, reduções de 77,5% no vaso de 8 L e de 62% no vaso de 25 L; para a transpiração (E) a redução foi de 61,5% no vaso de 8 L e 52,2% no vaso de 25 L; redução em torno de 250%, nos dois tamanhos de vasos, ocorreram para o potencial hídrico foliar. Por outro lado, os teores de açúcares redutores em raízes aumentaram cerca de 10% nos vasos de 8 L e 110% nos de 25 L (Tabela 8; Figura 9a).

No regime de irrigação 1 (R1), a condutância estomática (g_s) foi semelhante nos dois tamanhos de vasos, porém no R2, as plantas estabelecidas nos vasos de 8 L apresentaram valores de g_s cerca de 40% inferiores aos observados nos vasos de 25 L. Para transpiração no R1, maiores valores foram observados nas plantas dos vasos de 8 L (9,15%), mas no R2, as plantas estabelecidas nesses vasos apresentaram valores inferiores em aproximadamente 12,17% em relação às estabelecidas nos vasos de 25 L. O potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}) foi menor no vasos de 25 L, independentemente do regime de irrigação. Para ARR, o comportamento foi bem divergente nos dois regimes de irrigação, em que no R1 maiores valores

ocorreram nas plantas dos vasos de 8 L (42%), mas no R2 os maiores valores de ARR foram observados nos vasos de 25 L (11%), Tabela 8 e Figura 9b.

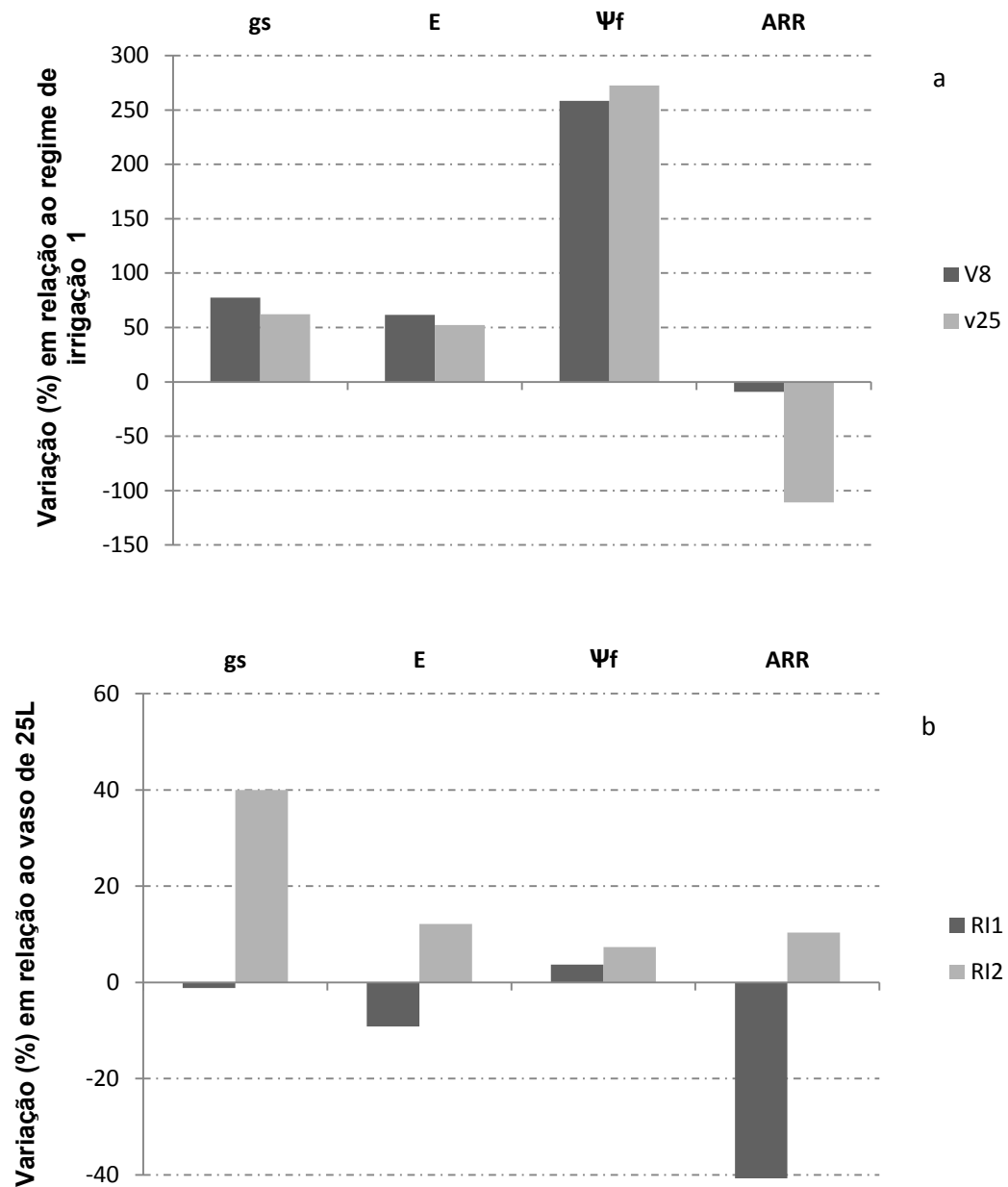
Tabela 8. Desdobramento da interação regimes de irrigação x vasos (RI x V) para condutância estomática (g_s - mol H₂O.m⁻².s⁻¹), transpiração (E - mmol H₂O.m⁻².s⁻¹), potencial hídrico foliar (Ψ_{wf} - MPa), teor de açúcares redutores em raízes (mg.g⁻¹ - ARR) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Vasos	g_s		E	
	R1	R2	R1	R2
V8	0,428 Aa	0,096 Bb	5,25 Aa	2,02 Bb
V25	0,423 Aa	0,160 Ba	4,81 Ab	2,30 Ba
	Ψ_{wf}		ARR	
	R1	R2	R1	R2
V8	-0,876 Ba	-3,14 Ab	13,05 Aa	14,23Aa
V25	-0,910 Ba	-3,39 Ab	7,53 Bb	15,88 Aa

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). V8 – Vasos com 8 L de solo; V25 – vasos com 25 L de solo. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para regimes de irrigação e minúsculas para vasos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A quantificação desses açúcares pode dar uma indicação indireta da capacidade fotossintética, se existe maior quantidade, pode indicar boas condições da planta, seja pela sua produção via fotossíntese, e pela a sua utilização via metabolismo. Os maiores teores de açúcares redutores nas raízes (ARR) em vasos de 25 L indica que o metabolismo provavelmente foi menos comprometido pela deficiência hídrica, e ainda pode estar promovendo uma alocação de carbono para as raízes em resposta a deficiência hídrica.

Cernusak et al. (2003) identificaram que durante períodos de deficiência hídrica a concentração de carboidratos solúveis totais aumentou no floema de *E. globulus*, o que pode-se deduzir um favorecimento da alocação de carbono nas raízes nesta situação, visto que o maior teor de ARR neste experimento também foi evidente, colaborando com essa informação.



Características fisiológicas e bioquímicas

Figura 9. Variações (%) em: a) condutância estomática (g_s), transpiração (E), potencial hídrico foliar (Ψ_{wf}), teores de açúcares redutores nas raízes (ARR) em plantas de cinco clones de eucalipto cultivadas nos dois tamanhos de vasos em relação aos dois regimes e b) nos dois regimes de irrigação em relação aos dois tamanhos de vasos. (Valores positivos indicam redução e negativos indicam aumento na característica do R2 em relação ao R1).

Já em plantas de mogno-africano (*Khaya ivorensis*) submetidas à deficiência hídrica progressiva por 14 dias e posterior reidratação, o teor de carboidratos solúveis totais decresceu, mostrando que o estresse afetou o metabolismo fotossintético e, com isso, a síntese desses fotoassimilados ficou comprometida (ALBUQUERQUE et al., 2013).

Contudo, a dosagem dos teores de açúcares solúveis totais e redutores em folhas e raízes de *Solanum lycocarpum*, demonstrou que os níveis desses compostos aumentaram significativamente em resposta à deficiência hídrica, sendo que os açúcares redutores foram os que mais contribuíram para esse aumento (CHAVES-FILHO; SERAPHIN, 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por Marur (1998) em *Gossypium hirsutum* L. sob condições de deficiência hídrica, em que as plantas apresentaram aumento no teor de açúcares redutores.

Quanto a interações entre clones x vasos (C x V) observa-se que a taxa de assimilação líquida foi maior nos clones 1, 3 e 5, nos vasos de 25 L, em relação aos de 8 L; para C2 e C4 não houve diferenças nos dois tamanhos de vasos.

Para o potencial hídrico foliar, os clones 1 e 5 apresentaram menores valores de Ψ_{wf} nos vasos de 25 L, enquanto os demais clones não diferiram nos dois tamanhos de vasos. Por outro lado, não foram verificadas diferenças entre os clones quando cultivados nos vasos de 8 L, para taxa de assimilação líquida, e nos vasos de 25 L para Ψ_{wf} . Comparativamente aos vasos de 25 L, os de 8 L foram mais restritivos aos clones para taxa de assimilação líquida, proporcionando valores inferiores de 11% para o C1, 2% para o C2, 12% para C3, 6,5% no C4 e 16,8% no C5.

Quanto ao potencial hídrico foliar o clone 2, apresentou valores inferiores em torno de 5% nos vasos de 8 L em relação aos de 25 L, enquanto que para os demais clones esses valores foram superiores nos vasos de 8 L, em torno de 5% para C3 e C4, e 14% para C1 e C5 (Tabela 9).

Tabela 9. Desdobramento da interação clones x vasos para taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e Ψ_{wf} - MPa), em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Clone	A		Ψ_{wf}	
	V8	V25	V8	V25
C1	8,27 Ba	9,29 Aab	-1,91 Bb	-2,23 Aa
C2	8,46 Aa	8,64 Abc	-2,17 Aa	-2,05 Aa
C3	8,36 Ba	9,52 Aa	-1,96 Aab	-2,08 Aa
C4	7,85 Aa	8,40 Ac	-2,10 Aab	-2,20 Aa
C5	8,09 Ba	9,72 Aa	-1,88 Bb	-2,18 Aa

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). V8 – Vasos com 8 L de solo; V25 – vasos com 25 L de solo. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para vasos e minúsculas para clones, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

À exceção dos teores de açúcares redutores nas raízes (ARR) em que a interação RI x V foi significativa (Tabelas 5 e 8), para os teores de açúcares redutores nas folhas (ARF), açúcares solúveis totais nas folhas (ASTF) e nas raízes (ASTR) e danos ao sistema de membranas (Danos), não foram observados efeitos significativos de quaisquer interações entre os fatores estudados. Para ARF, ARR e Danos houve também efeitos significativos de regimes de irrigação, de clones e de vasos, para ASTF houve diferenças significativas apenas entre os clones e para ASTR houve efeitos significativos dos regimes de irrigação e dos vasos (Tabela 5).

No R2 houve aumento de 5% nos danos ao sistema de membranas em relação ao R1, e em relação aos vasos de 25 L os vasos de 8 L proporcionaram aumentos de 8% nessa característica. O clone 2 apresentou maiores Danos no sistema de membranas que C3, C4 e C5, porém não se diferenciou do H1, o qual também teve comportamento semelhante ao C3, C4 e C5 (Tabela 5).

Apesar de pequeno esse dado mostra que houve danos ao sistema de membranas e indica que houve extravasamento de eletrólitos das células, geralmente associados a ocorrência de estresse, causando aumento da quantidade de espécies ativas de oxigênio (superóxidos), radicais livres e de enzimas de “lise” (ROY-MACAULEY et al., 1992). Isto resulta na ruptura e aumento da permeabilidade das membranas e, muitas vezes, em danos irreversíveis nas organelas e moléculas presentes no interior das células (ALONSO et al., 1997).

No R2 houve aumento de 47% em ARR e reduções de 36% em ARF e de 56% em ASTR. Vasos de 25 L proporcionaram valores superiores de ARF, porém inferiores de ARR e ASTR que os vasos de 8 L (Tabela 5).

O C4 apresentou teores de ASTF superiores aos observados nos C2 e C5 (Tabela 5). A inibição do crescimento e a manutenção da atividade fotossintética Vandoorne et al. (2012) pode ter sido o motivo do acúmulo maior de ASTF no clone 4 sendo este o que mais reduziu em crescimento. Isso pode indicar que essa resposta esteja associada ao ajuste osmótico.

Para ARF, diferenças entre os clones foram detectadas basicamente entre o C3 e C5, com maiores valores para o primeiro. Já para ARR, diferenças ocorreram apenas entre C1 e C2, com maiores valores no C2 (Tabela 5).

4.3.2 Desempenho dos clones por meio de características de crescimento

A interação regime hídrico x clones x vasos (RI x C x V) foi significativa apenas para massa de matéria seca da parte aérea e massa de matéria seca total (Tabelas 10 e 12).

Interações significativas entre regime hídrico x clones (RI x C) foram observadas para altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, massa de matéria seca de raízes e de caule (Tabelas 10 e 12) e interações significativas entre regime hídrico x vasos (RI x V) foram observadas para todas as características de crescimento (Tabelas 10 e 13). Porém outro lado, as interações entre clones e vasos (C x V) não foram significativas ($p > 0,05$), independentemente da característica estudada (Tabela 10).

A massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e total (MST), foi menor no R2 em relação ao R1, e nos vasos de 8 L em relação aos de 25 L, independentemente do clone. Nos dois regimes de irrigação, não houve diferenças entre os clones quando cultivados nos vasos de 8 L, o mesmo ocorrendo quando os clones foram cultivados nos vasos de 25 L no R2. Quando cultivados nos vasos de 25 L, no R1, o C1; foi superior. Já para MST a diferenciação entre os clones foi

maior em que C1 e C5 foi superior aos demais e o C2 e C3, superaram o C5 (Tabela 11).

Klippell et al. (2013) encontraram maiores valores para altura, diâmetro do coleto e acúmulo de matéria seca total em plantas de *E. urograndis*, cultivadas em vasos de 100 L, que não sofreram restrição hídrica. Em relação a MSPA na fase de mudas, as plantas investem proporcionalmente mais energia na produção de galhos e folhas, em detrimento de outros compartimentos, de forma que estas também são as características mais sensíveis à deficiência hídrica.

Com o aumento da idade das plantas, maior biomassa é alocada para a formação de madeira, de forma que este comportamento poderá se alterar ao longo do ciclo da cultura, o que corrobora as afirmações de vários autores (CHAVES; OLIVEIRA, 2004; GINDABA; ROZANOV; NEGASH, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2013, PINHEIRO; CHAVES, 2011, PAULA; PAULA; MARINO, 2012) de que os efeitos da deficiência hídrica são variáveis em função da espécie, genótipos, estágio fenológico e da sua intensidade e duração. Mesmo assim, o estudo de biomassa juntamente com outras características bioquímicas e fisiológicas, pode ser útil para avaliar o desempenho de híbridos em estágio de mudas frente à deficiência hídrica.

Reduções no R2, em relação ao R1, ocorreram em média de 40% para altura (Alt) e diâmetro do coleto (DC), em torno de 70% para área foliar (AF) e massa de matéria seca de caule (MSC) e raízes (MSR) e de 60% para número de folhas (NF). O C3 apresentou menor redução em Alt (28%), DC (35%), MSC (65%) e MSR (66%), porém apresentou maiores reduções em NF; quanto às reduções em AF, os clones apresentaram comportamentos semelhantes (Tabela 11, Figura 10).

Tatagiba et al. (2009), estudando seis clones comerciais de *Eucalyptus* spp. em resposta à disponibilidade de água, verificaram que a deficiência hídrica restringiu o crescimento em altura e diâmetro dos clones estudados. Resultados semelhantes foram, também, obtidos por Duarte (2014) em mudas de paricá (*Schizolobium amazonicum*) em três condições de deficiência hídrica.

Tabela 10. Resumo da análise de variância para altura (Alt - cm); diâmetro do coleto (DC – mm); número de folhas (NF); área foliar (AF - cm²); comprimento de raízes (CRaiz - cm); massa de matéria seca (g.planta⁻¹) de folhas (MSF), de raízes (MSR), de caule (MSC), da parte aérea (MSPA = MSF+MSC) e total (MST = MSPA+MSR) e relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Fontes de	Valores de "F"/Características									
Variação	Alt	DC	NF	AF	MSF	MSR	MSC	MSPA	MST	RPA
RI	638,1**	819,7**	815,3**	3427,7**	1410,6**	538,9**	1566,9**	2166,6**	1744,2**	421,9**
Clone	4,8**	4,5**	7,0**	3,9**	5,8**	9,5**	7,6**	4,43**	7,1**	5,2**
Vaso	118,3**	102,9**	178,3**	1035,3**	235,6**	94,4**	437,7**	482,5**	367,1**	144,1**
RlxC	3,0*	3,0*	7,54**	2,7*	1,6 ^{ns}	2,6*	2,5*	1,8 ^{ns}	2,2 ^{ns}	0,99 ^{ns}
RlxV	19,5**	30,4**	84,6**	266,1**	38,8**	32,5**	139,8**	121,5*	99,9**	35,3**
CxV	0,5 ^{ns}	0,6 ^{ns}	1,3 ^{ns}	0,6 ^{ns}	2,2 ^{ns}	1,8 ^{ns}	0,5 ^{ns}	1,6 ^{ns}	2,0 ^{ns}	0,7 ^{ns}
RlxCxV	0,2 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,2 ^{ns}	0,2 ^{ns}	2,1 ^{ns}	1,7 ^{ns}	1,9 ^{ns}	2,9*	2,9*	0,5 ^{ns}
CV(%)	10,37	10,06	17,18	10,14	13,55	24,9	14,85	11,78	13,28	10,84
Média	94,12	10,38	157,4	3601,01	21,29	11,83	20,68	41,87	53,71	0,49
Médias de regimes de irrigação										
R1	116,3	13,11	227,96	5551,6	31,0	18,0	31,7	62,83	80,92	0,39
R2	71,6	7,65	86,9	1650,4	11,3	5,5	9,58	20,91	26,51	0,59
Médias de Vasos										
V 8	84,4	9,41	124,4	2529,0	17,1	9,2	14,8	31,98	41,23	0,55
V 25	103,8	11,35	190,4	4673,0	25,2	14,4	26,5	51,76	66,1	0,43
Médias de Clones										
C1	94,5	10,6	137,0	3482,8	23,4 a	13,1	21,0	44,56	57,70	0,50
C2	101,0	10,8	168,1	3544,5	20,0 b	13,0	22,2	42,35	55,33	0,51
C3	90,1	10,58	171,5	3539,9	20,7 b	13,2	22,3	42,99	56,25	0,52
C4	94,3	9,81	147,4	3579,6	20,1 b	10,7	19,4	39,56	50,29	0,50
C5	90,45	9,99	163,0	3858,05	21,5 ab	9,0	18,3	39,89	48,92	0,45

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). ** - valor significativo ($p \leq 0,01$) pelo teste F; * valor significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste F; ^{ns} - valor não significativo ($p > 0,05$) pelo teste F. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Nascimento et al. (2011), trabalhando com mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), identificaram a área foliar como a característica mais sensível a deficiência hídrica. A queda da produção de biomassa está associada à queda de assimilação de carbono, como efeito da diminuição da área fotossintética.

No regime de irrigação 2, na média dos dois tamanhos de vasos, os clones apresentaram comportamento semelhantes para DC, Alt, NF, AF, MSF e MSR, o

que pode sugerir um intenso estresse hídrico imposto às plantas, não permitindo a diferenciação dos clones. Por outro lado, sob condições hídricas adequadas (R1), os clones manifestaram seu potencial de crescimento, possibilitando diferenciá-los. Neste sentido, em geral, o C5 apresentou menor crescimento e acúmulo de matéria seca, apesar de maiores valores de AF (Tabela 12)

Quanto a interação regimes de irrigação x vasos, observou-se que a deficiência hídrica promoveu maiores reduções em Alt, DC e, NF, quando as plantas foram cultivadas nos vasos de 25 L, comparativamente aos de 8 L. Por outro lado, o oposto ocorreu para relação massa de matéria parte aérea e massa de matéria seca de raízes (RPA); para as demais características, ou seja, AF, MSF, MSR e MSPA, as reduções foram relativamente semelhantes nos dois tamanhos de vasos (Tabela 13, Figura 11a).

Esses resultados sugerem que o tamanho de vaso influenciou o crescimento e o acúmulo de matéria seca pelas plantas de forma diferenciada nos dois regimes de irrigação em que vasos menores apresentaram menores reduções em Alt, DC, NF, MSR e MSC sob estresse hídrico. Isto, também, pode ter sido causado pelo tempo de experimentação, ou seja, o tempo de condução do experimento poderia ter sido menor para os vasos menores, de forma a não provocar limitação excessiva ao desempenho dos clones. Neste sentido, as plantas do R1, nos vasos menores (3,6 L) podem ter sido limitadas e no R2, as mesmas conseguiram crescer nos intervalos dos ciclos de suspensão de irrigação.

Tabela 11. Desdobramento da interação clones x vasos x regimes de irrigação para massa de matéria seca (g.planta^{-1}) da parte aérea (MSPA) e total (MST) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Clones	MSPA			
	R1		R2	
	V8	V25	V8	25
	C1	48,07 1BaX	87,73 1AaX	17,22 2BaY
C2	48,99 1BaX	77,27 1AbX	16,31 2BaY	26,85 2AaY
C3	49,34 1BaX	78,03 1AbX	16,46 2BaY	28,14 2AaY
C4	45,63 1BaX	73,70 1AbX	14,97 2BaY	23,94 2AaY
C5	47,85 1BaX	71,74 1AbX	14,93 2BaY	25,02 2AaY

Clones	MST			
	R1		R2	
	V8	V25	V8	25
	C1	61,96 1BaX	114,55 1AaX	22,39 2BaY
C2	64,66 1BaX	101,66 1AbX	21,00 2BaY	34,00 2AaY
C3	64,66 1BaX	102,03 1AbX	22,16 2BaY	36,17 2AaY
C4	58,50 1BaX	94,00 1AbcX	19,00 2BaY	29,66 2AaY
C5	59,83 1BaX	87,33 1AcX	18,16 2BaY	30,33 2AaY

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). V8 – Vasos com 8 L de solo; V25 – vasos com 25 L de solo. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula (A, B) para tamanhos de vasos dentro de cada regime hídrico e clone, maiúscula (X, Y) para regimes de irrigação, para um mesmo tamanho de vaso e clone, e minúsculas (a, b) para clones, dentro de cada regime de irrigação e tamanho de vaso, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

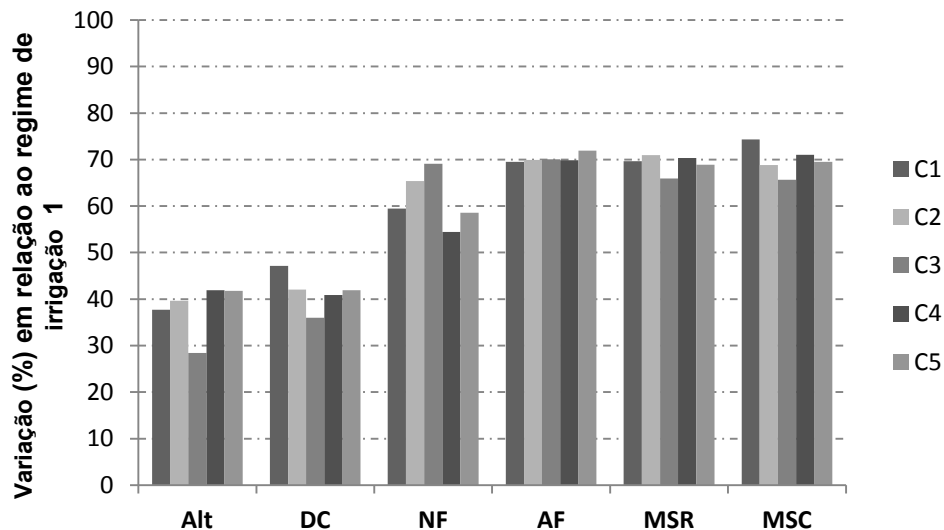
Comparativamente aos vasos de 25 L, dentro dos regimes de irrigação, os vasos de 8 L proporcionaram redução em Alt de 20,9% no R1 e de 14,9% no R2; redução em DC de 20,4% no R1 e 10,8% no R2 e em NF de 39,2% no R1 e 21% no R2. Para MSC, MSR e MSPA a redução também foi maior no R1 em relação ao R2. Por outro lado, a RPA foi maior nos vasos de 8 L, independentemente do regime de irrigação (Figura 10 b).

Tabela 12. Desdobramento da interação clones x regimes de irrigação para diâmetro do coleto (DC - mm) altura de plantas (Alt - cm), número de folhas (NF), área foliar (AF-cm²), massa de matéria seca (g.planta⁻¹) de raízes (MSR) e de caule (MSC) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Clone	DC		NF		ALT	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
C1	13,94 Aa	7,37 Ba	195,00 Ad	79,00 Ba	116,58 Aabc	72,58 Ba
C2	13,75 Aab	7,97 Ba	249,5 Aab	86,33 Ba	126,00 Aa	76,08 Ba
C3	12,9 Asbc	8,26 Ba	262,08 Aa	81,00 Ba	106,83 Ac	76,50 Ba
C4	12,33 Ac	7,29 Ba	202,58 Acd	92,33 Ba	119,41 Aab	69,33 Ba
C5	12,64 Abc	7,34 Ba	230,66 Abc	95,5 Ba	114,33 Abc	66,58 Ba

Clone	AF		MSR		MSC	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
C1	5338,53 Ab	1627,25 Ba	20,15 Aa	6,11 Ba	33,41 Aab	8,58 Ba
C2	5449,36 Ab	1639,71 Ba	20,15 Aa	5,86 Ba	33,91 Aa	10,58 Ba
C3	5447,2 Ab	1632,67 Ba	19,74 Aab	6,72 Ba	33,25 Aab	11,41 Ba
C4	5499,58 Ab	1659,72 Ba	16,57 Abc	4,92 Ba	30,16 Abc	8,75 Ba
C5	6023,37 Aa	1692,73 Ba	13,82 Ac	4,30 Ba	28,16 Ac	8,58 Ba

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para regimes de irrigação e minúsculas para clones, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).



Características de crescimento

Figura 10. Variações (%) em altura (Alt), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF) e massa de matéria seca de raízes (MSR) e Caule (MSC) para os cinco clones cultivados sob restrição hídrica em relação ao suprimento adequado de água. (Valores positivos indicam redução e negativos indicam aumento na característica sob restrição hídrica).

Tabela 13. Desdobramento da interação regimes de irrigação x vasos (RIxV) para altura de plantas (Alt - cm), diâmetro do coleto (DC- mm); Número de folhas (NF); área foliar (AF-cm²); massa de matéria seca (g.planta⁻¹) de folhas (MSF), de caule (MSC), de raízes (MSR), da parte aérea (MSPA) e total (MST); relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA) em plantas de cinco clones de eucalipto submetidas a dois regimes de irrigação (RI) em casa de vegetação.

Vasos	ALT		DC		NF	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
V8	103,00 Ab	65,8l Bb	11,62 Ab	7,21 Ba	172,2 Ab	76,66 Bb
V25	130,25 Aa	77,36 Ba	14,60 Aa	8,09 Ba	283,66 Aa	97,20 Ba
	AF		MSF		MSR	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
V8	3936,08 Ab	1121,91 Bb	25,38 Ab	8,95 Bb	13,93 Ab	4,50 Bb
V25	7167,14 Aa	2178,92 Ba	36,69 Aa	13,73 Ba	22,24 Aa	6,66 Ba
	MSC		MSPA		MST	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
V8	22,60 Ab	7,03 Bb	47,98 Ab	15,98 Bb	61,92 Aa	20,54 Bb
V25	40,96 Aa	12,13 Ba	77,69 Aa	25,83 Ba	99,91 Aa	32,47 Ba
	RPA					
			R1	R2		
V8			0,68 Aa	0,42 Bb		
V25			0,51 Aa	0,36 Bb		

RI – regimes de irrigação (R1 – irrigação em dias alternados; R2 – irrigação suspensa até o aparecimento de sintomas iniciais de murcha, seguida de nova irrigação). V8 – Vasos com 8 L de solo; V25 – vasos com 25 L de solo. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para regimes de irrigação e minúsculas para tamanhos de vasos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Esses resultados sugerem que o uso de vasos pequenos não é adequado para estudos de tolerância à seca, visto que limita o crescimento das plantas quando cultivadas sob condições adequadas de disponibilidade hídrica, impedindo a caracterização correta dos clones. Por outro lado, esse inconveniente pode ser contornado conduzindo-se os experimentos por um período menor, em geral, inferior a 90 dias.

A área foliar é um dos parâmetros importantes na avaliação do crescimento vegetal e sua expansão está relacionada com a interceptação da radiação solar, fotossíntese e acúmulo de biomassa (STRECK, 2004). A área foliar apresentou maior redução sob estresse hídrico, assim como também pela redução no tamanho dos vasos, mostrando-se mais sensível a esses dois tipos de estresse.

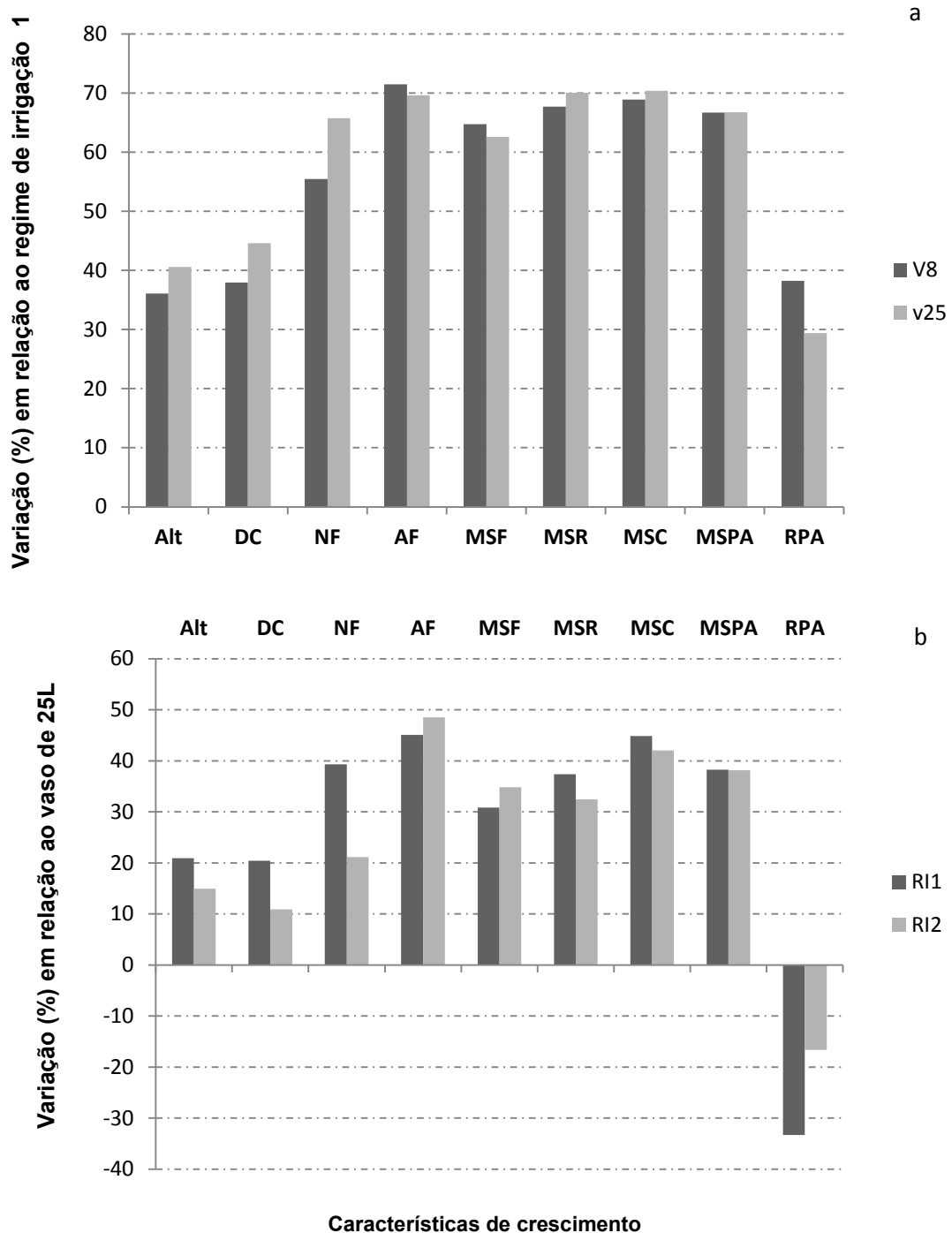


Figura 11. Variações (%) em altura (Alt), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa de matéria seca de folhas (MSF), de raízes (MSR), de caule (MSC) e da parte aérea (MSPA) e relação massa de matéria seca de raízes/massa de matéria seca da parte aérea (RPA), em plantas de cinco clones de eucalipto, em dos dois tamanhos de vasos (a) e sob dois regimes hídricos (b). (Valores positivos indicam redução e negativos indicam aumento na característica sob restrição hídrica, em relação ao R1, nos vasos de 8 e 25 L (a) e nos vasos de 8 L, em relação aos de 25 L, nos dois regimes de irrigação (b))

A redução da área foliar nas plantas sob deficiência hídrica deu-se, principalmente, pela redução do tamanho das folhas, mas também no seu número. Visivelmente houve diminuição do número e da taxa de crescimento dos ramos, situação mostrada também por Tatagiba et al. (2009). Isto pode ter ocorrido devido ao ajuste da área de transpiração frente à deficiência hídrica. A redução do número de folhas, juntamente com a diminuição da área foliar, em plantas pode ser considerada como uma estratégia de sobrevivência para evitar a perda de água por transpiração.

Neste experimento, a RPA foi 33% maior no R1 e 16,6% no R2, nos vasos de 8 L em relação aos vasos de 25 L. Em geral houve um maior valor de RPA no R1 e em vasos de 8 L (Figura 11a e 11b). Dentre os clones o C5 apresentou a menor RPA se diferenciando dos demais (Tabela 10).

Em *Eucalyptus urograndis* Klippel et al. (2013) não encontraram diferenças em RPA em dois tratamentos com deficiência hídrica em vasos de 100 L. O crescimento radicular é considerado uma característica constitutiva e não induzida pelo estresse (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2006; BLUM, 2011), e ainda apresenta herança simples e pode ter efeitos decisivos no desempenho e produtividade das plantas em condições de seca operando, principalmente, para evitar a desidratação (BLUM, 2011).

Segundo Laclau (2013), a deficiência hídrica modifica as relações fonte/dreno e por consequência a repartição de biomassa. A relação raiz/parte aérea tende a aumentar nas condições de deficiência hídrica, implicando que a mesma afeta menos o crescimento das raízes, que é proporcionalmente maior devido a busca de água do que da parte aérea, causando uma diminuição da superfície foliar.

A deficiência hídrica alterou a repartição de biomassa nas folhas e raízes em plantações tropicais de eucalipto (STAPE; RYAN; BINKLEY, 2004). Li e Wang (2003) encontraram um aumento da RPA em condições de deficiência hídrica em plantas em vasos de 5 L em *Eucalyptus microtecha* F muel,.

Nesse caso, a maior RPA no R1 se deve às irrigações frequentes, visto na metodologia, onde a planta se adapta a maiores trocas gasosas e conseqüentemente maior assimilação de carbono e, portanto, maior partição de biomassa para as raízes onde a demanda de água é cada vez maior. Este pode ser

um efeito indesejado que ocorre em menores tamanhos de vasos, onde o efeito da água tende a ser mais concentrado.

4.3.3 Diferenciação dos clones de eucalipto quanto às características de crescimento, fisiológicas e bioquímicas nos experimentos II e III

O C4, seguido pelo C2, apresentou maiores reduções em características de crescimento e em trocas gasosas. O C4 apresentou mortalidade mais rápida, quando cessada a irrigação (experimento II), independentemente do tamanho de vasos, e ainda maiores teores de ASTF. Assim, esse clone é considerado mais sensível à deficiência hídrica.

O C3 pode ser considerado tolerante, pois além de ter baixa redução em trocas gasosas no R2, teve menor redução em todas características de crescimento, e juntamente com C5 e C1, apresentaram mortalidade mais lenta no experimento de tamanhos de vasos (experimento II). O C5 também teve baixas reduções nas trocas gasosas, e menores teores de ASTF, porém maiores reduções em crescimento no R2. Quando bem irrigado o C5 investiu em maior AF, por outro lado foi o clone de maior tempo de sobrevivência, diferenciando-se dos demais.

De acordo com Wikberg e Ögren (2004) os mecanismos de adaptação ao estresse hídrico, geralmente resultam em menor taxa de crescimento o que, segundo PITA et al. (2005) é resultante do custo metabólico associado às respostas das plantas à deficiência hídrica. Por exemplo, o fechamento estomático também reduz a assimilação de carbono; o aumento do crescimento de raízes diminuirá o crescimento da parte aérea; a queda de folhas implica em custo de produção de novas folhas, e o acúmulo de solutos na célula altera o metabolismo de enzimas e proteínas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Pereira e Pallardy (1989) comentaram que plantas mais adaptadas à deficiência hídrica apresentam, provavelmente, características mais relacionadas à sobrevivência que ao crescimento.

5 CONCLUSÕES

Recomenda-se o uso de vasos de 25 L para estudos de tolerância à seca em eucalipto, pois proporcionam melhores resultados quanto à velocidade e severidade da deficiência hídrica.

Tanto sob seca progressiva quanto sob ciclos de suspensão de irrigação o padrão de diferenciação dos clones se manteve.

O uso de vasos pequenos, de menor capacidade volumétrica não está descartado. Porém, deve-se reduzir o período de condução do experimento e número de ciclos de irrigação e ainda realizar avaliações fisiológicas anteriormente à manifestação de murcha, para possibilitar maior capacidade de discriminação de diferenças genéticas.

A utilização de substratos inertes não é ideal para experimentos de sobrevivência, pois ao cessar a irrigação o fator nutricional fica comprometido, podendo interferir nos resultados.

Para isolamento do fator água, o trabalho em casa de vegetação é essencial, apesar de diminuir a insolação, o vento e distanciar das condições reais de campo. Em ambiente aberto mesmo em períodos secos do ano, o próprio orvalho interfere nos momentos de avaliações fisiológicas.

Para estudos de fenotipagem para tolerância à seca em eucalipto, a condutância estomática, potencial hídrico foliar, conteúdo relativo de água, danos ao sistema de membranas e relação raiz/parte aérea são características importantes e que devem ser avaliadas, podendo indicar não apenas a intensidade do estresse como também diferenças entre genótipos. Outras características para fenotipagem em estudos de deficiência hídrica, que não foram tratadas neste estudo, a exemplo da determinação de espécies reativas de oxigênio, relacionadas ao metabolismo secundário das plantas merecem atenção em novos estudos.

6 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S. RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.

ALFENAS A. C., ZAUZA E. A. V., MAFIA R. G., ASSIS T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2004, 12-75p.

ALONSO, A.; QUEIROZ, C. G. S; MAGALHÃES, A. C. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. **Biochimica et Biophysica Acta**, Cambridge, v.1323 p. 75-84 1997.

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Brasília, 1999. **Anais...** Brasília, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p.1-4.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.18, n. 185, 1996.

AWARD, M., CASTRO, P. R. C. A água na planta. In:___**Introdução à fisiologia vegetal: movimento da água na planta**. São Paulo: Nobel, 1983. p. 30-6.

BAISAK, R. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 35, p. 489-495, 1994.

BARRETO, V. C. M.; VALERI, S. V.; SILVEIRA, R. L. V. A.; TAKAHASHI, E. N. Eficiência de uso de boro no crescimento de clones de eucalipto em vasos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba-SP, v. 76, p. 21-33, 2007.

BEDON, F.; MAJADA, J.; FEITO, I.; CHAUMEIL, P.; DUPUY, J. W.; LOMENECH, A. M.; BARRE, A.; GION, J. M.; PLOMION, C. Interaction between environmental factors affects the accumulation of root proteins in hydroponically grown *Eucalyptus globulus* (Labill.). **Plant Physiology and Biochemistry**, Maryland, v. 49, p. 69–76, 2011.

BISON, O. **Melhoramento de eucalipto visando à obtenção de clones para a indústrias de celulose**. 2004. 169 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

BUTRINOWSKI, R. T.; BUTRINOWSKI, I. T.; SANTOS, E, L. PICOLOTTO, P. R. ; PICOLOTTO, R. A.; SANTOS, R. F. Disponibilidade hídrica no desenvolvimento inicial de mudas de *Eucalyptus grandis* em ambiente protegido. **Acta Iguazu**, Cascavel v.2, n.3, p. 84-93, 2013

BLUM, A. Drought resistance – is it really a complex trait? **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 38, n. 1, p. 753–757, 2011.

BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, Western, v. 56, p. 1159-1168, 2005.

BOUSSADIA, O.; BCHIR, A.; STEPPE, K.; VAN LABEKE, M.; LEMEURE, R.; BRHAHAM, M. Active and passive osmotic adjustment in olive tree leaves during drought stress. **European Scientific Journal**, Londres, v. 3, p. 423-439, 2013.

CATANEO, A. C.; CHAMMA, K. L.; FERREIRA, L. C.; DÉSTRO, G. F. G.; SOUSA, D. C. F. Atividade de Superóxido Dismutase em Plantas de Soja (*Glycine max* L.) Cultivadas Sob Estresse Oxidativo Causado por Herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Maringá, v. 4, n. 2, 2005.

CATSKY, J. **Water saturation deficit (relative water content)**. In: SLAVIK, B. (Ed). *Methods of studying plant water relations*. Berlin: Springer-Verlag, 1974. p. 136-154.

CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MORAIS, L. E.; SILVA, P. E. M.; SOUZA, L. T.; DAMATTA, F. M. **The Physiology Of Abiotic Stresses**. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. *Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance*. Berlin: Springer-Verlag, 2012, p. 21-51.

CERNUSAK, L. A., D. J. ARTHUR, J. S. PATE, G.D. FARQUHAR. 2003. Water relations link carbon and oxygen isotope discrimination to phloem sap sugar concentration in *Eucalyptus globulus*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 131, p. 1544–1554, 2003.

CHAVES M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, p. 1–16. 1991.

CHAVES, M. M.; DAVIES, B. Drought effects and water use efficiency: improving crop production in dry environments. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 37, n. 2, p. 3-12, 2010.

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

CHAVES, M. M; OLIVEIRA. M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 2365–2384, 2004.

CHAVES-FILHO, J. T.; SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*St. Hill*) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, Brasília, v. 24 p. 99-204. 2001.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.

CORREIA, K. G.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Campina Grande, v. 4, n. 2, 2004.

COSTA E SILVA, F.; SHVALEVA, A.; MAROCO, J. P.; ALMEIDA, M. H.; CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S. Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. **Tree Physiology**, Oxford, v. 24, p. 1165-1172, 2004.

DUAN, H.; AMTHOR, J. S.; DUURSMA, R. A.; O`GRADY, A.P.; CHOAT, B.; TISSUE, D.T. Carbon dynamics of eucalypt seedlings exposed to progressive drought in elevated [CO₂] and elevated temperature. **Tree Physiology**, Oxford, v. 1, n. 33, p.779-792, 2013.

DUARTE, D. M. **Crescimento de mudas de Paricá submetidas à desfolha e ao déficit hídrico**. 2014. 41f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) Universidade Estadual de Goiás, Ipameri, 2014.

FERNANDES, E. T.; CAIRO, P. A. R.; NOVAES, A. B. Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42 n. 1 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/01038478cr20120152>>.

FERRAZ, T. M. **Ecofisiologia de clones de eucalipto submetidos à restrição hídrica em condições de campo**. 2012. 113f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, 2012.

FERREIRA, D. C. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, F. A. M. M. A.; CARNEIRO, J. G. A.; PENCHEL, R. M.; BARROSO, D. G.; DAHER, R. F. Efeito das variações biométricas de mudas clonais de eucalipto sobre o crescimento no campo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 01-11, 2011.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; ESCALONA, J.M.; SAMPOL, B.; MEDRANO, H. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions. **Functional Plant Biology**, Clayton South, v. 29, p. 461-471, 2002.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 127, p. 343-352, 2006.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 183-189, 2002.

GHOLZ, H. L.; EWEL, K. C.; TESKEY, R. O. Water and forest productivity. **Forest Ecological Management**, Amsterdam, v. 30 p. 1-18, 1990.

GINDABA, J.; ROZANOV, A.; NEGASH, L. Response of seedlings of two *Eucalyptus* and three deciduous tree species from Ethiopia to severe water stress. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 20, p. 119-129, 2004.

GINDABA, J.; ROZANOV, A.; NEGASH, L. Photosynthetic gas exchange, growth and biomass allocation of two Eucalyptus and three indigenous tree species of Ethiopia under moisture deficit. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 205, p. 127-138, 2005.

GONÇALVES, K. S. **Aplicação de reguladores vegetais e de fosfito de potássio em mudas de eucalipto submetidas à deficiência hídrica**. 2013. 64f. Tese (Doutorado em agronomia – Irrigação e drenagem) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista, “Julio de Mesquita Filho – Botucatu, 2013.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. **American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v. 57, p. 715-725, 1993.

HINCKLEY, T. M., RICHTER, H., SCHULTE, P. J. Water relations. In: RAGHAVENDRA, A. S. **Physiology of trees**, New York, v. 2, p.137-162. 1991.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A. BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 6, p. 431-438, 2001.

IBÁ – INDUSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES . (Brasília.) **Relatório Ibá 2014**. 98p. Disponível em: <<http://www.iba.org/pt/>>. Acesso em: 23 nov. 2014.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; LAKSHMANAN, G. M. A.; GOMATHINAYAGAM, M.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 61, p. 298-303, 2008.

KATUL, G. G.; ELLSWORTH, D.S.; LAI, C. T. Modelling assimilation and intercellular CO₂ from measured conductance: a synthesis of approaches. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 23, p. 1313-1328, 2000.

KEENAN, T.; SABATE, S.; GRACIA, C. The importance of mesophyll conductance in regulating forest ecosystem productivity during drought periods. **Global Change Biology**, Weinheim, v. 16, p. 1019–1034, 2010.

KLIPPEL, V. H.; PEZZOPANE, J. E. M.; PEZZOPANE, J. R. M.; TOLEDO, J. V. Impacto da deficiência hídrica no crescimento inicial de eucalipto. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, v. 22, n. 1, 2013.

KOCH K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current Opinion in Plant Biology**, Cambridge, v. 7 p. 235-246 2004.

KRAMER, P. J; BOYER J. S. **Water relations of plants and soils**. Press, San Diego , 495p. 1995.

LACLAU, P. R. F. B. **Efeitos da adubação potássica sobre a adaptação à seca do *Eucalyptus grandis***. 2013. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração em Energia nuclear na agricultura e ambiente) – Centro de energia nuclear na agricultura da universidade de São Paulo. CENA, Piracicaba, 2013.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p. 531.

LI, C.; WANG, K. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. populations . **Forest ecology and management**, Amsterdam, v. 6, p. 377-185, 2003.

LIMA, W. P.; JARVIS, P.; RHIZOPOULOU, S. Stomatal responses of Eucalyptus species to elevated CO₂ concentration and drought stress. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 231-238, 2003.

MAGALHÃES-FILHO, J. R.; AMARAL, L. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranja 'Valência' sobre dois tipos de porta-enxerto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p.75-82, 2008.

MARTINS, M. O.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; NETO, A. D. A.; SANTOS, M. G. Crescimento de plantas jovens de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss. – MELIACEAE) sob diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 771- 779, 2010.

MARTORELL, S., DIAZ-ESPEJO, A., MEDRANO, H.; BALL, M.C.; CHOAT, B. Rapid hydraulic recovery in *Eucalyptus pauciflora* after drought: linkages between stem hydraulics and leaf gas exchange. **Plant, Cell and Environment** Oxford v. 37, p. 617–626 2014.

MARUR, C. J. Fotossíntese e translocação de carboidratos em algodoeiros submetidos a déficit hídrico após a aplicação de cloreto de mepiquat. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 10, p. 59-64.1998.

MCFARLANE, C.; WHITE, D. A.; ADAMS, M. A. The apparent free-forward, response to vapour pressure deficit of stomata, in droghted, field-grown *Eucalyptus globules* Labiil. *Plant Cell, and Environment*, Oxford, v. 27, p. 1268-1280, 2004.

MENDES, H, S. J.; PAULA, N. F.; SCARPINATTI E. A.; PAULA, R. C . Respostas fisiológicas de genótipos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* à disponibilidade hídrica e adubação potássica. **Cerne**, Lavras, v. 19, n. 4, p. 603-611, 2013.

MERCHANT, A.; CALLISTER, A.; ARNDT, S. TAUSZ, M.; ADAMS, M. Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, p. 1507-1515, 2007.

MIELKE, M. S. OLIVA, M. A.; BARROS, N. F.; PENCHEL, R. M.; MARTINEZ, C. A.; ALMEIDA, A. C. Stomatal control of transpiration in the canopy of clonal *Eucalyptus grandis* plantation. **Trees**, Berlin, v. 13, n.1, p.152-160, 1999.

MISSON, L.; LIMOUSIN, J. M.; RODRIGUEZ, R.; LETTS, L. G. Leaf physiological responses to extreme droughts in Mediterranean *Quercus ilex*, **Forest**, Oxford, v. 33, n. 11, p. 1898-1910, Nov. 2010.

MITCHELL, P. J.; O'GRADY, A. P.; TISSUE, D. T.; WHITE, D. A.; OTTENSCHLAEGER, M.L.; PINKARD, E.A. Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. **New Phytologis**, Lancaster, v.197 p. 862-872, 2012.

MOLLER, I. M., JENSEN, P. E., HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**. Oxford, v. 58, p. 459-481, 2007.

NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C.; SILVA, M. A. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 617- 626, 2011.

NELSON, N. A fotometric adaptaion of Somogyi method for the determination of glucose. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v. 153, p. 375-80, 1944.

OTTO, M. S. G.; VERGANI, A. R.; GONÇALVES, A. N, VRECHI, A.; SILVA S.R.; STAPE J. L. Fotossíntese, Condutância estomática e produtividade de clones de *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 3, p.431-439, 2013.

PALLARDY, S. G. **Physiology of woody plants**. 3. ed. San Diego: Elsevier/Academic, 2008. 454p.

PAULA, R. C.; PAULA, N. F.; MARINO, C. L. Breeding Perennial Species for Abiotic Stress. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance**. Springer, 2012, p. 157-172

PEREIRA, J. S.; PALARDY, S. Water stress limitations to tree productivity. In: Pereira, J. S.; Landsberg, J. J. (ed). **Biomass production by fast-growing trees**. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 37-56, 1989.

PEREIRA, M. R. R.; KLAR, A. E; SILVA, M. R.; SOUZA, R. A.; FONSECA, N. R. Comportamento fisiológico e morfofisiológico de clones de *Eucalyptus urograndis* submetidos a diferentes níveis de água no solo. **Irriga**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 518-531, 2006.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal Of Experimental Botany**. Oxford, p. 869-882, 2011.

PITA, P.; CAÑAS, I.; SORIA, F.; RUIZ, F.; TOVAL, G. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. **Investigación Agraria**, Madri, v. 14, p. 383-393, 2005.

QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; LEMOS FILHO, J. P. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 14, p. 59-63, 2002.

RIZHSKY, L.; LIANG, H.; SHUMAN, J.; SHULAEV, V.; DAVLETOVA, S.; MITTLER, R.; When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology**, Stanford, v.134 p.1683-1696, 2004.

RODRIGUES, R. A. S.; LOURINHO, M. P.; OLIVEIRA, T. B.; FREITAS, J. M. N.; SILVA, K R. S.; COSTA, R. C. L. Avaliação da taxa de transpiração em mudas de ipê-rosa (*Tabebuia impetiginosa*) submetidas ao déficit hídrico. In: Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 18., 2013, Belém. **Anais eletrônicos...** Belém: SBA, 2013. Disponível em: <http://www.sbagro.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=104&Itemid=118> Acesso em: 7 dez. 2014.

RODRÍGUEZ-CALCERRADA, J.; SHAHIN, O; REY, M .C.; RAMBAL S. Opposite changes in leaf dark respiration and soluble sugars with drought in two Mediterranean oaks. **Functional Plant Biology**, Dordrecht: Kluwer, v. 38, p.1004-1015, 2011.

ROITSCH, T.; BALIBREA, M.E.; HOFMANN, M.; PROELS, R.; SINHA, A.K. Extracellular invertases: metabolic enzyme and metabolic protein. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.54, n. 382, p. 513-524, 2003.

ROSA, M.; PRADO, C.; PODAZZA, G.; INTERDONATO, R.; GONZÁLEZ, J. A; HILAL, MIRNA; PRADO, F. E. Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress. **Plant Signaling and Behavior**. Austin, v. 5, p. 388-393. 2009.

ROY-MACAULEY, H.; ZUILY-FODIL, Y.; KIDRIC, M.; PHAN THI, A.; VIEIRA, S. J. Effect of drought stress on proteolytic activities. in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 85. p. 90-96, 1992.

SANTOS, D. GUIMARÃES, V. F. KLEIN, J. FIOREZE, S. L. Macedo Júnior, E. K. Cultivares de trigo submetidas a déficit hídrico no início do florescimento, em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.8, p.836–842, 2012.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; BRADSTRET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Cambridge, v. 148, p. 339-346, 1965.

SHAO H, B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; MI, H. M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes rendus biologiques**. Paris, v. 331 p. 433–441, 2008.

SHEM, K.; CATHERINE, M.; ONG, C. Gas exchange responses of *Eucalyptus*, *C. Africana* and *G. robusta* to varying soil moisture content in semi-arid (Thika) Kenya. **Agroforest Systems**, Praga, v. 75, p.239 – 249, 2009.

SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. **Physiologia Plantarum**, Copenhaguen, v. 132, p. 199-208, 2008.

SILVA, C. D. **Híbridos de eucalipto sob diferentes regimes hídricos em vasos e crescimento no campo**. 2013. 57 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

SILVA, J. C. Cresce presença do eucalipto no Brasil. **Revista da Madeira**, Porto Alegre, n. 92, p.61-66, 2005.

SILVA, L. D. **Melhoramento genético de *Eucalyptus benthamii* maiden et cambage visando a produção de madeira serrada em áreas de ocorrência de geadas severas**. 2008. 275 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SISTON, L. C. S. **Detecção da deterioração de acessos de Sementes de *Dalbergia nigra* (vell) Fr. All – (Fabaceae) por testes bioquímicos, de vigor e análise citogenética**. 2013. 69p. Dissertação (mestrado em Engenharia florestal) Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SMIT, M. A.; SINGELS, S. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, Ontario, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, 2006.

SOMOGY, M.A. New Reagent for Determination of Sugars. A new Sugar Reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland p. 61-68, 1945.

STAPE, J. L. BRINKLEY, D. RYAN, M.G. Eucalyptus production and the supply, use and efficiency of use of water, light and nitrogen across a geographic gradient in Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.193, p.17–31, 2004.

STAPE, J. L.; BINKLEY, D.; RYAN, M. G.; FONSECA, S.; LOOS, R.; TAKAHASHI, E. N.; SILVA, C. R.; SILVA, S.; HAKAMADA, R. E.; FERREIRA, J. M.; LIMA, A. M.; GAVA, J. L.; LEITE, F. P.; SILVA, G.; ANDRADE, H. J. M. The Brazil Eucalyptus Potential Productivity Project: Influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 259, p.1684-1694, 2010.

STRECK, N. A. Do we know how plants sense a drying soil? **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.2, p.581-584, 2004.

SZOTA, C.; FARRELL, C.; KOCH, J.M.; LAMBERS, H.; VENEKLAAS, E. J. Contrasting physiological responses of two co-occurring eucalypts to seasonal drought at restored bauxite mine sites. **Tree Physiology**, Oxford, v. 31, p. 1052 - 1066, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. rev. e ampl. Porto Alegre: Artmed, 2013, p. 65-266.

TATAGIBA, S. D. **Crescimento inicial, trocas gasosas e status hídrico de clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2006.

TATAGIBA, S. D. PEZZOPANE, J. E. M. REIS, E. F. PENCHEL, R. M. Desempenho de clones de eucalipto em resposta a disponibilidade de água no substrato. **Revista Engenharia na agricultura**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 179-189, 2009.

TREVELYAN, W. E.; HARRISON, T. S. Dosagem de glicídeos totais pelo método de antrona. **The journal of Biochemistry**, Oxford, v. 50, p. 292, 1952.

VANDORNE B, MATHIEU A. S.; VAN DE ENDE, W.; VERGAUWEN R.; PERILLEUX C.; JAVAUX, M; LUTTS, S. Water stress drastically reduces root growth and inulin yild in *Cichor ium intybus* (var. sativum) independently of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, p. 4359-4373, 2012.

VELLINI, A. L. T. T.; PAULA, N. F.; ALVES, P. L. C. A.; PAVANI, L. C.; BONINE, C. A. V.; SCARPINATI, E. A.; PAULA, R. C. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 651-663, 2008.

VENTURA, A.; BERENGUT, G.; VICTOR, M. A. M. Características edafo-climáticas das dependências do Serviço Florestal do Estado de São Paulo. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v. 4-5, n. 4, p. 57 - 140, 1965/66/.

VERSLUES, P. E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, Oxford, v. 45, p. 523–539, 2006.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F. C. H.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina 1 ed. p. 4-20 1999.

WARREN, C. R.; ARANDA, I; CANO, F. J. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. **Plant, Cell And Environment**. Oxford, p. 1609-1629, 2011.

WIKBERG, J.; ÖGREN, E. Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. **Trees**, Berlin, v. 18, p.70-76, 2004.

YU, S. M. Cellular and genetic responses of plants to sugar starvation. **Plant Physiology**. Rockville, v.6, n.121 p.687-693, 1991.