

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TESTES RÁPIDOS PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À SECA
EM MUDAS DE EUCALIPTO**

Arthur de Paula

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA
AGRONÔMICA.

Jaboticabal - SP
2º Semestre/2023

P324t Paula, Arthur de
Testes rápidos para estudos de tolerância à seca em mudas de eucalipto / Arthur de Paula. -- Jaboticabal, 2023
34 p. : il., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Rinaldo Cesar de Paula

1. Tolerância à seca. 2. Estresse hídrico. 3. Eucalipto. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

unes



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO: Ciências da Produção Agrícola

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TÍTULO: TESTES RÁPIDOS PARA ESTUDOS DE TOLERÂNCIA À SECA
EM MUDAS DE EUCALIPTO

ACADÊMICO: ARTHUR DE PAULA

CURSO: ENGENHARIA AGRÔNOMICA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula

Aprovado e corrigido de acordo com as sugestões da Banca Examinadora

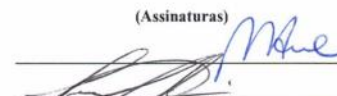
BANCA EXAMINADORA:

(Nomes)

(Assinaturas)

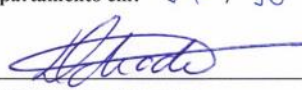
Presidente Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula
Membro Biólogo, Me. Antônio Roveri Neto

Membro Eng. Agrônoma Alessandra Maciel Pereira


Documento assinado digitalmente
ALEXSANDRA MACIEL PEREIRA
Data: 15/10/2023 21:30:53-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal 28 / 09 / 2023

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 17 / 10 / 2023 (Ad referendum)


Chefe do Departamento

Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade
Chefe do Depto. de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade da vida.

Aos meus pais, Daniela e Marcos, pelo amor e suporte e, principalmente, por serem os maiores exemplos que eu tenho.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula, pela orientação, disponibilidade, conselhos, ensinamentos e risadas. Mais que um orientador, um amigo.

Ao meu colega Matheus Alexander, pela amizade, honestidade e parceria durante a faculdade.

À minha colega de laboratório Alexsandra Maciel, pela amizade e momentos de descontração, além da ajuda na condução do experimento.

Às várias amizades que construí ao longo dos anos, em especial ao Renan Antônio, Ezequias Correia, Eduarda Ramos e Laila Feliciano.

À Giovanna Casagrande e Flávio Biliu, pela amizade, tempo dedicado e suporte na condução do experimento.

Ao Adevaire, funcionário do Horto Florestal da Unesp, pelo suporte na preparação do experimento.

À ArboGen Tecnologia Florestal, pelo fornecimento dos genótipos utilizados no estudo.

Aos membros da banca examinadora, Alexsandra Maciel e o Mestre Antônio Roveri, pelas sugestões e contribuições para o aprimoramento do trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Câmpus de Jaboticabal e todos os docentes que contribuíram para minha formação.

ÍNDICE

1. RESUMO:	vi
2. SUMMARY:	vii
3. INTRODUÇÃO:	1
4. REVISÃO DE LITERATURA	3
4.1 O Setor Florestal Brasileiro	3
4.2 Impactos do Estresse Hídrico nas Plantas	4
4.3 Como Avaliar os Efeitos do Estresse Hídrico	5
5. MATERIAL E MÉTODOS	9
5.1. Condutividade hidráulica real da raiz	9
5.2 Plantio em vasos e aplicação de deficiência hídrica progressiva por suspensão da irrigação	10
5.3 Análise dos dados	14
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
7. CONCLUSÕES	25
8. LITERATURA CITADA	26

1. RESUMO:

O gênero *Eucalyptus* desempenha um papel significativo na Silvicultura brasileira. O aumento da demanda por madeira e derivados tem impulsionado a expansão das plantações florestais, principalmente em regiões com clima quente e baixa precipitação. Isso cria desafios devido à maior escassez de água. Diante do exposto o presente trabalho objetivou avaliar o comportamento de genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva e a eficiência de testes rápidos em estudos de tolerância à seca em mudas de eucalipto. Foram usadas mudas de cinco genótipos de eucalipto, propagadas por miniestaquia e com idade aproximada de 90 dias. Inicialmente, avaliou-se a condutância hidráulica da raiz em 10 mudas de cada genótipo pelo método da bomba de pressão. Os valores obtidos foram normalizados em relação ao número de folhas, área foliar, massa seca das raízes, diâmetro do coleto da planta e altura das mudas. Posteriormente, 20 mudas de cada genótipo foram plantadas em vasos preenchidos com 2 litros de solo e irrigadas até a certificação do pleno estabelecimento. Após isso a irrigação foi suspensa e monitoradas periodicamente as seguintes características: Índice de Conteúdo de Clorofila (ICC); fluorescência basal (Fo), fluorescência máxima (Fm) e eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm); danos ao sistema de membranas, pela quantificação dos exsudados liberados em uma solução; e o tempo médio (em dias) de sobrevivência das mudas de cada genótipo. Os dados foram submetidos a análise de variância e comparação de medias pelo teste de Tukey a 5%. O genótipo C3 apresentou maiores valores de condutividade hidráulica, o que demonstra maior eficiência hidráulica, porém menor segurança hidráulica em caso de estresse por deficiência hídrica. Os genótipos apresentaram diferenças no ICC, que se tornaram mais evidentes à medida que o solo ficou mais seco. Observou-se pequenas diferenças entre os genótipos quanto as características de fluorescência da clorofila, mas sem danos aparentes ao fotossistema II. Os danos ao sistema de membranas aumentaram, independentemente do genótipo, com o aumento do período de suspensão da irrigação. O genótipo C1 apresentou menores níveis de danos que os genótipos C4 e C5. A mortalidade das plantas indica o genótipo C3 como o mais sensível à seca progressiva, e os genótipos C1 e C5 os mais tolerantes, sobrevivendo por mais tempo. Diante disto pode-se concluir que os genótipos C3 e C4 são mais sensíveis ao déficit hídrico, e os genótipos C1 e C5 apresentam maior tolerância ao déficit hídrico. A condutividade hidráulica real da raiz é um bom parâmetro para avaliar a tolerância à seca em genótipos de eucalipto. O índice de conteúdo de clorofila (ICC) e a fluorescência de clorofila, não são adequados para avaliar os efeitos da deficiência hídrica e nem a diferença entre os genótipos de eucalipto. A liberação de exsudados (Danos) foi consistente com a seca progressiva e possibilitou diferenciar clones, dentro do período de sobrevivência das mudas. O período médio de sobrevivência das plantas após a suspensão da irrigação é um bom indicador da tolerância dos clones à deficiência hídrica.

Palavras-chave: plantas resistência à seca, estresse hídrico, eucalipto.

2. SUMMARY:

The *Eucalyptus* genus plays a significant role in Brazilian Forestry. The increase in demand for wood and wood products has driven the expansion of forest plantations, especially in regions with a hot climate and low rainfall. This creates challenges due to increased water scarcity. The present work aimed to evaluate the performance of eucalyptus genotypes subjected to progressive drought and the efficiency of fast tests in drought tolerance studies in eucalyptus seedlings. In this studies we used seedlings of five eucalyptus genotypes, propagated by minicutting with approximately 90 days. Initially, root hydraulic conductance was evaluated in 10 seedlings of each genotype using the pressure pump method. The values obtained were standardized in relation to the number of leaves, leaf area, root dry mass, plant stem diameter and seedling height. Subsequently, 20 seedlings of each genotype were planted in pots filled with 2 liters of soil and irrigated until certification of full establishment. After that, irrigation was suspended and the following traits were periodically monitored: Chlorophyll Content Index (ICC); basal fluorescence (F_o), maximum fluorescence (F_m) and quantum efficiency of photosystem II (F_v/F_m); damage to the membrane system, by quantifying leaching of exudates into a solution; and the average survival time (in days) of seedlings of each genotype. The data were subjected to analysis of variance and comparison of means using the Tukey test at 5%. The C3 genotype presented higher hydraulic conductivity, which demonstrates greater hydraulic efficiency, but lower hydraulic safety in case of stress due to water deficiency. The genotypes showed differences in ICC, which became more evident as the soil became drier. Small differences were observed between the genotypes regarding chlorophyll fluorescence characteristics, but without apparent damage to photosystem II. Damage to the membrane system increased, regardless of genotype, with increasing irrigation suspension period. Genotype C1 showed lower levels of damage than genotypes C4 and C5. Plant mortality indicates the C3 genotype as the most sensitive to progressive drought, and the C1 and C5 genotypes as the most tolerant, surviving for longer. Given this, it can be concluded that genotypes C3 and C4 are more sensitive to water deficit, and genotypes C1 and C5 have greater tolerance to water deficit. The real hydraulic conductivity of the root is a good parameter to evaluate drought tolerance in eucalyptus genotypes. The chlorophyll content index and chlorophyll fluorescence are not suitable for evaluating the effects of water deficiency or the difference between eucalyptus genotypes. The leaching of exudates (Damage) was consistent with the progressive drought and made it possible to differentiate clones, within the period of seedling survival. The average period of plant survival after the suspension of irrigation is a good indicator of the clones' tolerance to water deficit.

Key words: plants drought resistance, water stress, eucalyptus.

3. INTRODUÇÃO:

As florestas comerciais de eucaliptos no Brasil ocupavam, no ano de 2021, 7,53 milhões de hectares, o que corresponde a 75,8% da área total com florestas plantadas com fins comerciais no país (IBÁ, 2022). O país se destaca no cenário mundial como maior exportador de celulose, assim, as plantações de eucalipto desempenham um papel importante na economia. A preferência pelo plantio de eucalipto se deve à boa capacidade de adaptação e produtividade dessas espécies quando manejadas adequadamente, além da possibilidade de diversificação de uso da madeira e da extração de óleos essenciais a partir das folhas de algumas espécies (IPEF, 2009).

O crescente consumo por madeira e seus derivados tem levado à expansão das áreas plantadas com florestas comerciais. Essa expansão tem-se dado, principalmente, em regiões com temperaturas mais elevadas e baixo índice pluviométrico, o que resulta em deficiência hídrica mais acentuada em relação às áreas onde comumente a silvicultura encontra-se bem estabelecida. O sucesso dos cultivos florestais depende de diversos fatores, sendo a disponibilidade de água e de nutrientes os mais importantes, pois impactam diretamente na produtividade dos sistemas.

Estudos recentes indicam que as mudanças climáticas tendem a uma variação da precipitação e intensificação do déficit hídrico no mundo todo (Santos *et al.*, 2017). Assim, essas mudanças geram um grande desafio para os plantios pois a restrição hídrica irá afetar diretamente o crescimento e a sobrevivência das mudas no campo.

Avaliar os efeitos da deficiência hídrica em plantas não é uma tarefa fácil. Considerando as espécies arbóreas e em condições de campo isso torna-se mais difícil e oneroso. Assim, boa parte das pesquisas sobre o efeito da deficiência hídrica nesse grupo de espécies é realizada em vasos, simulando diferentes condições e situações de estresse por deficiência hídrica e avaliando-se diferentes caracteres como resposta às condições impostas. Dado o ciclo longo das espécies perenes, os experimentos em vasos desempenham importante papel na caracterização de respostas iniciais à deficiência hídrica. Contudo, uma série de questionamentos são feitos sobre a validade das respostas das plantas em fase de mudas em relação às respostas manifestadas em campo e na fase adulta. Também, tem-se buscado frequentemente nessas pesquisas identificar testes, preferencialmente rápidos, e caracteres chaves para uma avaliação adequada do nível de tolerância ao estresse por deficiência hídrica, apresentado por diferentes genótipos e que possam ser extrapolados para condições de campo com certo grau de confiabilidade e segurança.

Diante do exposto o presente trabalho objetivou avaliar o comportamento de genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva e a eficiência de testes rápidos em estudos de tolerância à seca em mudas de eucalipto.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O Setor Florestal Brasileiro

Em 2021, a área total ocupada por árvores plantadas no estado de São Paulo atingiu a marca de 983.760 hectares (IBGE, 2021). A nível nacional, a área de florestas plantadas expandiu para 9,93 milhões de hectares, representando um aumento de 1,9% em relação ao valor revisto de 2020, que era de 9,75 milhões de hectares. Dentro desse panorama, as espécies de eucalipto e pinus dominam a paisagem. A maior parte dessa área, cerca de 75,8%, é destinada ao cultivo de eucalipto, abrangendo aproximadamente 7,53 milhões de hectares. Enquanto isso, o pinus ocupa cerca de 19,4% da área total, O equivalente a cerca de 1,93 milhão de hectares (IBÁ, 2022).

Os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul permanecem como os principais protagonistas na produção de florestas plantadas no Brasil. O Brasil possui elevado potencial produtivo nos plantios de eucalipto, superando outras regiões do mundo. A produtividade média no cultivo de eucalipto tem experimentado um progresso considerável ao longo dos anos. Em 1970, a média era de 10 m³ por hectare por ano, enquanto em 2021 atingiu impressionantes 38,9 m³ por hectare por ano. Quanto ao pinus, a produtividade média totalizou 29,7 m³ por hectare por ano (IBÁ, 2022).

O aumento crescente na demanda por madeira e seus produtos derivados tem impulsionado o crescimento das áreas destinadas ao plantio de florestas comerciais. Esse aumento tem sido mais notório em regiões caracterizadas por

temperaturas elevadas e de baixo índice pluviométrico, resultando em uma escassez mais acentuada de água quando comparadas a áreas onde a silvicultura tradicionalmente se desenvolveu. O êxito dos empreendimentos de cultivo florestal depende de uma variedade de fatores, sendo a disponibilidade de água e nutrientes os mais preponderantes, uma vez que exercem influência direta na produtividade dos sistemas. A falta de água que leva ao estresse hídrico tem como consequência a diminuição do crescimento e desenvolvimento das plantas, manifestando-se por meio da diminuição do potencial hídrico foliar, fechamento dos estômatos, redução do teor de água e perda de turgidez. Em casos de estresse hídrico mais grave, pode ocorrer a supressão da fotossíntese, perturbações metabólicas e, em situações extremas, a morte das plantas (Jaleel *et al.*, 2008).

4.2 Impactos do Estresse Hídrico nas Plantas

As plantas têm uma variedade de estratégias frente ao estresse hídrico, adaptando-se às diversas condições de escassez de água. A reação mais evidente das plantas à escassez de água é a redução da área das folhas, o que por sua vez impacta várias características, incluindo a taxa de fotossíntese (Taiz; Zeiger, 2017).

Ainda de acordo com Taiz e Zeiger (2017), quando as plantas são submetidas ao estresse hídrico, há restrição do tamanho e da quantidade de folhas, resultando na diminuição do consumo de carbono e energia por esse órgão. Nessa situação, observa-se uma significativa alocação de fotoassimilados para o sistema radicular.

Geralmente, em condições de escassez de água, as plantas diminuem a taxa de transpiração, o que resulta em uma redução na capacidade de liberar calor latente e, por conseguinte, eleva a temperatura das folhas. O processo de fixação de CO₂, que é governado pela atividade da enzima Rubisco carboxilase, tende a ser prejudicado com o aumento de temperatura foliar (Berry; Björkman, 1980).

Conforme a disponibilidade de água no solo diminui, a taxa de transpiração também diminui devido ao fechamento dos estômatos. Esse mecanismo é um dos principais meios de defesa das plantas contra a perda excessiva de água e a eventual dessecação ou morte da planta (Barlow, 1983).

A produção ou redistribuição de ácido abscísico (ABA) ocorre em virtude da deficiência hídrica. Quando ocorre seu acúmulo nas folhas estressadas, o ABA desempenha um papel crucial na redução da perda de água pela transpiração durante condições de escassez hídrica. Além disso, o fechamento estomático também pode ser desencadeado pelo transporte de ABA, que é produzido nas raízes e transportado para a parte aérea da planta (Taiz; Zeiger, 2017).

Diferentes espécies de eucalipto manifestam respostas variadas diante do estresse hídrico. Por exemplo, *Eucalyptus camaldulensis* e *E. saligna* tendem a aumentar a profundidade do seu sistema radicular. Já *E. leucoxylon* e *E. platypus* demonstram baixo potencial osmótico e habilidade notável de maximizar o ajuste do módulo elástico das suas células (White *et al.*; 2000).

4.3 Como Avaliar os Efeitos do Estresse Hídrico

A simulação do estresse hídrico em eucalipto é fundamental para estudar suas respostas fisiológicas e morfológicas sob condições de escassez de água. De acordo com Tyree *et al.* (2003), o estágio de muda é o mais crítico no ciclo de vida das espécies arbóreas, pois as mudas são extremamente vulneráveis ao estresse hídrico devido ao sistema radicular pouco desenvolvido. Por isso, a maioria das simulações são feitas em casas de vegetação, utilizando-se vasos. Vários estudos têm ressaltado a importância do tamanho do vaso como um dos fatores determinantes para o sucesso dos experimentos, pois vasos maiores permitem maior distribuição do sistema radicular, permitindo a planta buscar mais recursos na área e volume do vaso. Outra justificativa para isso, é que vasos de determinados tamanhos emulam a cova de plantio no campo, permitindo resultados mais compatíveis à realidade prática do campo. Também, experimentos em campo, além de ocuparem grandes áreas podem ficar comprometidos caso o estresse hídrico não ocorra e, também, nessas condições nem sempre é possível isolar o efeito da limitação hídrica de outros eventos climáticos, a exemplo, da temperatura e ou radiação.

Das formas de se simular o estresse hídrico podem ser citadas:

1. Regimes de Irrigação: impor determinado regime hídrico e reduzir a quantidade de água fornecida às plantas, seja em vasos ou no campo, para criar um ambiente de estresse hídrico gradual, ou aclimatar as mudas por tempo suficiente e depois suspender completamente a oferta de água.
2. Restrição de Raízes: Limitar o crescimento das raízes para restringir a capacidade de absorção de água, simulando a escassez de recursos hídricos. A modificação da estrutura do sistema de raízes emerge como um aspecto

essencial na domesticação e melhoramento das plantas. Essa abordagem promove o aumento da taxa de sobrevivência em solos caracterizados por restrições hídricas ou escassez de nutrientes (Basílio, 2021)

A avaliação do estresse hídrico em espécies arbóreas é essencial devido aos impactos significativos que a disponibilidade de água tem sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Ao compreender os níveis de estresse hídrico, é possível tomar medidas adequadas de manejo para mitigar seus efeitos negativos. A análise do estresse hídrico ajuda a identificar áreas vulneráveis, adotar práticas de irrigação mais eficientes e selecionar espécies mais adaptadas às condições locais. Além disso, a mensuração do estresse hídrico é crucial para preservar a biodiversidade, garantir a produção sustentável de recursos florestais e aprimorar a gestão das florestas, contribuindo para a resiliência das plantas em face das mudanças climáticas e variabilidades ambientais.

Mensurar os efeitos da deficiência hídrica em espécies arbóreas envolve a avaliação de vários parâmetros que indicam a resposta das plantas à disponibilidade de água. Dentre as características possíveis de se mensurar o estresse hídrico em árvores, citam-se:

- i. Potencial Hídrico: Mede a quantidade de água disponível para a planta. O potencial hídrico é mais negativo em situações de estresse hídrico, indicando que a planta está perdendo água mais rapidamente do que consegue absorver.
- ii. Teor de Água nas Folhas: Mede a quantidade de água presente nas folhas da planta. O teor de água reduzido é um indicador de estresse hídrico.

- iii. Fluorescência da Clorofila: A fluorescência da clorofila é usada para avaliar a eficiência da fotossíntese. Mudanças nos padrões de fluorescência podem indicar estresse hídrico.
- iv. Monitoramento do Crescimento e Desenvolvimento: Observar atrasos no crescimento, acúmulo e particionamento de biomassa, desfolhamento precoce, amarelecimento de folhas e outras alterações no desenvolvimento das plantas são indicativos de estresse por deficiência hídrica.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas mudas de cinco genótipos de eucalipto, cedidas pela empresa ArboGen Tecnologia Florestal, cuja caracterização inicial quanto à altura (cm), diâmetro do coleto (mm) e número de folhas, encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização inicial (média $\pm$ erro padrão da média) das mudas dos cinco clones de eucalipto utilizadas no experimento quanto à altura (ALT, cm), diâmetro do coleto (DC, mm) e número de folhas (NF).

Genótipos	ALT ¹	DC	NF
C1	43,53 $\pm$ 1,00	3,85 $\pm$ 0,12	10,3 $\pm$ 0,7
C2	23,83 $\pm$ 0,77	3,06 $\pm$ 0,08	10,8 $\pm$ 3,0
C3	36,63 $\pm$ 1,62	4,05 $\pm$ 0,14	12,2 $\pm$ 1,3
C4	30,38 $\pm$ 0,85	3,56 $\pm$ 0,17	9,4 $\pm$ 0,9
C5	37,28 $\pm$ 0,87	3,41 $\pm$ 0,11	12,5 $\pm$ 1,3

¹ – médias $\pm$ desvio padrão

As mudas com idade aproximada de 90 a 100 dias, no ponto de expedição para campo, foram submetidas a diferentes testes para avaliar a tolerância à seca dos genótipos, conforme descrito a seguir.

5.1. Condutividade hidráulica real da raiz

Inicialmente foram obtidos os valores de altura, diâmetro do caule e número de folhas, em 10 mudas de cada um dos cinco genótipos de *Eucalyptus* spp. Após foi determinada a condutância hidráulica da raiz (K_R), a partir da medição do fluxo de seiva, impondo-se uma determinada variação de pressão exercida sob o sistema radicular em uma câmara de pressão, conforme descrito em Tyree *et al.* (2003). Para isto, as mudas foram cortadas a aproximadamente

7 cm contados a partir do colo, e colocadas em um recipiente de plástico contendo água dentro da câmara de pressão (SoilMoisture®, Califórnia, USA). Cerca de 5 cm do caule ficaram para o lado de fora da câmara. Posteriormente aplicou-se por 5 minutos pressões crescentes de 0,1; 0,2; 0,3, 0,4 e 0,5 MPa. Com um papel absorvente, coletou-se todo o conteúdo de água exsudado no corte, o qual foi pesado em uma balança analítica (0,0001 g). Após isto, determinou-se a área foliar em um analisador Li-Cor 3100 e a massa seca de raízes, após secagem do material em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 96 h, em balança analítica (0,0001 g).

A condutividade hidráulica real pode ser obtida através da normalização da condutância hidráulica (K_R) por um valor dimensional de parte da planta ou da planta inteira. No presente trabalho K_R foi normalizada pelo número de folhas ($K_{R, NF}$), área foliar ($K_{R, AF}$), pela massa seca de raiz ($K_{R, RM}$), diâmetro do coleto ($K_{R, DC}$) e altura da planta ($K_{R, ALT}$).

5.2 Plantio em vasos e aplicação de deficiência hídrica progressiva por suspensão da irrigação

As mudas dos cinco genótipos foram plantadas em vasos com capacidade para 2,5 litros de solo. Os vasos foram preenchidos com uma amostra de solo argiloso peneirado e as mudas no momento do plantio foram regadas até a saturação do solo. Durante 15 dias as mudas continuaram a receber água de forma a garantir o pegamento e a sobrevivência das mesmas. Após esse período o umedecimento do substrato foi interrompido até a constatação da morte

aparente das plantas, determinada pela seca e queda das folhas. Nesse intervalo, entre a suspensão da irrigação e a morte das plantas, foram avaliadas as seguintes características:

Índice de conteúdo de clorofila (ICC): avaliado periodicamente após a suspensão da irrigação, com o uso de um clorofilômetro Opti-Science®, CCM-200 (Figura 1). Essas avaliações ocorreram no período da manhã entre 9 e 11 h e à tarde entre 15 e 16 h, em duas folhas por planta.



Figura 1. Clorofilômetro Opti-Science®, CCM-200, usado nas determinações do índice de Conteúdo de Clorofila (ICC)

Eficiência fotoquímica (ou eficiência do fotossistema II): dada pela razão F_v/F_m , em que F_v – fluorescência variável e F_m a fluorescência máxima, a partir de um fluorômetro Opti-Sciences®, Os30P (Figura 2). Foi avaliada nas mesmas

folhas usadas para a determinação do ICC, entre 9 e 11 h, e no período da tarde entre 15 e 16 h.



Figura 2. Fluorômetro Opti-Sciences®, Os30P, usado nas determinações das medidas de fluorescência de clorofila.

Danos ao sistema de membranas (ou determinação de extravasamento de eletrólitos): obtido pela quantificação da condutividade elétrica da solução de embebição de quatro discos foliares de 1 cm de diâmetro, para cada um dos tratamentos com quatro repetições. As folhas foram lavadas superficialmente para eliminar possíveis impurezas e após obtenção dos discos foliares, esses foram 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 (Abdo; Paula, 2017; Vieira; Krzyzanowski, 1999).

Mortalidade: o número de plantas mortas pela deficiência hídrica progressiva foi monitorado diariamente após a suspensão da irrigação (Figura 3). Ao final do teste, obteve-se o número médio de dias ($\pm$ erro padrão da média) de sobrevivência de cada clone.



Figura 3. Avaliação da mortalidade de plantas de eucalipto após a suspensão da irrigação.

5.3 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, em delineamento de blocos casualizados com 20 repetições por genótipo, e as médias comparadas pelo teste t.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A condutância hidráulica, avaliada pelo fluxo de água (Figura 4A), aumentou com o acréscimo da pressão aplicada em torno do sistema radicular, independentemente do clone, porém foi maior nos clones 3 e 4, em relação aos demais clones. De forma geral, este comportamento, também, foi verificado para a condutividade hidráulica normalizada, independentemente do fator de normalização, seja ele o número de folhas ($K_{R, NF}$ – Figura 4B), área foliar ($K_{R, AF}$ – Figura 4C), massa seca de raízes ($K_{R, MSR}$ – Figura 5A), diâmetro do coleto ($K_{R, DC}$ – Figura 5B) e altura ($K_{R, ALT}$ – Figura 5C). Os genótipos C3 e C4, provavelmente possuem vasos condutores maiores para o fluxo de seiva (xilema), e no caso de escassez de água, poderão estar mais suscetíveis à cavitação ou embolia nos vasos. Supõe-se que estes genótipos seriam os primeiros afetados em condições de estresse hídrico, enquanto os genótipos C1, C2 e C5, que apresentaram os menores valores de condutividades, a depender da normalização efetuada, seriam menos afetados pelo estresse hídrico, sendo mais adequados para o plantio em regiões de menor disponibilidade hídrica. Por outro lado, pode-se supor que os genótipos C3 e C4 teriam melhor desempenho em locais onde não há estresse hídrico, podendo obter maiores produtividades.

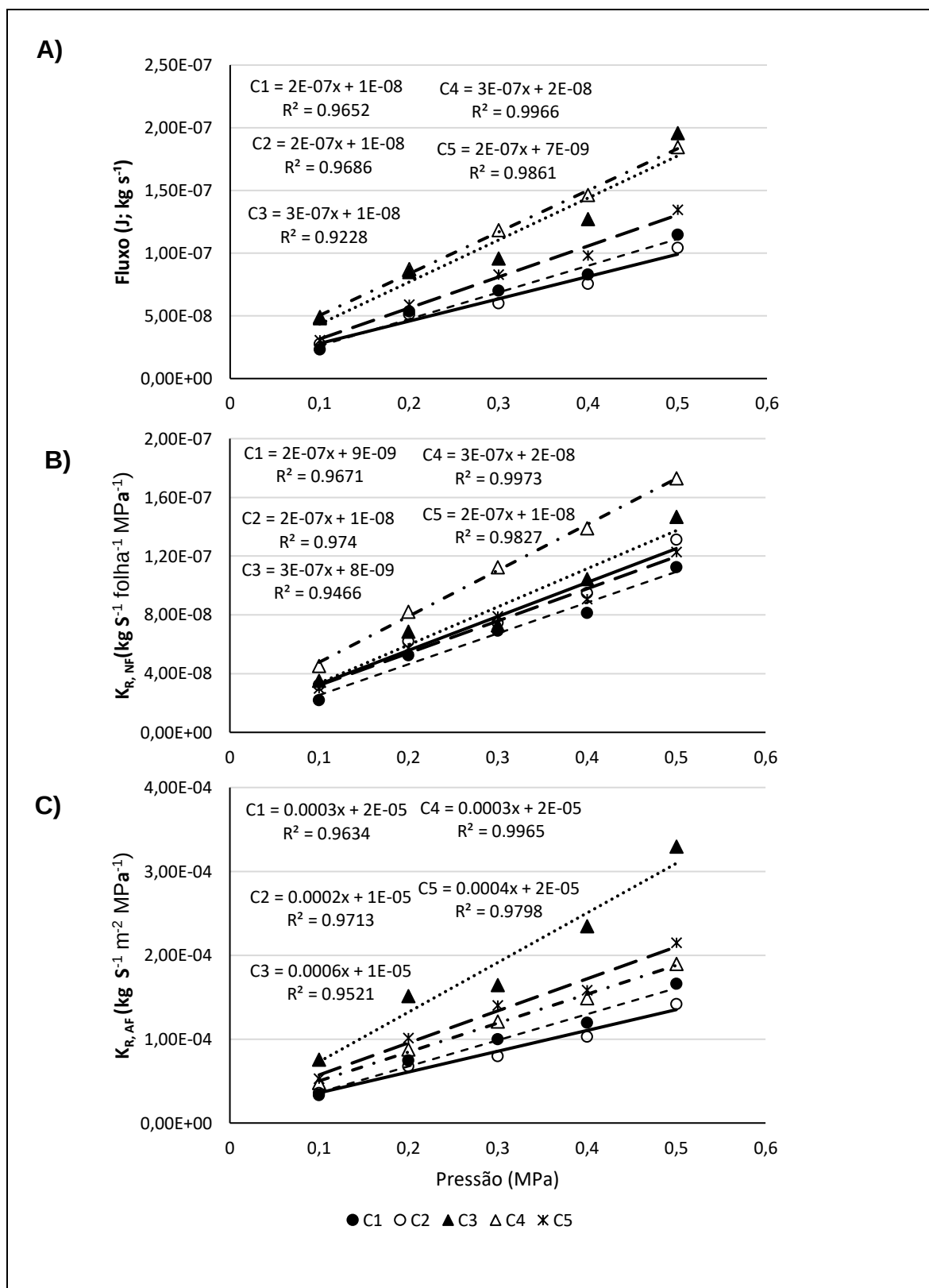


Figura 4. Fluxo (A), condutividade hidráulica do sistema radicular normalizada pelo número de folhas (B) e pela área foliar (C) de mudas de genótipos de *Eucalyptus* spp. submetidas a diferentes pressões.

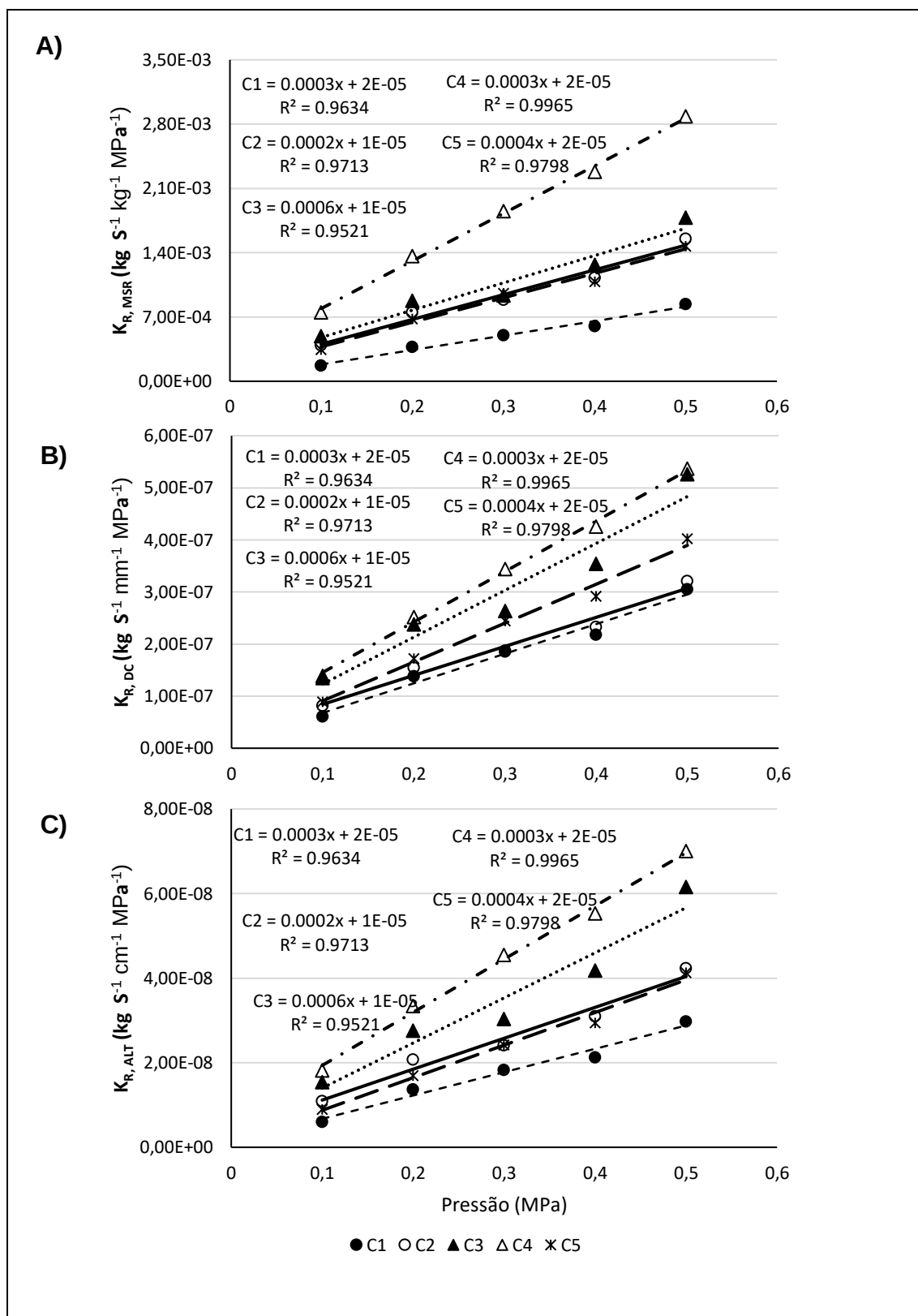


Figura 5. Condutividade hidráulica do sistema radicular normalizada pela massa seca de raiz (A), pelo diâmetro do coleto (B) e pela altura (C) de mudas de cinco genótipos de *Eucalyptus* spp. submetidas a diferentes pressões.

A condutividade hidráulica está relacionada à resistência da planta às pressões negativas e à segurança contra embolia ou cavitação (Fonti; Jansen, 2012). Dessa forma, por apresentar maior condutividade hidráulica, os genótipos C3 e C4 podem ser mais propensos à formação de bolhas de ar, ou seja, embolismo e, ou cavitação. Isto pode ser decorrente da presença de vasos de maior diâmetro que, se por um lado, aumenta a condutividade hidráulica do xilema, por outro proporcionam, via de regra, menor resistência ao embolismo ou cavitação (Gleason *et al.*, 2016).

Os genótipos apresentaram diferenças quanto ao índice de conteúdo de clorofila (ICC), desde o início do período de suspensão da irrigação, mas essas diferenças ficaram mais evidentes com a redução da disponibilidade hídrica no solo, ou seja, com o avanço do período de suspensão da irrigação (Figura 6). Os genótipos C3 e C4 mantiveram os níveis de clorofila mais altos por mais tempo, o que não indicou sinais de estresse pela planta. A análise dessa Figura indica que a partir do quinto dia sem irrigação, todos os genótipos apresentam sinais de estresse indicados pelo ICC.

A redução no ICC, independentemente do genótipo, ao longo do período de suspensão da irrigação pode estar relacionada à desidratação dos tecidos foliares pela redução da disponibilidade hídrica, com degradação de clorofila e danos ao sistema de membranas. O índice de conteúdo de clorofila (ICC) está diretamente relacionado ao teor de nitrogênio, teor de clorofila e intensidade de verde no tecido foliar em diversas espécies vegetais (Souza *et al.*, 2009) e, portanto, pode-se considerar que maiores valores de ICC significam plantas com maior teor de N e, por consequência, plantas com melhor status nutricional.

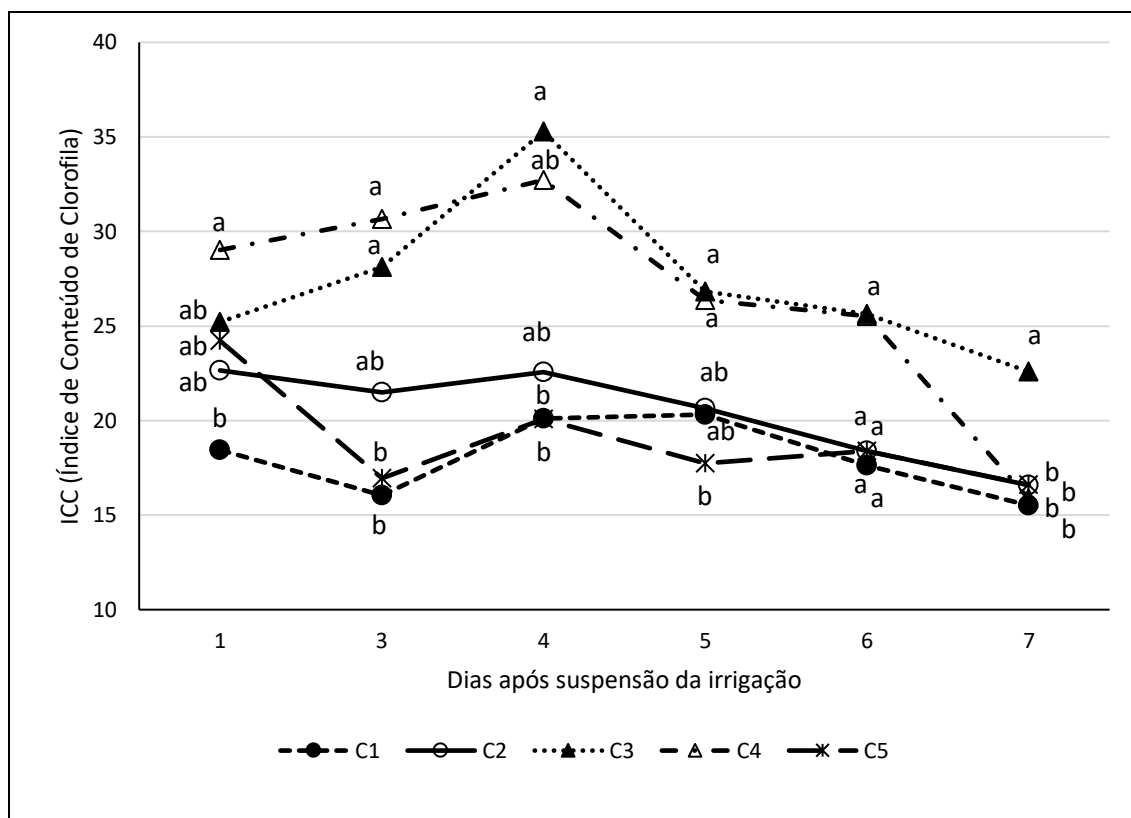


Figura 6 – Índice de Conteúdo de Clorofila (ICC) avaliado em cinco genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva por suspensão da irrigação até a mortalidade das plantas. Médias de genótipos seguidas por uma mesma letra, em cada período de avaliação, não diferem entre si.

Quanto à fluorescência de clorofila avaliadas pela fluorescência base (F_0), fluorescência máxima (F_m) e eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m), percebe-se pequenas diferenças entre os clones ao longo do período de suspensão da irrigação, seja nas avaliações realizadas no período de 9 às 10 h (Figura 7) ou de 15 às 16 h (Figura 8).

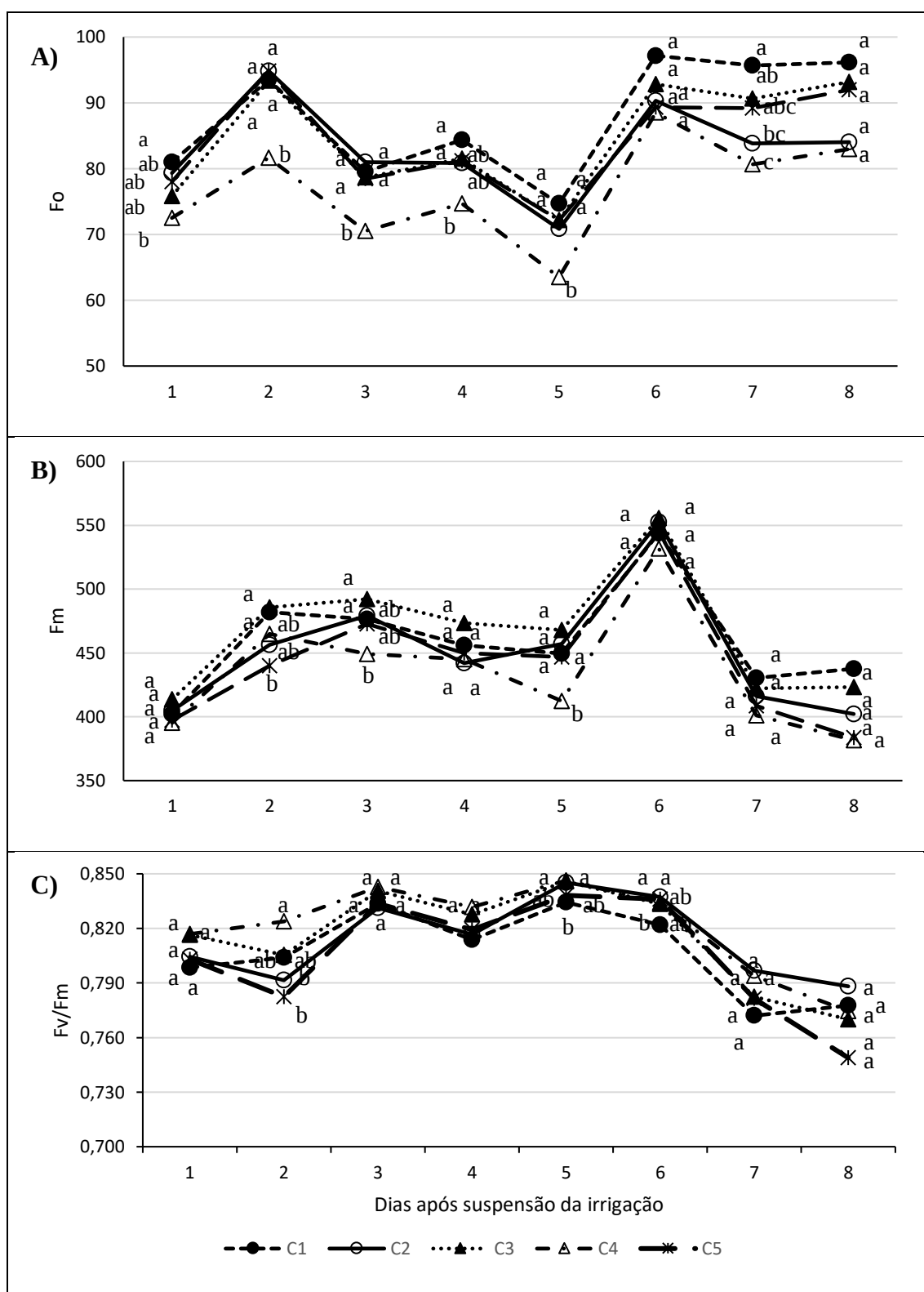


Figura 7 – A) Fluorescência base (Fo), B) fluorescência máxima (Fm) e C) eficiência fotoquímica (Fv/Fm) avaliados, entre 9 e 10 h, em cinco genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva por suspensão da irrigação até a mortalidade das plantas. Médias de genótipos seguidas por uma mesma letra, em cada período de avaliação, não diferem entre si.

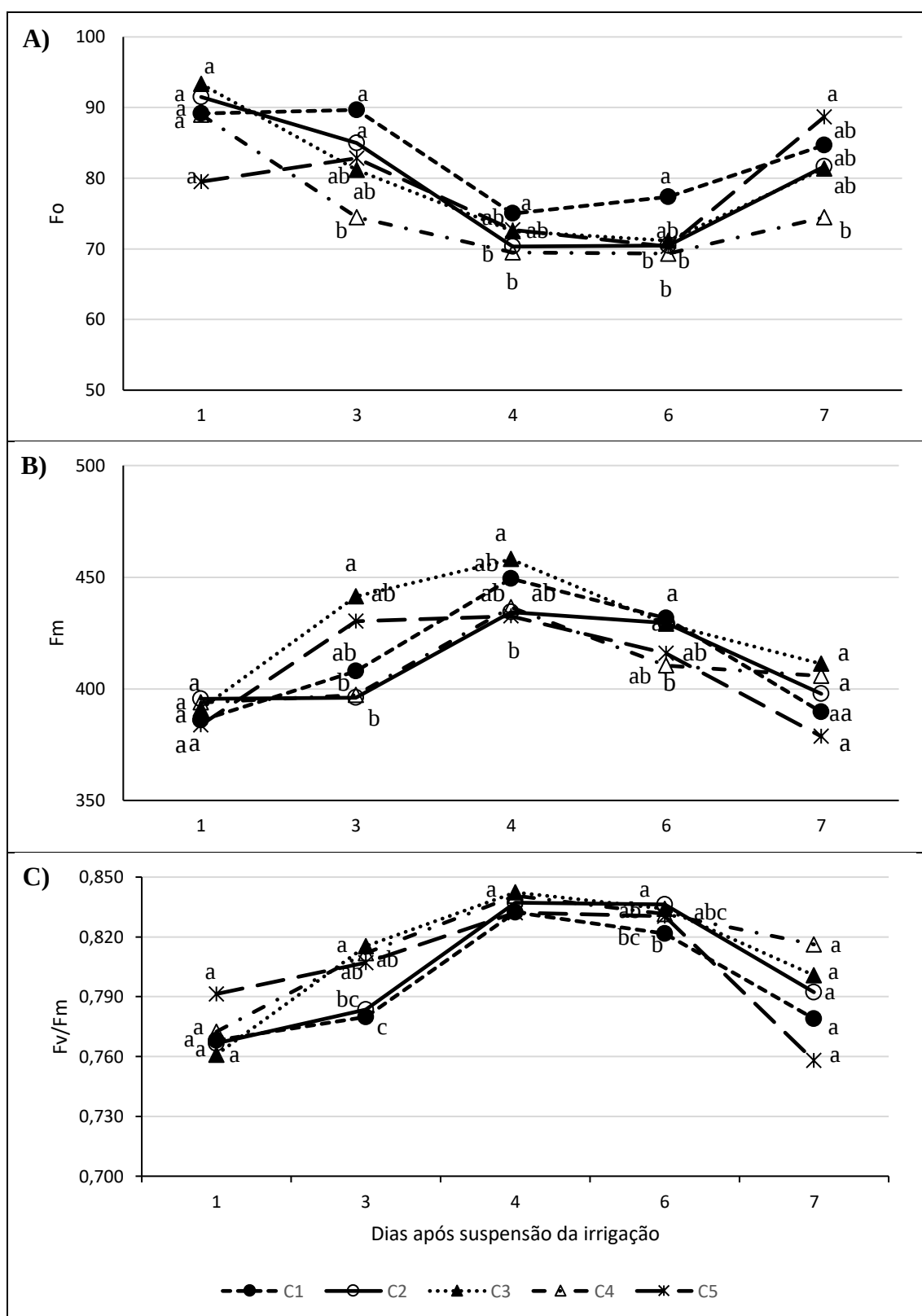


Figura 8 – **A)** Fluorescência base (Fo), **B)** fluorescência máxima (Fm) e **C)** eficiência fotoquímica (Fv/Fm) avaliados, entre 15 e 16h, em cinco genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva por suspensão da irrigação até a mortalidade das plantas. Médias de genótipos seguidas por uma mesma letra, em cada período de avaliação, não diferem entre si.

Apesar dessas diferenças, quando significativas, os valores de eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m), por exemplo, encontra-se dentro da faixa considerada normal por Bolhàr-Nordenkamp *et al.* (1989), que é de 0,75 a 0,85, ou seja, não há danos fotoinibitórios aparentes aos centros de reação do fotossistema II causada pela deficiência hídrica. Valores abaixo de 0,75 representam danos ao fotoinibitórios ao fotossistema II (PSII) (Tatagiba; Pezzopane, 2007). Esperava-se que os valores de fluorescência diminuíssem em virtude do estresse hídrico à medida que mais dias se passassem sem irrigação, o que não aconteceu. Resultados similares foram encontrados no trabalho de Tatagiba (2023). A hipótese recai sobre fatores genéticos individuais de cada genótipo, indicando tolerância ao déficit hídrico e outras condições adversas ou à possibilidade que a deficiência hídrica e as condições climáticas no momento em que foram conduzidos os experimentos não foram suficientes para acarretar danos ao aparato fotoquímico do PSII. Existe também a possibilidade de os resultados não apresentarem diferenças marcantes devido ao fato de serem conduzidos em casa de vegetação e não receberem incidência solar direta nas folhas, o que influenciou os dados obtidos no presente trabalho.

Talvez em experimentos conduzidos em ambiente aberto, sob incidência direta de luz solar direta nas folhas, seja possível obter resultados diferentes e mais consistentes sobre o comportamento da fluorescência em testes de estresse hídrico.

O índice de extravasamento de eletrólitos, ou de danos ao sistema de membranas aumentou, independentemente do genótipo, com o aumento do período de suspensão da irrigação. Após cinco dias de suspensão da irrigação

o genótipo C1 apresentou menor índice de extravasamento de eletrólitos que os genótipos C4 e C5 (Figura 9).

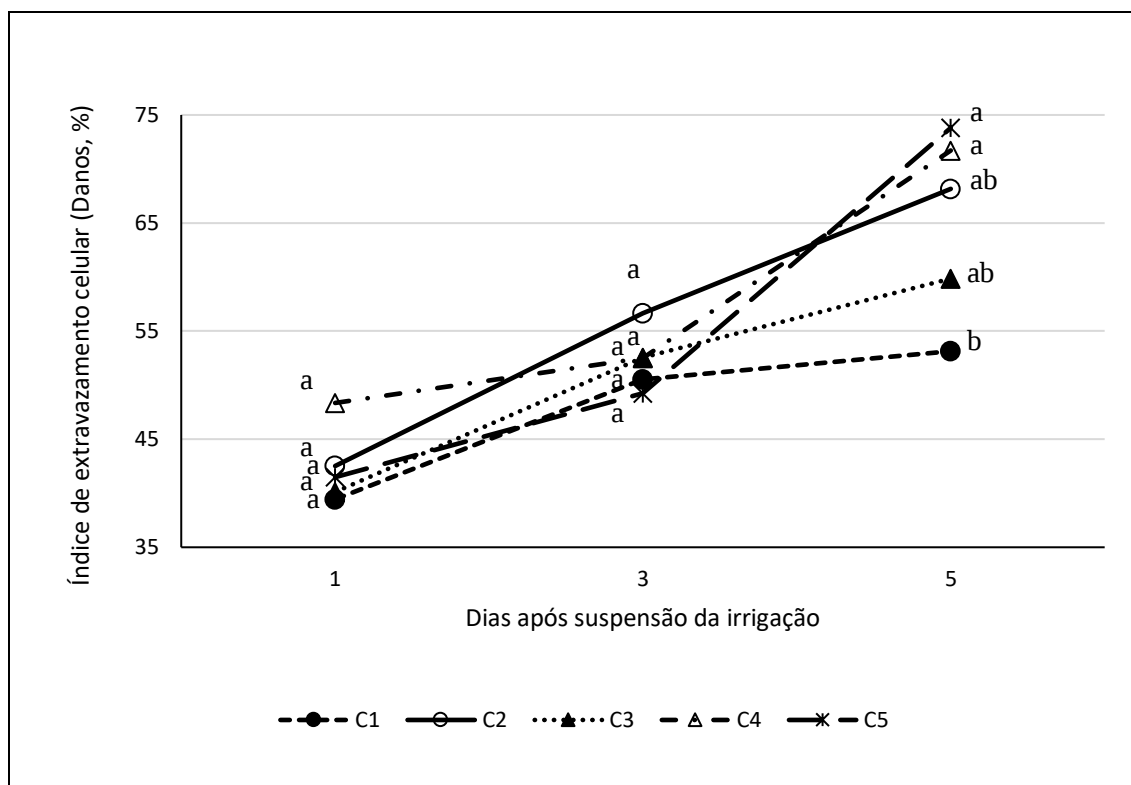


Figura 9 – Índice de extravasamento celular (Danos, %) em folhas de cinco genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva. Médias de genótipos seguidas por uma mesma letra, em cada período de avaliação, não diferem entre si.

A maior porcentagem de danos, demonstra maior instabilidade do sistema de membranas celulares nas plantas sob estresse hídrico, indicando a desestruturação do sistema de membranas, com maior liberação de lixiviados (íons, açúcares, dentre outros) na solução de embebição dos discos foliares, resultando em maior condutividade elétrica. De acordo com Siston (2013), a deficiência hídrica é um dos agentes causadores desse aumento na condutividade elétrica no meio de embebição dos discos foliares. A ocorrência de danos ao sistema de membranas sob condições de deficiência hídrica se

deve aos efeitos da produção e acumulação de oxigênio reativo, desencadeando processos peroxidativos de lipídios, com perda de eletrólitos pela célula (Queiroz *et al.*, 2002).

Uma comprovação do que foi teorizado anteriormente pode ser observada na Figura 10. O genótipo C3 foi o primeiro a apresentar mortalidade total das plantas, demonstrando ser mais sensível à seca. Esse genótipo apresentou, também, maiores valores para a condutividade hidráulica, o que demonstra maior eficiência hidráulica mas por outro lado, pode indicar menor segurança hidráulica em caso de estresse por deficiência hídrica. De forma oposta, os genótipos C1 e C5 sobreviveram por mais tempo, em relação aos genótipos C2 e C3, mostrando uma relação direta entre a menor condutividade hidráulica e o melhor desempenho em situações de estresse hídrico e outras adversidades.

//

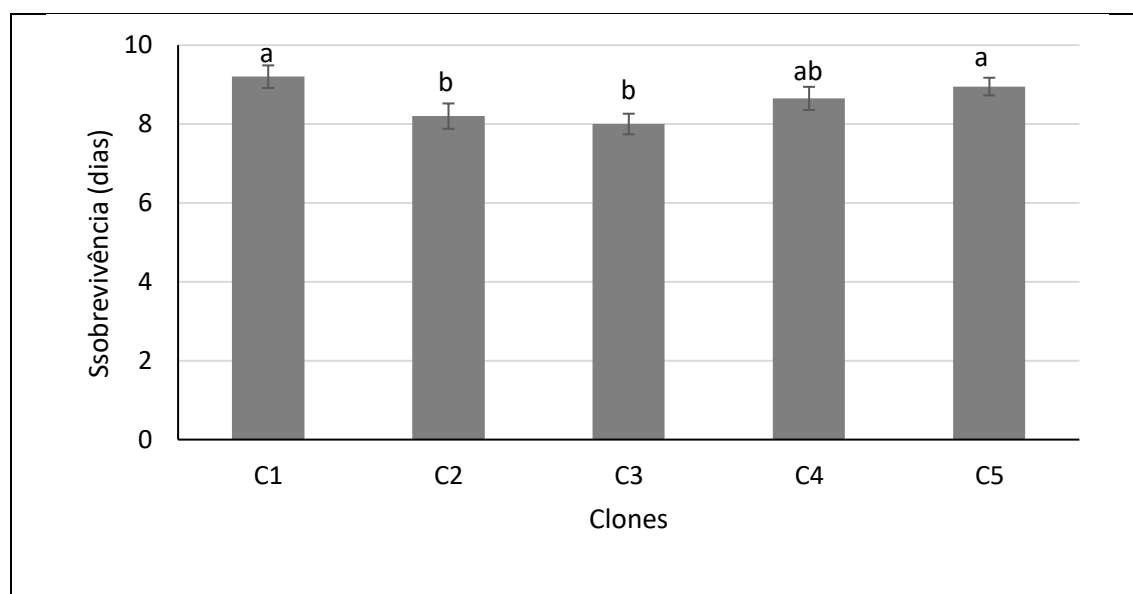


Figura 10 – Sobrevivência (em dias, média $\pm$ erro padrão da média) de cinco genótipos de eucalipto submetidos à seca progressiva por suspensão da irrigação até a mortalidade das plantas. Médias de genótipos seguidas por uma mesma letra, em cada período de avaliação, não diferem entre si.

7. CONCLUSÕES

Os genótipos C3 e C4 são mais sensíveis ao déficit hídrico, mas por apresentarem maiores valores de condutividade hidráulica poderão ter melhores desempenhos sob boa disponibilidade hídrica. Os genótipos C1 e C5 apresentam maior tolerância ao déficit hídrico e são mais adequados para plantios em regiões com menor disponibilidade hídrica.

A condutividade hidráulica real da raiz é um bom parâmetro para avaliar a tolerância à seca em genótipos de eucalipto.

O índice de conteúdo de clorofila (ICC) não foi adequado para avaliar os efeitos da deficiência hídrica e nem a diferença entre os genótipos.

A liberação de exsudados (Danos) foi consistente com a seca progressiva e possibilitou diferenciar clones, dentro do período de sobrevivência das mudas.

A fluorescência de clorofila, avaliada a partir da fluorescência base (F_0), máxima (F_m) e eficiência do fotossistema II (F_v/F_m), não evidenciaram danos ao fotossistema II mostrando baixa sensibilidade destas características na detecção de diferenças entre os genótipos submetidos à seca progressiva. Contudo, testes em situações experimentais de campo, por exemplo, poderão indicar um comportamento diferente da fluorescência de clorofila e do ICC para avaliação da tolerância à seca em genótipos de eucalipto.

O período médio de sobrevivência das plantas após a suspensão da irrigação é um bom indicador da tolerância dos clones à deficiência hídrica. Contudo, vasos de tamanho pequeno como os usados no presente experimento, podem dificultar a detecção de diferenças mais consistentes entre os clones.

8. LITERATURA CITADA

ABDO, M.T.V.N.; PAULA, R.C. Electrical conductivity test for the determination of the physiological seed quality of *Croton Floribundus* Spreng-Euphorbiaceae. **International Journal of Current Research**, v. 9, p. 54414- 54419, 2017.

BARLOW, E.W.R. Water relations of the mature leaf. In: DALE, J.E. & MILTHORPE, F.L., eds. **The growth and functioning of leaves** Cambridge, University Press, v. 1, p. 315-345, 1983

BASÍLIO, J.J.N. **Raízes finas em plantações de Eucalipto: efeitos genéticos e edafoclimáticos**. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Câmpus Botucatu. 2021.

BERRY, J.; BJÖRKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 31, p. 491-543, 1980.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; LONG, S.P.; BAKER, N.R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E.G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.

FONTI, P.; JANSEN, S. Xylem plasticity in response to climate. **New Phytologist**, v. 195, p. 734-736. 2012.

<https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2012.04252.x>

GLEASON SM *et al.* On research priorities to advance understanding of the safety–efficiency tradeoff in xylem. **New Phytologist**, v. 211, p. 1156–1158, 2016. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.14043>

IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores (2022). **Relatório Anual 2022**. Itaim Bibi, São Paulo, 96p. <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2022-compactado.pdf>. Acesso em 22 dezembro 2022.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021). **Extração Vegetal e Silvicultura**. Dados do estado de São Paulo. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/pesquisa/16/12705>. Acesso em 08 agosto 2023.

IPEF - Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais (2009). **Identificação de Espécies Florestais**.

JALEEL, C.A. *et al.* Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, p. 298-303, 2008.

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**, v. 14, p. 59-63, 2002. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202002000100008>

SANTOS, D.F.; MARTINS, F.B.; TORRES, R.R. Impacts of climate projections on water balance and implications on olive crop in Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 77-82, 2017.

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

SOUZA, A.F.; ROCHA JÚNIOR, E.O; LAURA, V.A. Índice SPAD para a estimativa do nitrogênio foliar em mudas de oito espécies florestais. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA, 2009. Anais... Fortaleza, 2009

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 888p.

TATAGIBA, S.D. Impacto da Deficiência Hídrica sobre o *Eucalyptus*: Aspectos Ecofisiológicos e de Crescimento. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal da FAEF**. XXI, v.41, n.1, p. 43-62, 2023.

http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/unANPLfeWQFgP04_2023-8-29-19-22-6.pdf. Acesso em 19 de setembro de 2023.

TATAGIBA, S.D.; PEZZOPANE, J.E.M. **Cinética de Emissão de Fluorescência das Clorofilas em Dois Clones de *Eucalyptos***. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal. Garça. Ano V, número 09, 14p., 2007.

http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/jyiWgMvtiyB8HoU_2013-4-26-14-54-43.pdf

TYREE, M.T. *et al* (2003) Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama. Relationship to a field assessment of drought performance. **Plant Physiology**, v. 132, n. 3, p. 1439–1447, 2003.

VIEIRA, RD; KRZYZANOWSKI, FC, Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, FC, VIEIRA, RD, FRANÇA NETO, JB. (1999) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. P.4.1-4.26

WHITE, D.A.; TURNER, N.C.; GALBRAITH, J.H. Leaf water relations and stomatal behavior of four allopatric *Eucalyptus* species planted in Mediterranean southwestern Australia. **Tree Physiology**, Oxford, v.20, p.1157-1165, 2000.