

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x
Eucalyptus urophylla SOB DIFERENTES REGIMES
DE IRRIGAÇÃO EM CASA DE VEGETAÇÃO**

Jane Valadares de Moraes
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Julho 2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x
Eucalyptus urophylla SOB DIFERENTES REGIMES
DE IRRIGAÇÃO EM CASA DE VEGETAÇÃO**

Jane Valadares de Moraes

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo César 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).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Julho de 2011

M827p Moraes, Jane Valadares
Parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob diferentes regimes de irrigação em casa de vegetação / Jane Valadares de Moraes. – Jaboticabal, 2007
xii 72 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011

Orientador: Rinaldo César de Paula

Banca examinadora: Susi Meire Maximino Leite, Magali Ribeiro da Silva, Maria Inês Tiraboschi Ferro, Arlindo Leal Boiça Junior.

Bibliografia

1. Estresse hídrico. 2. Melhoramento florestal. 3. Parâmetros fisiológicos e bioquímicos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 582.776:631.671

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JANE VALADARES DE MORAES – nasceu em 11 de maio de 1960 em Viçosa, Minas Gerais. Concluiu o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 1982. Mestrado em Agronomia (Produção e Tecnologia de Sementes) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, *Câmpus* de Jaboticabal, São Paulo, em 2007, no qual foi bolsista CAPES. Iniciou o Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) em 2007, no qual também é bolsista CAPES. Realizou estágio docência nas disciplinas Ecossistemas Florestais, do Curso de Ciências Biológicas, e Silvicultura, do Curso de Agronomia, durante o primeiro e segundo semestre de 2009, respectivamente. Participou como Membro Titular de Comissão Julgadora de Trabalho de Iniciação Científica, em 2010.

Dedicatória

As pessoas mais importantes da minha vida...

Natália e Léo Neto, filhos queridos...

*Geraldo Valadares, pai querido, sempre vivo e presente na minha
vida...*

Agradecimentos

A minha mãe, pela importante contribuição na minha formação...

Aos meus irmãos muito queridos, Janise, Janio e Edilene, por fazerem parte da minha vida...

Aos meus sobrinhos, Maurício, Ana Paula e Thiago, pelo enorme carinho que sinto por eles; especialmente à Ana Paula por ser minha afilhada ...

A todos os meus amigos, em especial, à Michele e Leonardo, pela profunda amizade e companheirismo.

A FCAV-UNESP pelo desenvolvimento profissional.

A CAPES, pela bolsa concedida.

A todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

O meu Muito Obrigado!

Agradecimentos Especiais

À Deus...

Pelo dom da vida...

Por estar sempre me iluminando,

Protegendo-me e abençoando-me...

Com pessoas maravilhosas no meu caminho!!!

E por ser Onisciente, que por Teu mistério

nos torna Seres mais curiosos e vivazes.

Muito Obrigada!

Ao Profº Drº Rinaldo César de Paula,

*Pela oportunidade,
pelo conhecimento compartilhado,*

Pela orientação e dedicação.

Muito Obrigada!

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

(Cora Coralina)

Epígrafe

*“Aprender é a única coisa da qual a mente humana nunca se cansa,
nunca tem medo e jamais se arrepende.”*

(Leonardo da Vinci)

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. O gênero <i>Eucalyptus</i>	03
2.2. Estresse Hídrico.....	06
2.3. Melhoramento Visando Tolerância ao Estresse Hídrico.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Local e Condução do Experimento.....	18
3.2. Tratamentos.....	18
3.3. Avaliações de Crescimento e Fisiológicas.....	19
3.4. Quantificação os Teores de Prolina Livre.....	25
3.5. Quantificação dos Teores de Glicina Betaína.....	26
3.6. Análises Estatísticas.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1. Características Biométricas.....	29
4.2. Características Fisiológicas.....	33
4.3. Características Bioquímicas.....	47
4.4. Associação entre as Características.....	52
5. CONCLUSÕES.....	55
6. REFERÊNCIAS.....	56

PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* SOB DIFERENTES REGIMES DE IRRIGAÇÃO EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de cinco híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (H1, H2, H3, H4 e H5) submetidos a quatro regimes de irrigação (RI1 – irrigação diária; RI2 – irrigação a cada dois dias; RI4 – irrigação a cada quatro dias e RI6 – irrigação a cada seis dias). O experimento foi implantado em casa de vegetação no delineamento de blocos casualizados no esquema fatorial 5 x 4 (cinco híbridos e quatro regimes de irrigação), com quatro repetições, usando como substrato 10,5 Kg de um Neossolo Quartzarênico. Foram avaliadas características de crescimento como: incremento relativo em diâmetro de coleto, em altura, em número de folhas, em área foliar, em massa seca de folhas, de caule, de raízes e total e razão raiz- parte aérea; fisiológicas como: taxa de assimilação líquida, transpiração, condutância estomática, concentração interna de CO₂, potencial hídrico foliar, conteúdo relativo de água, eficiência fotoquímica e índice de conteúdo de clorofila total; e bioquímicas como: teores foliares de prolina livre e de glicina betaína. As avaliações fisiológicas foram realizadas em sete ciclos; mas, para fins de análise estatística foram consideradas as médias dos ciclos. Essas características também foram avaliadas 48 h após a irrigação de todos os tratamentos, formando-se assim dois grupos de características: sob estresse (no momento em que as plantas estariam submetidas à maior deficiência hídrica) e sob recuperação (após a irrigação de todas as plantas do experimento). As características biométricas e fisiológicas apresentaram menores valores com a redução da disponibilidade hídrica, independentemente dos híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. As alterações na área foliar, na massa de matéria seca de caule e na condutância estomática são boas sinalizadoras de estresse hídrico. O acúmulo de prolina nas folhas, com a redução da disponibilidade hídrica, está associado ao estresse hídrico imposto e não à tolerância dos híbridos à seca. Os teores de glicina betaína não estão associados nem à tolerância dos híbridos e nem às condições de disponibilidade hídrica do solo. O híbrido H3 é o mais tolerante e o H5 o mais sensível à redução da disponibilidade hídrica no solo.

Palavras-chave: estresse hídrico, melhoramento florestal, parâmetros fisiológicos e bioquímicos

**BIOMETRICS, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS AMONG FIVE
Eucalyptus grandis x *Eucalyptus urophylla* HYBRIDS UNDER DIFFERENT WATER
REGIMES IN GREENHOUSE**

ABSTRACT – The aim of this work was to evaluate the behavior of five *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* hybrids (H1, H2, H3, H4 and H5) submitted to four irrigation regimes (RI1 - daily; RI2 – every two days; RI4 – every four days; RI6 – every six days). The experiment was carried out in a greenhouse, in a randomized block design with a factorial scheme 5 x 4 (five hybrids and four irrigation regimes), with four replications, using 10.5 kg of Neossol Quartzarenic soil. It was evaluated the biometric traits: relative increment at collar diameter, height, leaves number, leaf area, dry matter of the leaves, of the stem, of roots and total matter, root-shoot ratio; physiological traits: net photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, leaf water potential, relative water contents, photochemistry efficiency and index of chlorophyll contents; and biochemical traits: foliar contents of free proline and glycine betaine. The physiological evaluations were performed during seven cycles, but for statistics analysis they were considered the means from ones. The physiological traits were also evaluated 48 h after irrigation of every irrigation regimes. Two groups of values were created: under stress (in the plants were submitted to water stress) and under recovery (after irrigation). Biometric and physiological trait decreased by reduced water availability, regardless of hybrids of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. Changes in leaf area, dry matter of stem and stomatal conductance are good indicators of water stress. The higher proline accumulation in leaves due to reduced water availability is associated with the water stress but not to tolerance of hybrids to drought. The glycine betaine levels are not related to tolerance of hybrids or to the conditions of the soil water availability. The hybrid H3 is more tolerant and H5 is the most sensitive to reduced water availability in soil.

Key words: water stress, forest improvement, physiological and biochemical traits

1. INTRODUÇÃO

A devastação das florestas naturais brasileiras, aliada a crescente demanda por celulose, lenha e energia, carvão, madeira, serraria, desinfetantes, remédios e outros produtos, têm feito com que esforços sejam empreendidos no estabelecimento de florestas de usos comerciais capazes de produzir madeira em qualidade e quantidade. Para isso é importante tornar os povoamentos mais produtivos e aumentar a adaptabilidade dos materiais genéticos ao ambiente trabalhado, sendo necessária a complementação das técnicas de manejo com aplicação do melhoramento genético (MARTINS et al., 2001).

Atualmente, o gênero *Eucalyptus* vem se constituindo numa das principais fontes de matéria-prima fibrosa para a indústria de celulose e papel, tanto em termos nacional como mundial, assumindo posição de destaque pela grande diversidade de espécies botânicas e boa adaptação aos diferentes tipos de ambiente (MARTINS et al., 2001).

No Brasil, a expansão da eucaliptocultura tem ocorrido em áreas com grandes limitações ao desenvolvimento vegetal como com altos teores de alumínio, baixa fertilidade natural e baixa disponibilidade hídrica, dentre outros (PAVAN, 2003). Destes fatores, a baixa disponibilidade hídrica é o mais limitante para sustentabilidade dos sistemas agrícolas, pois além de afetar as relações hídricas nas plantas, alterando-lhes o metabolismo, trata-se de um fenômeno que ocorre em grandes extensões de áreas cultiváveis, causando grandes prejuízos (NOGUEIRA et al., 2001).

O estresse por escassez hídrica afeta o crescimento e a produtividade de florestas, e ocorre quando o conteúdo de água na planta cai abaixo do nível que afeta os processos fisiológicos como transpiração, fotossíntese, abertura estomática, produção de ácido abscísico e ajuste osmótico (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Com a diminuição gradativa da água disponível no solo, o desenvolvimento das plantas fica comprometido e é variável em função das características adaptativas da espécie, da severidade do déficit de água, do estágio de desenvolvimento e da possibilidade de aclimação ao déficit (CALBO & MORAES, 2000). A resposta visual mais evidente das plantas ao déficit hídrico, segundo TAIZ & ZEIGER (2004), é o

decréscimo na área foliar, o que afeta diretamente a fotossíntese, além de outras respostas, como o fechamento dos estômatos, a aceleração da senescência e a abscisão das folhas. Quando as plantas são expostas a situações de déficit hídrico exibem, freqüentemente, respostas fisiológicas que resultam de modo indireto, na conservação da água no solo, como se estivessem economizando para períodos posteriores. Segundo estes autores, a limitação na área foliar pode ser considerada visualmente como uma primeira reação das plantas em relação ao déficit hídrico.

Os efeitos da deficiência hídrica são, frequentemente, agravados quando associados com alta temperatura e radiação, comprometendo a sobrevivência e a produtividade agronômica e florestal (FLEXAS et al., 2002). Desta forma, o entendimento dos efeitos da deficiência hídrica nas plantas é vital para melhoria de práticas de manejo e melhoramento florestal (CHAVES et al., 2003).

Assim, este trabalho teve por objetivo estudar o comportamento de cinco híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados em diferentes regimes de irrigação em casa de vegetação, quanto às características de crescimento, fisiológicas e bioquímicas. Estas variáveis poderão ser utilizadas como parâmetros para indicação de melhor manejo e de obtenção de maior produtividade no desenvolvimento e melhoramento de híbridos mais produtivos de *Eucalyptus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Gênero *Eucalyptus*

O eucalipto pertence à divisão Angiospermae, classe Dicotyledonea, ordem Myrtales, família Myrtaceae e gênero *Eucalyptus*, com muitas espécies e subespécies naturais ou decorrentes da hibridação (BERTOLUCCI et al., 1995). O gênero é originário da Austrália e regiões próximas, como Timor, Indonésia, Papua Nova Guiné, Molucas, Irian Jaya e sul das Filipinas, porém, predominantes no continente australiano, na faixa latitudinal entre 9° N e 45° S, encontrando-se amplamente distribuído entre as altitudes de 30 m a 2000 m (ELDRIDGE et al., 1993). As florestas australianas são dominadas por eucaliptos onde mais de 900 espécies são reconhecidas, das quais em torno de uma centena são utilizadas como produtoras de madeira (BROOKER & KLEINING, 2000).

Do total de espécies descritas de *Eucalyptus* (mais de 900), não mais de 20 espécies e algumas poucas resultantes da hibridação interespecífica vem sendo utilizadas em escala comercial, em 80 países da Ásia, da África, da América, da Europa, de alguns países do mediterrâneo e de algumas ilhas do Oceano Pacífico, compreendidos entre as latitudes 40° N e 45° S. Nesses países, a produtividade do eucalipto é altamente variável, em função das condições ambientais, da espécie utilizada, da origem ou procedência do propágulo vegetal e do grau de melhoramento e manejo empregado (FLYNN, 1999).

A partir do início do uso da madeira do *Eucalyptus* para a produção de celulose na Europa, por volta de 1919, muitas espécies vêm ganhando importância e tornando-se mundialmente expressivas. Uma substancial parte da celulose de espécies folhosas usadas na fabricação de papel para impressão e escrita é oriunda de plantações de eucalipto pelos maiores produtores mundiais, principalmente Brasil, Índia, África do Sul, Portugal, Angola, Espanha, China, França e Japão. Além do crescente mercado de celulose e papel, os setores de energia e moveleiro vêm tomando grandes dimensões em diversos países (FLYNN, 1999). Estima-se que, no mundo, a área cultivada supera

14 milhões de hectares dos quais, 58 países são relatados como plantio de grande escala. No Brasil, atualmente, as plantações de eucalipto, com o propósito industrial, ocupam mais de 4,5 milhões de hectares (ABRAF, 2010).

A disseminação de sementes de *Eucalyptus* no mundo iniciou-se no século XIX. Na América do Sul, o primeiro país a introduzir o eucalipto foi o Chile em 1823, posteriormente a Argentina e o Uruguai. Por volta de 1850, países como Portugal, Espanha, Estados Unidos e Índia começaram a testar o eucalipto para fins comerciais (FERREIRA, 1993). Este autor também destaca que as espécies mais utilizadas no mundo são: *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus viminalis*, *Eucalyptus saligna* e *Corymbia citriodora*.

No Brasil, as primeiras mudas de *Eucalyptus* plantadas foram no Rio Grande do Sul em 1868, mas o reflorestamento em escala operacional foi no Estado de São Paulo em torno de 1900. Em 1904, iniciaram-se as plantações de eucalipto como fonte de lenha e dormentes no Estado de São Paulo (GARCIA & MORA, 2000). De acordo com os autores, Edmundo Navarro de Andrade é considerado o pai da eucaliptocultura no Brasil, onde, por volta de 1900, desenvolveu os primeiros trabalhos experimentais no Horto de Jundiaí-SP, comparando várias espécies nativas (peroba, cabreúva, jequitibá, jacarandá paulista e pinheiro-do-Paraná) com o *Eucalyptus*, sendo que este sobressaiu às demais nos ensaios. A partir daí, a companhia Paulista de Estrada de Ferro em 1909, iniciou o plantio comercial de eucalipto para obtenção de dormentes.

Em 1916, Edmundo Navarro de Andrade criou o Museu do *Eucalyptus*, no Horto Florestal de Rio Claro-SP (atualmente Floresta Estadual Navarro de Andrade), sendo o único do gênero no mundo, além de instalar importantes experimentos de introdução de espécies e procedências de eucalipto. A partir de 1920, foram importadas da Austrália sementes de várias espécies de *Eucalyptus*, já mais focadas à introdução e destinação das sementes para as regiões mais semelhantes às de origem (FERREIRA, 1993). Segundo esse autor, na década de 50, o Departamento de Horticultura da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP) já realizava pesquisa com várias espécies do gênero.

Em 1968, foi criado o IPEF (Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais), vinculado a ESALQ/USP, sendo que a partir deste, os trabalhos envolvendo melhoramento genético do *Eucalyptus* alcançaram maior dimensão (GARCIA & MORA, 2000). Neste período, de acordo com esses autores, o *Eucalyptus grandis* foi eleito como sendo o mais produtivo, apresentando madeira com características apropriadas para produção de celulose. O Brasil estuda o *Eucalyptus* há quase um século, sendo que os resultados encontram-se não só nas publicações em torno da cultura, mas no campo onde os resultados silviculturais atingem altíssimas produtividades (HIGA, 1995). No Brasil, a espécie mais plantada é o *Eucalyptus grandis*, atingindo em torno de 50% da área total com a cultura, resultado da sua excelente resposta silvicultural, como boa forma e rápido crescimento, além de propriedades desejáveis para usos múltiplos da sua madeira (TOMASELLI, 2000). A madeira do *Eucalyptus* foi responsável por 70% do total da pasta celulósica produzida no país na última década, em que o *E. grandis* e seus híbridos interespecíficos têm uma expressiva participação deste total (BRACELPA, 2009).

A expansão na área plantada com o *Eucalyptus* é resultado de um conjunto de fatores que vêm favorecendo o plantio em larga escala deste gênero. Entre os aspectos mais relevantes estão o rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade florestal e a expansão e direcionamento de novos investimentos por parte de empresas de segmentos que utilizam sua madeira como matéria prima em processos industriais. Além disso, o gênero *Eucalyptus* apresenta muitas espécies e variedades que se adaptaram a várias condições de clima e solo; é uma excelente madeira, o que resulta em produtos de ótima qualidade; por não ser nativo do Brasil, é imune a uma série de pragas e doenças. Ainda, a madeira do *Eucalyptus* apresenta grande versatilidade, podendo ser usada para a produção de tábuas, móveis de alta qualidade, construção de casas e outros abrigos, postes, pontes e mourões, lenha e energia, carvão, celulose e papel, dentre outros. Das folhas podem extrair óleos que são usados na fabricação de desinfetantes, remédios e outros produtos (ABRAF, 2010).

O setor florestal em 2005 faturou US\$27,8 bilhões, dos quais US\$8,9 bilhões referem-se ao setor de papel e celulose, o que representou 3,5% do PIB Brasileiro.

Neste mesmo período, o setor florestal gerou 1.655.550 empregos diretos e indiretos. Nos últimos anos o Brasil ganhou espaço no mercado internacional de produtos de origem florestal. No início dos anos 90 a participação do Brasil nas exportações mundiais não ultrapassava 1,7% e em 2009 o setor de florestas plantadas foi responsável por 4% do total das exportações totais do país (ABRAF, 2010).

Em 2009 o Brasil se manteve como o quarto maior produtor de celulose do mundo, posição conquistada em 2008. A produção brasileira de celulose apresentou crescimento de 6% em 2009 em relação a 2008, totalizando 13,4 milhões de toneladas e mantendo a tendência do crescimento anual entre 2000 e 2008, que foi de 6,8%. Apesar da crise global que afetou o setor florestal entre 2008 e 2009, o setor de celulose do Brasil mantém a posição competitiva no mercado internacional. O consumo nacional de celulose apresentou uma redução de 6,5% em 2009 em relação ao ano anterior. A produção brasileira de celulose é suficiente para atender ao mercado interno e ainda ampliar sua participação no mercado externo. A produção pode alcançar maiores patamares com a criação de novas fábricas e com a expansão das já existentes, para suprir a demanda crescente nos próximos anos, tanto do mercado interno como do mercado externo (ABRAF, 2010).

2.2. Estresse Hídrico

No ambiente onde as plantas são cultivadas, estas estão frequentemente submetidas a condições externas adversas, resultando em estresses que afetam de maneira desfavorável seu crescimento, desenvolvimento e/ou produtividade. Diversos fatores ambientais podem ocasionar um estresse em um indivíduo, tais como condições desfavoráveis de radiação solar, de disponibilidade hídrica e de temperatura (SOUZA et al., 2006).

A deficiência hídrica é considerada o mais importante fator ambiental, porque a produtividade das culturas depende da quantidade disponível de água e da eficiência do seu uso pelas plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004). O estresse por deficiência hídrica constitui um dos mais sérios problemas mundiais, pois causa redução severa na

produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas, e supera os efeitos de outros estresses ambientais. Atualmente, um dos maiores desafios da agricultura está na manutenção da produtividade sob deficiência hídrica, o que torna necessária a compreensão dos mecanismos de adaptação das plantas à seca (JALEEL et al., 2007).

Uma das primeiras respostas das plantas à deficiência hídrica do solo é a síntese de ácido abscísico (ABA) no sistema radicular, o qual é translocado para a parte aérea induzindo ao fechamento estomático, limitando, por conseguinte, a assimilação de CO₂. As plantas, também, passam por mudanças fundamentais na relação da célula com a água e nos seus processos fisiológicos, morfológicos e nutricionais, influenciando na sua capacidade de resistir às condições adversas do meio. Por conseguinte, há restrição ao acúmulo de massa, prejudicando tanto o crescimento inicial das plantas como os estádios mais tardios, limitando a dimensão das folhas individuais, o número de folhas, o número e taxas de crescimento dos ramos e o crescimento do caule (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O crescimento celular é muito sensível à deficiência hídrica e é, normalmente, reduzido mesmo antes da fotossíntese ou condutância estomática. Com a diminuição da disponibilidade hídrica do solo, ocorre uma redução do alongamento celular, e conseqüentemente, no consumo de carbono e energia, sendo uma maior proporção de fotoassimilados distribuída ao sistema radicular, diminuindo dessa forma a razão parte aérea/raiz. O ácido abscísico também parece exercer um efeito positivo no crescimento da raiz por suprimir a produção de etileno e um leve efeito negativo no crescimento da parte aérea, resultando em um aumento marcante na razão raiz/parte aérea em baixos potenciais hídricos auxiliando, desta maneira, a planta a enfrentar a condição ambiental adversa (TAIZ & ZEIGER, 2004). A extensão do sistema radicular (profundidade e distribuição lateral) depende, também, das características físico-químicas do solo além do conteúdo de água disponível (AIKEN & SMUCKER, 1996).

O crescimento foliar permite à planta incrementar sua capacidade fotossintética, enquanto o crescimento da raiz permite às plantas aumentar a área de exploração do solo por água e nutrientes. Assim, estes órgãos estão em competição entre si pela demanda de assimilados fotossintéticos. Em condições de estresse hídrico severo há

um decréscimo na expansão foliar e, conseqüentemente, na emergência de folhas em cultivares mais sensíveis ao estresse, bem como na massa seca das folhas, decrescendo, consideravelmente, de acordo com a severidade da seca (BORRELL et al., 2000).

PAVAN (2003), estudando diferentes regimes de irrigação, observou que as mudas de *Eucalyptus* apresentaram desempenhos inferiores em todos os parâmetros avaliados com a redução da disponibilidade de água. A limitação hídrica aumentou a resistência estomática, ocasionando o fechamento dos estômatos, a redução da taxa fotossintética e, conseqüentemente, o desenvolvimento das plantas.

VELLINI et al. (2008), estudando 18 clones de eucalipto submetidos a quatro regimes hídricos, constataram diferenças significativas tanto entre clones de eucalipto quanto entre regimes hídricos. Para o incremento relativo em altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, matéria seca de folhas, de caule e de raízes, razão raiz/parte aérea, taxa líquida de fotossíntese, condutância estomática, transpiração e potencial hídrico foliar.

As plantas, ao absorverem CO₂, inevitavelmente, perdem água pelas folhas. Essa perda de água ocorre principalmente através dos estômatos que apresentam mecanismos para controlar o seu grau de abertura (PAIVA et al., 2005). Sob condições de falta de água, o fechamento estomático é provavelmente a primeira linha de defesa da planta contra a dessecação, como também é o fator mais importante de controle da fixação do carbono, reduzindo a transpiração com reflexos diretos na fotossíntese (NOGUEIRA et al., 2005). Como conseqüência, a planta consegue suportar esta adversidade, mas tem seu desenvolvimento reduzido (SILVA, 1998).

O déficit hídrico promoveu redução nos valores de fotossíntese, condutância estomática, transpiração e potencial hídrico foliar em clones de *Eucalyptus* em ambientes com diferenciada disponibilidade de água no solo (TATAGIBA et al., 2007 b). Da mesma forma, ao analisar as trocas gasosas em cinco espécies de *Eucalyptus*, em vasos, foram observadas menores taxas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração em todas as plantas submetidas ao déficit hídrico, quando comparadas com as taxas das mesmas plantas irrigadas (LIMA et al., 2003).

Se a planta perde água a uma taxa superior à sua capacidade de absorção e transporte, o potencial hídrico da folha diminui, levando ao fechamento dos estômatos e redução da fotossíntese. Presume-se que nos horários mais quentes do dia a condutância estomática diminua a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha atinja valores abaixo de níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água (OREN et al., 1999).

O nível mínimo que o potencial hídrico pode atingir durante os horários de transpiração intensa depende tanto de fatores genéticos como de fatores ambientais. Contudo, em situação de baixa disponibilidade de água no solo as plantas reduzem a perda de água ao reduzir a condutância estomática. Poderá também favorecer a turgescência celular, em situações de estresse hídrico, ajustes no metabolismo celular, por exemplo, via acúmulo de substâncias orgânicas, tais como a prolina, o que contribui para a osmorregulação (SILVA et al., 2004). Assim, medições do potencial hídrico foliar poderão identificar o *status* hídrico em que se encontram as plantas indicando o grau de hidratação e, assim, representar o estresse hídrico em que a planta está submetida (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O déficit hídrico caracteriza-se como um dos estresses ambientais responsáveis pela perda de pigmentos nas folhas, fazendo com que o ciclo da planta seja alterado. Os pigmentos fotossintéticos mais abundantes são as clorofilas (*a* e *b*) e os carotenóides. As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o local da fotossíntese, a qual possui reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacóides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto (TAIZ & ZEIGER, 2004). Assim, métodos de quantificação e de estimativas desses pigmentos poderão ser utilizados como ferramentas para seleção de genótipos tolerantes à seca (ARGENTA et al., 2002).

O estresse hídrico poderá também promover efeitos deletérios nos cloroplastos interferindo na eficiência da fotossíntese inativando o fotossistema II (P680 ou PSII) e a cadeia de transporte de elétrons que daria origem ao ATP e NADPH₂ (TATAGIBA & PEZZOPANE, 2007). A eficiência fotoquímica da fotossíntese, obtida por meio das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a*, revela o nível de excitação da energia

no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para estimar a integridade do PSII de uma determinada folha. Além disso, é uma técnica rápida, não-destrutiva e sensível, constituindo importante avanço em estudos fisiológicos de plantas (KRAUSE & WEISS, 1991).

As principais variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila *a* são: fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m). O rendimento fotoquímico máximo é calculado como: $F_v/F_m=(F_m-F_o)/F_m$. Desta forma, elevadas razões F_v/F_m sob estresse hídrico podem ser um indicativo de eficiência no uso da radiação pela fotoquímica e pela assimilação de carbono, assim como queda nestas razões serem indicativas de fotoinibição associada a danos no PSII (MAXWELL & JOHNSON, 2000). O monitoramento da fluorescência da clorofila *a* em plantios de eucalipto pode ser útil na identificação da capacidade de tolerância dessas espécies à deficiência hídrica.

Em resposta à deficiência de água no solo, muitas plantas sintetizam e acumulam compostos de massa molecular pequena e não tóxicos como açúcares-alcoóis, prolina e glicina betaína os quais são denominados osmólitos, osmoprotetores ou solutos compatíveis (YANCEY et al., 1982). A função exata desses compostos, nas plantas, embora seja desconhecida, pode estar relacionada à proteção dos vegetais a estresses abióticos, funcionando como uma ferramenta para o ajustamento osmótico celular (BARTELS & SUNKAR, 2005). As plantas utilizam o mecanismo de ajustamento osmótico, processo pelo qual o potencial hídrico pode diminuir sem que haja redução da turgidez das células vegetais, permitindo a continuidade de processos fisiológicos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (DESTRO, 2006).

A prolina não ocorre somente nas plantas, mas também em muitos outros organismos, sendo provavelmente o osmólito mais extensamente distribuído (DELAUNEY et al., 1993). Essa molécula apresenta outras funções, além do ajuste osmótico, em tecidos de planta osmoticamente estressados: integridade e proteção da membrana plasmática (MANSOUR et al., 1998), dissipador ou redutor de energia (VERBRUGGEN et al., 1996), fonte de carbono e nitrogênio (PENG et al., 1996) e eliminador de radicais hidroxil (HONG et al., 2000).

A prolina é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos. Aminoácidos são moléculas que contêm porções amino ($-\text{NH}_2$) e um grupo funcional carboxil ($-\text{COOH}$). O que diferencia a prolina dos demais aminoácidos é que ela contém uma porção imino ($\text{C}=\text{NH}$), um grupo funcional carboxil e um grupo imina secundário (MOLINARI, 2006).

O acúmulo deste aminoácido pode ocorrer por duas vias paralelas nas plantas, uma direta e outra via ornitina (KISHOR et al., 2005). A diferença principal entre as duas vias está na acetilação dos intermediários em uma delas. Através da via direta, após a formação do glutamato semi-aldeído, a molécula se transforma em uma estrutura cíclica (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato), precursora da prolina. A estrutura cíclica é formada pela reação intramolecular dos grupos aminos e aldeído do glutamato-semi-aldeído. Na via dos derivados acetilados, a presença dos grupos acetil ligado ao grupo 2-amino impede essa reação interna, e uma estrutura aberta, a ornitina, é formada. A ornitina pode ainda levar à formação da estrutura cíclica da prolina, após perda do grupo amino por transaminação (SODEK, 2004). Embora as duas vias de biossíntese de prolina livre sejam igualmente importantes em condições normais, há evidências que favorecem a via direta do glutamato (sem acetilação) em condições de déficit hídrico (YAMADA et al., 2005).

Este aminoácido é particularmente reconhecido pela efetiva participação como soluto compatível, e considerando osmólito-chave para o ajuste osmótico de plantas sob deficiência hídrica (MARIN & SANTOS, 2008). Quando as plantas são cultivadas sem nenhum tipo de restrição, a prolina normalmente aparece em pequenas quantidades, ou seja, na faixa 1 a 5 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa seca (NOGUEIRA et al., 2001). No entanto, sob condições de estresse a prolina se acumula no citosol, em maiores quantidades, contribuindo desta maneira para o ajuste osmótico citosólico, podendo este aumento estar associado à tolerância das plantas à desidratação (ASHRAF & FOOLAD, 2007).

O aumento do conteúdo de prolina nas folhas é diretamente proporcional à severidade de estresse hídrico (NOGUEIRA et al., 1998) e em muitos trabalhos, têm sido relatada a correlação do incremento de prolina livre na caracterização de genótipos

tolerantes à seca (HONGBO et al., 2006). Desta maneira, a associação entre o acúmulo de prolina livre e a tolerância ao estresse hídrico, em diferentes genótipos, pode ser uma ferramenta importante na seleção de indivíduos tolerantes à seca agilizando programas de melhoramento de plantas (ZAIFNEJAD et al., 1997).

Na cultivar SP- 79-1011 de cana-de-açúcar, tolerante à deficiência hídrica, ocorreu acúmulo de prolina livre conforme a redução dos níveis de água no solo (BIDOIA et al., 2006). O acúmulo de prolina livre não ocorre somente como uma resposta das plantas à restrição hídrica, também sob condições de elevada acidez do solo, proporcionada pelo aumento da concentração de Al^{3+} (MOSSOR, 2001). O acúmulo de prolina livre em plantas sob estresse pode ser consequência tanto do aumento na sua síntese como do decréscimo na sua degradação (FERREIRA et al., 2002). No entanto, para melhor compreensão desse mecanismo, há necessidade de pesquisas em plantas economicamente importantes, pois são poucas as informações na literatura pertinente.

As betaínas são compostos de amônio quaternário em que o átomo do nitrogênio é metilado totalmente. As betaínas mais comuns nas plantas incluem a glicina betaína, prolina betaína, β -alanina betaína, colina-O-sulfato e 3-dimetilsulfo-niopropionato (MCNEIL et al., 1999). A glicina betaína além de ser uma amina quaternária é uma molécula anfótera, bipolar e extremamente solúvel em água. Este osmólito é distribuído extensamente em plantas superiores e sintetizado em elevadas taxas em muitas espécies de plantas em resposta aos vários tipos de estresses ambientais e, portanto, seu acúmulo pode ser correlacionado com o nível da tolerância (RHODES & HANSON, 1993). Para algumas espécies vegetais, a síntese de moléculas osmoprotetoras, como a glicina betaína, é uma das principais estratégias empregadas para minimizar os efeitos do estresse salino (MELONI et al., 2004).

A glicina betaína é sintetizada da colina ou da glicina, por duas vias distintas: a da desidrogenação da colina ou da N-metilação da glicina. Para quase todos os sistemas biológicos, incluindo a maioria dos animais, plantas e microorganismos, a biossíntese de glicina betaína é realizada pela conversão da colina a glicina betaína em dois passos: uma oxigenação e uma desidrogenação passando por um intermediário

instável (betaína aldeído). Em *E. coli*, duas enzimas, a colina desidrogenase (CDH) e a betaína aldeído desidrogenase (BADH), são requeridas (TAKABE et al., 1998).

A glicina betaína não possui, exclusivamente nas células, a função osmoprotetora, pois esta molécula pode ser sintetizada a partir da molécula colina ou por meio de seus precursores para ser utilizada, em via metabólica formando compostos ligados à síntese do etileno e da molécula piruvato, além de ser fonte de carbono, nitrogênio e energia (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004). Adicionalmente a glicina betaína pode atuar como molécula sinalizadora que induz a expressão de genes associados à tolerância à seca (WADITEE et al., 2005) e, assim, ser alvo da engenharia molecular visando o estudo de tolerância à desidratação (RONTEIN et al., 2002).

Algumas plantas acumulam glicina betaína para serem ajustadas osmoticamente, enquanto outras espécies não apresentam a mesma capacidade de acúmulo (SAKAMOTO & MURATA, 2000). Desta forma, pesquisas relacionadas aos teores de glicina betaína podem ser uma ferramenta importante na investigação de genótipos tolerantes, em condições de estresses abióticos.

2.3. Melhoramento Visando Tolerância ao Estresse Hídrico

O estresse pode se manifestar em vários graus de severidade, com duração variável, combinados ou não, de modo contínuo ou alterando com momentos de normalidade. No que concerne às plantas, a ação da intensidade do estresse vai depender do órgão ou do tecido alvo, do estágio de desenvolvimento da planta e do genótipo em questão. Considerados esses fatores, o genótipo pode manifestar resistência ou tolerância, sobrevivendo e, às vezes, até crescendo, mesmo que em menores taxas ou o genótipo pode manifestar sensibilidade sofrendo redução do crescimento e, dependendo da intensidade do estresse, podendo chegar à morte da planta (CAMBRAIA, 2005).

O desenvolvimento das plantas com baixa disponibilidade de água envolve mecanismos complexos que podem ser classificados de três maneiras: “tolerar”,

escapar” e “evitar” a seca. A primeira permite à planta sobreviver e produzir, sob condições de elevado estresse hídrico interno; na segunda, a planta completa seu ciclo antes do advento de um período de seca; e na terceira, a planta mantém um potencial de água relativamente elevado sob condições de seca, através de mecanismos diversos, como o fechamento dos estômatos, aumento da cerosidade na cutícula, desenvolvimento do sistema radicular, eficiente transporte de água-solo-folha, dentre outros (KLAR et al., 1985).

A maioria destas adaptações à seca tem suas desvantagens. Um genótipo apresentando escape, ou seja, curta duração, geralmente produz menos quando comparado com um de duração normal. Os mecanismos que conferem resistência à seca reduzindo a perda de água, tal como o fechamento estomático e a redução da área foliar, geralmente reduzem a assimilação de dióxido de carbono. O ajuste osmótico aumenta a resistência à seca mantendo o turgor na planta, mas o aumento da concentração de solutos, responsável pelo o ajuste osmótico, pode ter efeito prejudicial além de uma exigência maior de energia para o processo. Conseqüentemente, a adaptação da planta deve refletir um contrapeso entre fugir, evitar e tolerar para manter a produtividade adequada (MITRA, 2001).

Espécies arbóreas, por serem incapazes de escapar da seca como algumas plantas anuais, têm desenvolvido muitos mecanismos de tolerância à seca. Considerando que cada tipo de estratégia é específico para determinada espécie, o conhecimento da estratégia de resistência permite a seleção de características fisiológicas que podem ser usadas em programas de melhoramento (PITA et al., 2005). Por se tratar de um estágio-chave no ciclo de vida das espécies arbóreas o estágio de muda é o mais crítico, pois, da capacidade de sobrevivência da muda dependerão todos os estágios posteriores (TYREE et al., 2003). Por possuírem um sistema radicular ainda pouco desenvolvido que limita o acesso à água do solo, as mudas são especialmente vulneráveis ao estresse hídrico (SLOT & POOTER, 2007). Por essa razão, grande parte dos estudos com espécies arbóreas refere-se ao estágio de muda ou à fase inicial de crescimento.

A resistência à seca é, conseqüentemente, uma complexa via que ainda precisa ser elucidada completamente, uma vez que as expressões de diversos genes dependem da ação e da interação de caracteres diferentes, tais como: morfológicos (área reduzida da folha, índice de cera, sistema radicular eficiente), fisiológicos (transpiração reduzida, elevado e eficiente uso de água, fechamento estomático e eficiência fotoquímica) e bioquímicos (acúmulo de solutos como prolina e glicina betaína, entre outros). Por isso, a identificação e a compreensão dos mecanismos de resistência à seca são fundamentais no desenvolvimento de novos cultivares comerciais mais resistentes ao estresse hídrico (NEPOMUCENO et al., 2001).

Diante da deficiência hídrica as plantas respondem através de vários processos adaptativos, não havendo, para tanto, mecanismo universal de resistência à seca, mas sim certos tipos de adaptações dentro de cada grupo ecofisiológico que as permitem resistirem à escassez de água. Essas respostas estão relacionadas com a capacidade de reduzir o potencial hídrico, aliadas às adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas que se traduzem em evitar ou transpor os efeitos letais da seca, sendo que, embora os parâmetros sejam avaliados muitas vezes isoladamente, as espécies usam mecanismos associados para a manutenção da vida em ambientes adversos (NOGUEIRA et al., 2005).

A expressão de genes (ainda não caracterizados) em genótipos tolerantes à seca pode ser usada no estudo de mecanismos de tolerância e para identificar outros genótipos com características similares. Tolerância das plantas à seca, claramente, não é uma característica simples, mas uma característica onde mecanismos trabalham isoladamente ou em conjunto para evitar ou tolerar períodos de déficit hídrico. A maior limitação para o melhoramento genético da tolerância ao déficit hídrico em plantas é o conhecimento sobre as bases fisiológicas, moleculares e genéticas das repostas das plantas ao déficit. Essas considerações reforçam a necessidade de um enfoque sistemático nos estudos de estresse hídrico, com maior ênfase nas diferenças genéticas entre os genótipos (NEPOMUCENO et al., 2001).

Genótipos que diferem em tolerância à seca devem apresentar diferenças qualitativas e quantitativas em expressão gênica. Uma resposta fisiológica específica ao

déficit hídrico representa, na realidade, a combinação de eventos moleculares prévios, que foram ativados pela percepção do sinal de estresse. Compreender como esses eventos são ativados/desativados e como interagem entre si será essencial no desenvolvimento de novas variedades mais tolerantes a períodos de seca. A tolerância à seca é considerada como carácter poligênico, difícil de ser trabalhado no melhoramento genético clássico, o que faz com que poucos programas se preocupem com essa característica (BEEVER, 2000).

No gênero *Eucalyptus*, a existência de diversidade genética entre espécies e entre procedências dentro de espécies e a manifestação de heterose em algumas características têm incentivado a realização de programas de hibridação (RESENDE et al, 1994). A obtenção de híbridos inter e intraespecíficos no gênero *Eucalyptus* tem assumido destacada importância dentro dos programas de melhoramento genético. A possibilidade de associação de características diferenciadas em espécies importantes, bem como a manifestação de heterose verificada nos cruzamentos entre vários pares de espécies têm levado os melhoristas de *Eucalyptus* a buscar na hibridação um meio mais rápido de promover o melhoramento de características florestais desejáveis. A viabilidade do aproveitamento comercial da heterose, verificada em vários cruzamentos, bem como da perpetuação e multiplicação de combinações híbridas superiores, por propagação clonal, possibilitou a adoção da hibridação como ferramenta importante na produção de florestas de qualidade superior (ASSIS et al., 1993).

Os genótipos respondem de maneira distinta aos fatores do meio, porém de forma mais pronunciada quando sob condições limitantes. O aumento dos períodos de escassez de água bem como o aumento das temperaturas tem colocado um grande desafio a pesquisadores de espécies comercialmente cultivadas: encontrar materiais genéticos tolerantes a estas condições ambientais e com boa produção. Desta forma, sendo o estresse hídrico uma condição ambiental muito diversificada e como plantações de eucalipto espalham-se por quase todo território nacional, fica difícil a produção de materiais tolerantes aos diversos níveis de estresse hídrico. Neste sentido, estudos básicos sobre respostas de plantas a condições diferenciadas de disponibilidade hídrica tornam-se necessários para a recomendação correta dos

materiais a serem usados em larga escala de plantio (NEPOMUCENO et al., 2001). A identificação destes materiais pode se dar através do emprego de características fisiológicas, bioquímicas e, ou de crescimento adequadas para seleção, auxiliando o melhoramento genético, buscando equilíbrio entre os caracteres que otimizam o crescimento com aqueles que conferem maior resistência à seca (PITA et al., 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Condução do Experimento

O trabalho foi realizado em casa de vegetação coberta com filme de plástico transparente com 150 µm de espessura revestida lateralmente com telas para sombreamento com capacidade de retenção da luz solar diária em 30%, no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, *Campus* de Jaboticabal – São Paulo.

Foram usados vasos de plástico pretos (24 cm de altura, 19 cm de diâmetro na base e 26 cm de diâmetro na parte superior), preenchidos com 10,5 kg de solo (Neossolo Quartzarênico), proveniente de área de cultivo de *Eucalyptus* spp. no município de Três Lagoas (MS), cuja caracterização físico-química encontra-se na Tabela 1. O solo foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C, passado em peneira de 0,4 cm e adubado segundo recomendação de GONÇALVES et al. (1997). Com o solo totalmente seco e adubado, e de acordo com testes preliminares da capacidade máxima de retenção de água pelo solo, foi adicionado a cada vaso quantidade de água suficiente para elevar a umidade para 21% em volume, ou seja, 60% da capacidade de retenção de água pelo solo, de forma que cada vaso recebeu 1400 mL de água.

3.2. Tratamentos

Os tratamentos foram resultantes da combinação de cinco híbridos de *Eucalyptus* e quatro regimes de irrigação. As mudas dos cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*, doravante denominados H1, H2, H3, H4 e H5, com cerca de 80 dias de idade, fornecidas pela Fibria Celulose e Papel S.A., foram produzidas pelo método de miniestaquia em tubetes de polipropileno, com capacidade para 60 cm³ de substrato, de acordo com a metodologia adotada pela empresa. Essas mudas foram plantadas nos vasos de plástico, e posteriormente, por 17 dias, visando garantir a sobrevivência das

mudas, todos os vasos foram mantidos com 60% da capacidade de retenção de água pelo solo, por reposição diária da água perdida, que foi determinada pela pesagem em balança eletrônica, com precisão de 0,01 g.

Tabela 1. Análise química e granulométrica de uma amostra do solo (Neossolo Quartzarênico), usado no experimento.

Análise Química										
Amostra	pH em CaCl ₂	M.O. g/dm ³	P resina mg/dm ³	mmolc/dm ³			SB	CTC	V %	
				K	Ca	Mg				
1	4,8	3	13	0,8	12	3	20	15,8	35,8	44
2	5,0	4	23	0,8	15	5	18	20,8	38,8	54

Análise granulométrica					
Argila	Limo	Areia		Classe Textural	
		Fina	Grossa		
g Kg ⁻¹					
57	23	433	487	arenosa	

M.O.: Matéria orgânica; SB: Soma de Bases; CTC: Capacidade de Troca de Cátions; V: Saturação por Bases.

Após o período de adaptação (17 dias), as mudas foram submetidas aos quatro regimes de irrigação, estabelecidos como intervalos entre irrigações sucessivas: RI1 - irrigação diária; RI2 - irrigação a cada dois dias; RI4 - irrigação a cada quatro dias e RI6 - irrigação a cada seis dias. No decorrer do experimento, a quantidade de água repostada em cada vaso foi determinada pela pesagem dos mesmos em balança eletrônica, em intervalos correspondentes aos regimes de irrigação, repondo-se o suficiente para atingir 60% da capacidade máxima de retenção de água (Figura 1).

Com 45 dias após o início dos tratamentos de irrigação, todas as plantas receberam adubação de cobertura, aplicando-se via solução aquosa 50 mg.dm⁻³ N, na forma de uréia.

3.3. Avaliações de Crescimento e Fisiológicas

Durante todo o período do experimento, entre 7 h e 30 min e 8 h, foram realizadas leituras de temperatura e umidade relativas atuais, máximas e mínimas, em intervalos aproximados de 24 h. Estes dados ficaram aqui registrados através das Figuras 2 e 3 podendo, assim, ajudar no entendimento dos resultados obtidos durante as avaliações fisiológicas. As avaliações fisiológicas ocorreram em intervalos de 12 dias, até o quarto ciclo (1º ciclo -13/10/2010; 2º ciclo - 25/10/2010; 3º ciclo - 5/11/2010 e 4º ciclo -18/11/2010), e a cada 6 dias após o quarto ciclo (5º ciclo - 24/11/2010; 6º ciclo - 30/11/2010 e 7º ciclo - 6/12/2010), conforme indicado também através das Figuras 2 e 3. A alteração no intervalo das avaliações fisiológicas (de 12 para 6 dias) ocorreu em função do porte das plantas (Figura 4), que passaram, assim, manifestar mais precocemente os efeitos de déficit hídrico.



Figura 1. Detalhe da pesagem diária dos vasos através do uso de balança eletrônica, para reposição de água em cada vaso, em função da necessidade, de forma a atingir os 21% em volume, ou seja, 60% da capacidade de retenção de água pelo solo.

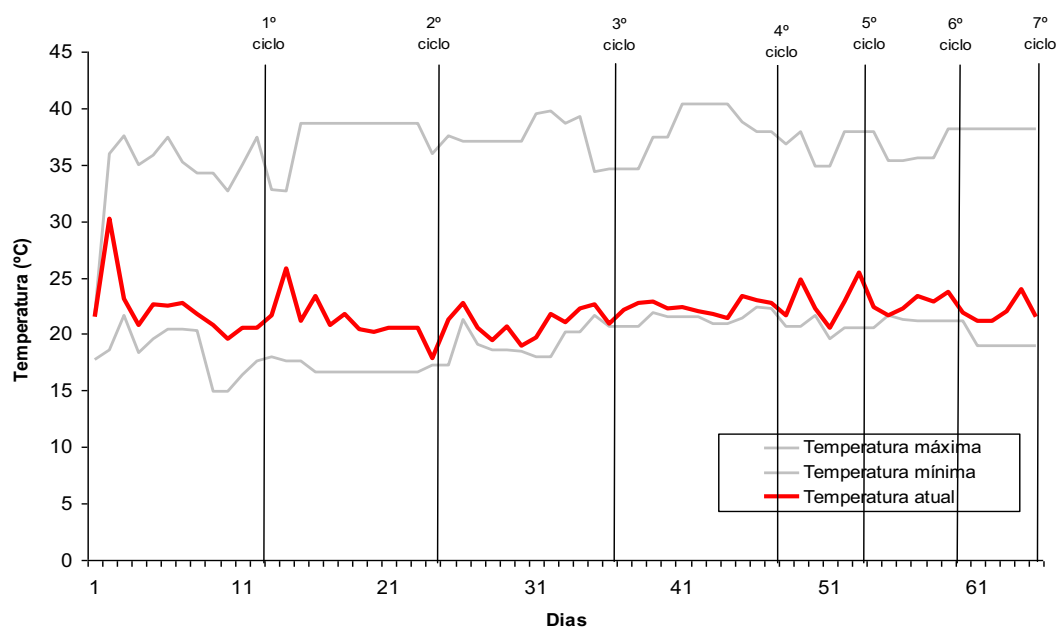


Figura 2. Temperatura atual (entre 7 h 30 min e 8h), máxima e mínima, em intervalos aproximados de 24 h, durante o período experimental.

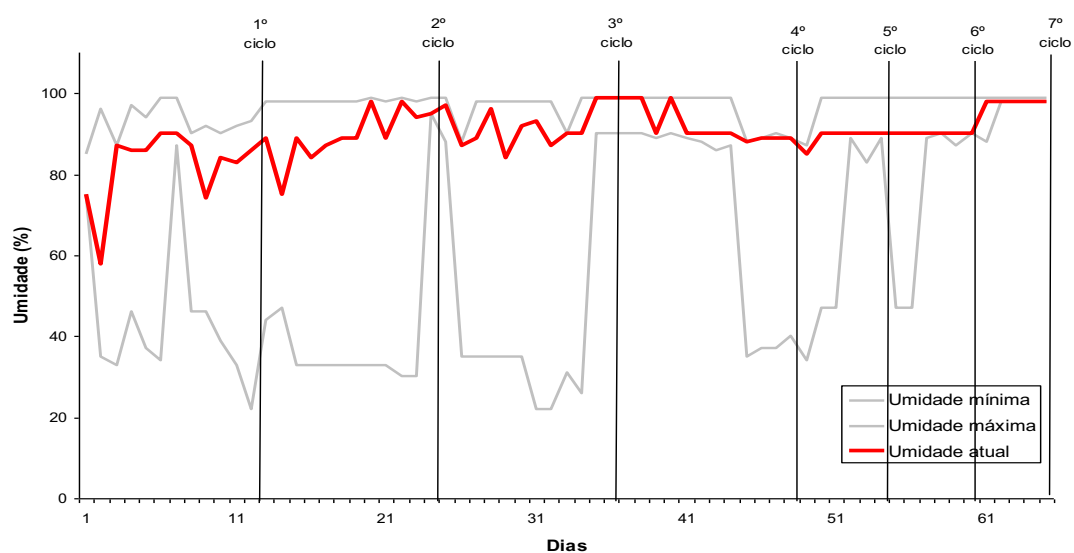


Figura 3. Umidade atual (entre 7 h 30 min e 8 h), máxima e mínima, em intervalos aproximados de 24 h, durante o período experimental.



Figura 4. Aspecto geral do desenvolvimento dos híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* durante os últimos ciclos de avaliação (A) e da avaliação da altura final das mudas através de régua de madeira graduada (B).

Na implantação do experimento e ao final do mesmo foram feitas avaliações de altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar e massa de matéria seca folha, de caule, de raiz e relação raiz-parte aérea. A altura foi determinada com régua graduada em mm (Figura 4) e o diâmetro do coleto, com paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm.

Aspectos do experimento, no momento da instalação e ao longo do período de sua condução, estão apresentados na Figura 5.

As características fisiológicas avaliadas em cada tratamento foram: taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), concentração interna de CO_2 (C_i), índice de conteúdo de clorofila (ICC) e eficiência fotoquímica (F_v/F_m). As medidas de A , g_s , E e C_i foram feitas usando um analisador de gases a infravermelho, portátil (IRGA, LC Pro⁺), sob concentração de CO_2 ambiente ($370 \pm 10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), fluxo de fótons fotossinteticamente ativo (FFFA) de $1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperatura da folha mantida a $25 \text{ }^\circ\text{C}$; o ICC foi determinado com um clorofilômetro portátil (Opti-Sciences, modelo CCM-200) e a eficiência fotoquímica do Fotossistema II (F_v/F_m) através de um detector de fluorescência de clorofila a portátil (Opti-Sciences,



Figura 5. Aspectos do experimento no momento da instalação (A e B) e ao longo do período experimental (C, D e E).

modelo OS-30p). O rendimento fotoquímico foi calculado através da fórmula $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ onde: F_o = fluorescência inicial, F_m = fluorescência máxima, F_v = fluorescência variável. Essas determinações foram realizadas entre 7 h e 30 min e 11 h e 30 min, em uma folha totalmente expandida de um dos ramos no terço superior da planta.

Essas determinações foram realizadas em sete ciclos (Figuras 2 e 3), coincidindo com a irrigação de todos os regimes de irrigação, sendo que para fins de análise estatística foram consideradas as médias dos sete ciclos. Estas características também foram determinadas 48 h após a irrigação de todos os tratamentos para se avaliar a capacidade de recuperação das plantas após a irrigação. Desta forma foram constituídos dois conjuntos de dados: 1- respectivamente, avaliados no momento em que as plantas estariam submetidas a menor disponibilidade hídrica (denominado “sob estresse”) e 2 - avaliados após a irrigação de todas as plantas do experimento (denominado “recuperação”).

Adicionalmente foi avaliado o conteúdo relativo de água nas folhas (*CRA*) e o potencial hídrico foliar (Ψ_f). Para determinação do *CRA*, folhas inteiras foram retiradas, identificadas e, imediatamente, determinada a massa de matéria fresca em balança analítica (0,0001 g). Em seguida foram imersas em água, e incubadas em câmaras tipo B.O.D, a 10 °C por 24 h, sendo posteriormente secas em papel absorvente e determinada a massa de matéria saturada. Após, as folhas foram submetidas à secagem em estufa a 70 °C por 48 h, para obtenção da massa de matéria seca. O *CRA* foi determinado, a partir da média das avaliações realizadas no 5º, 6º e 7º ciclos de suspensão de irrigação, conforme expressão apresentada por WEATHERLEY (1950):

$$CRA (\%) = \frac{\text{Massa fresca} - \text{Massa seca}}{\text{Massa saturada} - \text{Massa seca}} \times 100$$

O potencial hídrico foliar (Ψ_f) foi determinado por meio de uma bomba de pressão (SCHOLANDER et al., 1965), a partir da média das avaliações realizadas ao final do 5º e do 7º ciclos de suspensão de irrigação. Para isso retirou-se uma folha por

vaso e identificação da mesma. Cada uma destas folhas foi presa na bomba através do pecíolo. Quando a extremidade do corte (região do pecíolo) reumedecia parava-se a pressurização da bomba e anotava-se o valor que se referia ao potencial hídrico foliar.

Ao final do experimento, após todas as avaliações fisiológicas, as plantas foram cortadas, separando-se as folhas, caules e raízes para posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C para determinação das respectivas matérias secas. Antes das folhas serem submetidas à secagem, determinou-se a área foliar de cada planta, usando-se um medidor de área foliar (Li Cor, inc., modelo LI - 3100).

3.4. Quantificação dos Teores de Prolina Livre

Foram feitas quantificações de prolina livre no 3º ciclo de avaliação, nas mesmas folhas utilizadas nas análises fisiológicas citadas anteriormente.

A quantificação de prolina livre foi realizada em 0,5 g de tecido fresco do limbo foliar, segundo metodologia de BATES et al. (1973). As folhas foram coletadas no início da manhã, e subseqüentemente, pesadas em balança analítica (precisão de 0,0001 g). Separou-se 0,5 g de material vegetal fresco que foi envolvido em papel alumínio e conservado, em freezer a - 80 °C até as análises laboratoriais.

Na época de realização das quantificações, o material vegetal armazenado foi retirado do freezer e, então, macerado em almofariz com pistilo, em 2 mL de ácido sulfosalicílico a 3% (Vetec), sendo adicionados posteriormente mais 8 mL do mesmo ácido. A solução homogeneizada foi submetida a duas filtragens para eliminação parcial dos interferentes. Em tubo de ensaio foram colocados 2 mL deste filtrado, concomitantemente, foi preparado o reagente ácido ninhidrina, utilizando 1,25 g de ninhidrina ($C_9H_4O_3 \cdot H_2O$), 30 mL de ácido acético glacial PA (Chemco) (CH_3COOH ; 1 mol.dm⁻³) e 20 mL de ácido fosfórico (Synth) (H_3PO_4 ; 6 mol.dm⁻³), sendo, posteriormente, dissolvidos em agitador a 60 °C. Adicionou-se ao tubo de ensaio com 2 mL do filtrado, 2 mL de ninhidrina e 2 mL de ácido acético, a reação foi então incubada por 1 h a 100 °C. Decorrido este tempo, o tubo de ensaio foi imerso em gelo com a finalidade de cessar a reação. Foram, então, adicionados 4 mL de tolueno (Chemco)

(C₆H₅CH₃). A solução foi agitada em vortex por 15 a 20 segundos. Com auxílio de uma pipeta Pasteur retirou-se o sobrenadante e realizou-se a análise do equilíbrio de reação. Para o branco da reação foi utilizado o tolueno. A leitura de absorvância das amostras foi realizada no comprimento de onda 520 nm (BATES et al., 1973), utilizando-se para tanto o espectrofotômetro Beckman DU 640.

Para construção da curva padrão foi utilizada prolina P.A. Preparou-se solução estoque na concentração de 1 mmol.dm⁻³ e diluições em água destilada em até 160 vezes. Para isso pesou-se 0,0058 g de prolina P.A. e completou-se o volume para 50 mL de água destilada. A partir desta solução estoque promoveram-se as seguintes diluições: 1 mL solução estoque + 5 mL água destilada (10X); 1 mL solução estoque + 19 mL água destilada (20X); 1 mL solução estoque + 39 mL água destilada (40X); 1 mL solução estoque + 79 mL água destilada (80X) e 1 mL solução estoque + 159 mL água destilada (160X). Procedendo-se às etapas mencionadas na metodologia acima descrita. Com base nas leituras obtidas com os padrões, definiu-se uma equação, por regressão linear ($y = 0,0017x - 0,0267$; $R^2 = 0,98$), através da qual foram determinadas as concentrações de prolina livre na solução.

Os teores de prolina livre no tecido foliar (μmol de prolina livre g massa fresca⁻¹) foram calculados através da fórmula: $[(\mu\text{g prolina mL}^{-1} \times \text{mL tolueno})/115,5 \mu\text{g } \mu\text{mol}^{-1}] / [(g amostra)/5] = \mu\text{moles de prolina g massa fresca}^{-1}$.

A determinação de prolina livre foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), em Jaboticabal, SP.

3.5. Quantificação dos Teores de Glicina Betaína

Os teores de glicina betaína nas folhas foram determinados de acordo com a metodologia de GRIEVE & GRATTAN (1983), a partir de coleta de folhas em plantas de todos os tratamentos no 3º ciclo de avaliação.

Para tanto, as folhas coletadas foram acondicionadas em sacos de papel, previamente identificados, e levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80 °C durante quatro dias e, em seguida, o material foi moído.

Os extratos foram preparados com adição de 20 mL de água deionizada para 0,5 g de material moído. Subseqüentemente os extratos permaneceram durante 24 h sob agitação em Shaker (mod. G 25), a 25 °C e 110 rpm. Após este período os extratos foram filtrados e armazenados a -17 °C até a realização das análises.

Os extratos foram, então, descongelados e misturados na proporção de 1:1 com H₂SO₄ 2N (Synth) sendo em seguida mantidos em água gelada durante 1 h. Previamente, foi preparada uma solução de KI-I₂, diluindo-se 15,7 g de iodo e 20 g de iodeto de potássio em 100 mL de água destilada. Após, 0,2 mL desta solução foi adicionada ao extrato e levemente agitado em vórtex. Os tubos com os extratos foram mantidos à temperatura de 4 °C durante 16 h para terminar a reação, em seguida os tubos foram centrifugados a 11872 x g por 15 minutos a 0 °C. Ressalta-se que, com o iodeto de potássio mais o extrato, na presença do ácido sulfúrico, formaram cristais de periodato-betaína os quais precipitaram. O sobrenadante foi cuidadosamente retirado com uma micropipeta permanecendo apenas os cristais de periodato, os quais foram dissolvidos em 9,0 mL de 1,2-dicloroetano (Synth), agitação em vórtex. Após 2 h e 30 min em temperatura ambiente, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 365 nm no espectrofotômetro Beckman DU 640.

Para construção da curva padrão foi utilizada glicina betaína (PM = 117,15), preparando-se o padrão de referência (50 – 200 µg.mL⁻¹) em H₂SO₄ 1N e com base nas leituras obtidas com os padrões, definiu-se uma equação, por regressão linear ($y = 0,0077x - 0,2845$; $R^2 = 0,98$), através da qual foram determinadas as concentrações de glicina betaína na solução. Os teores de glicina betaína nas folhas foram expressos em µmol.g⁻¹ massa fresca.

A determinação dos teores de glicina betaína também foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), em Jaboticabal, SP.

3.6. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas segundo o delineamento de blocos casualizados, no esquema fatorial 5 x 4 (5 híbridos e quatro regimes de irrigação), com quatro repetições. Como os híbridos apresentavam desenvolvimento diferenciado na época da instalação do experimento, os dados de altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar e matéria seca de folha, de raiz e de caule foram analisados em termos de incremento relativo (IR, %), pela aplicação da seguinte expressão:

$$IR = \frac{(A_f - A_i)}{A_i} \times 100;$$

A_f : valor da característica A (altura, diâmetro do coleto,...) na avaliação final;

A_i : valor da característica A (altura, diâmetro do coleto,...) na avaliação inicial.

Os dados das características fisiológicas foram analisados a partir das médias dos ciclos na condição “sob estresse” e “recuperação”, conforme descritos no item 3.3.

As análises de variância foram processadas no programa SISVAR (FERREIRA, 2000), considerando os efeitos de híbridos e regimes de irrigação como fixos. As médias dos híbridos e dos regimes de irrigação, ou dos desdobramentos das interações, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% (BANZATTO & KRONKA, 2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características Biométricas

Diferenças significativas foram verificadas tanto entre híbridos quanto entre regimes hídricos para a maioria das características biométricas avaliadas. Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os híbridos para o incremento relativo em diâmetro de coleto (*IR-DC*) e em número de folhas (*IR-NF*) e entre os regimes de irrigação para o incremento relativo em altura (*IR-ALT*) e *IR-NF*. A interação H x RI foi significativa apenas para incremento relativo em massa seca de caule (*IR-MSC*; $p \leq 0,01$) e para relação raiz/parte aérea (*RPA*; $p \leq 0,05$). De acordo com a classificação de GOMES (2000), as estimativas dos coeficientes de variação (CV, %) são consideradas médias para incremento relativo em massa seca total (*IR-MST*), em massa seca caule (*IR-MSC*) e razão raiz parte aérea (*RPA*); altas para incremento relativo em diâmetro do coleto (*IR-DC*), em área foliar (*IR-AF*), em massa seca de folhas (*IR-MSF*) e de raízes (*IR-MSR*) e muito altas para altura (*IR-ALT*) e número de folhas (*IR-NF*) (Tabela 2).

O híbrido H3 apresentou valores de *IR-ALT*, *IR-AF*, *IR-MSF*, *IR-MSR* e *IR-MST* superiores aos híbridos H2, H4 e H5. De forma geral, os híbridos H4 e H5 apresentaram os menores valores para a maioria das características e H1 e H2, valores intermediários. Maiores valores das características biométricas foram observados nos regimes de irrigação RI1 e RI2, superando os regimes RI4 e RI6. Esses resultados são semelhantes aos apresentados por VELLINI et al. (2008), trabalhando com 18 clones de eucalipto sob quatro regimes hídricos. As plantas são afetadas pela redução na disponibilidade hídrica e tendem a se desenvolver melhor quando em condições hídricas adequadas, isto é, a baixa disponibilidade hídrica limita o crescimento e a produção (FLEXAS et al., 2002). O *IR-MSR*, *IR-ALT* e *IR-NF* foram menos afetados pela redução na disponibilidade hídrica do que as outras características (Tabela 2).

De acordo com TAIZ & ZEIGER (2004), um dos primeiros eventos promovidos pela deficiência de água no solo é uma redução do alongamento celular promovendo o decréscimo da área foliar. Este fato fica comprovado nesse trabalho pelas alterações na

Tabela 2. Valores de “F” obtidos na análise de variância para incremento relativo (%) em diâmetro de coleto (IR-DC), altura (IR-ALT), número de folhas (IR-NF), área foliar (IR-AF), massa seca de folhas (IR-MSF), de caule (IR-MSC), de raízes (IR-MSR), massa seca total (IR-MST) e razão raiz parte-aérea (RPA) de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidos a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada 2 dias; RI4 - a cada 4 dias; RI6 - a cada 6 dias), durante 88 dias.

Fv	IR-DC	IR-ALT	IR-NF	IR-AF	IR-MSF	IR-MSC	IR-MSR	IR-MST	RPA
Bloco	3,44**	0,95 ^{ns}	1,46 ^{ns}	1,99 ^{ns}	0,82 ^{ns}	3,23**	2,29 ^{ns}	1,71 ^{ns}	1,36 ^{ns}
Híbridos	2,32 ^{ns}	11,25**	0,35 ^{ns}	23,09**	13,97**	156,19**	25,61**	44,66**	43,18**
RI	16,41**	1,05 ^{ns}	0,55 ^{ns}	25,60**	29,58**	125,22**	9,80**	51,73**	15,77**
HxRI	0,90 ^{ns}	0,39 ^{ns}	1,10 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,39 ^{ns}	3,79**	1,70 ^{ns}	1,48 ^{ns}	1,89*
CV	24,67	39,16	79,89	25,85	24,41	13,17	24,06	16,97	19,56
Média	323,8	388,7	2221,5	4797,2	4246,9	6070,7	2060,7	3651,8	0,37
Média para clones									
H1	338,69	369,10 bc	2302,51	5531,75 b	4644,82 ab	7063,22 b	2522,46 a	4308,52 a	0,35 c
H2	322,60	425,86 b	2344,23	4179,40 c	3840,74 bc	5605,09 c	1772,35 bc	3521,07 b	0,25 d
H3	341,69	549,47 a	2423,39	6582,93 a	5453,95 a	8935,03 a	2621,34 a	4681,68 a	0,41 b
H4	281,28	300,42 c	1877,42	3830,76 c	3693,72 c	3512,55 d	1402,76 c	2610,29 c	0,34 c
H5	334,75	298,86 c	2160,00	3861,16 c	3601,44 c	5237,80 c	1984,46 b	3137,37 b	0,51 a
Média para regimes									
RI1	380,41A	408,50	2477,61	5694,77 A	4972,56 A	7266,34 A	2195,27 AB	4199,46 A	0,33 B
RI2	364,43A	417,75	2344,42	5827,33 A	5240,98 A	7603,88 A	2378,96 A	4455,16 A	0,33 B
RI4	296,20B	367,65	1930,92	4160,39 B	3692,84 B	5208,02 B	1931,64 BC	3229,57 B	0,39 A
RI6	254,17B	361,07	2133,09	3506,32 B	3081,37 B	4204,71 C	1736,82 C	2722,95 B	0,43 A

ns - não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); * e ** significativos pelo teste F ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$, respectivamente).

^{1,2} - médias seguidas por uma mesma letra, minúscula para híbridos e maiúscula para regimes de irrigação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

área foliar. O *IR-MS* e em *IR-AF* diminuíram à medida que o estresse hídrico tornou-se mais severo e os maiores valores dessas características estiveram presentes no H3. Assim, as alterações na área foliar poderão ser consideradas como boas indicadoras do estresse hídrico.

Segundo REIS et al. (2006) o crescimento em altura, aos 38 meses de idade, de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp. submetidos a dois regimes de irrigação no campo, não variou entre os tratamentos de irrigação, enquanto o diâmetro de coleto foi significativamente superior nas plantas do tratamento irrigado.

Todos os híbridos apresentaram os menores valores para *IR-MS* nos regimes de menor disponibilidade de água (RI4 e RI6) e os maiores nos regimes de irrigação freqüente (RI1 e RI2). O H2 apresentou o menor *IR-MS* no RI6 e o H3 foi o híbrido que apresentou os maiores valores para *IR-MS* em todos os regimes hídricos. Desta forma o H3 parece ser capaz de usar a água de forma mais eficiente que os demais híbridos, possibilitando o maior crescimento mesmo sob menor disponibilidade hídrica. O H4, por outro lado, apresentou os menores valores para *IR-MS* em todos os regimes impostos, porém não diferiu do H5 no RI4 e do H2 e H5 no RI6 (Tabela 3).

Comparando diferentes clones de eucaliptos, para as mesmas características aqui avaliadas, VELLINI et al. (2008) observaram diferenças significativas tanto entre genótipos quanto entre os regimes hídricos; os clones apresentaram reduções nas características analisadas à medida que a freqüência de irrigação diminuiu e foi possível identificar material genético promissor para trabalhos de melhoramento visando à tolerância ao estresse hídrico. Maior área foliar e maior biomassa foram encontradas em mudas irrigadas de *Eucalyptus cloeziana* e *Eucalyptus argopholia* (NGUGI et al., 2003) e maiores valores de área foliar, comprimento de raiz e número de ramos foram observados em mudas irrigadas de clones de *Eucalyptus globulus* (COSTA E SILVA et al., 2004).

A altura, diâmetro do caule e número de folhas em mudas de duas espécies de eucaliptos decresceram após o início do déficit hídrico, antes mesmo de a transpiração ser afetada pela redução da água no solo (MARTINS et al., 2008). Mudas de

Eucalyptus globulus, de três procedências submetidas a diferentes regimes hídricos em casa de vegetação, apresentaram mudanças significativas em características morfológicas e fisiológicas. A menor disponibilidade de água promoveu menor crescimento em altura, em diâmetro e em área foliar e o ajuste osmótico foi maior diante do estresse mais severo (GUARNASCHELLI et al., 2003).

Em potenciais hídricos baixos, espera-se um aumento na razão raiz/parte aérea (TAIZ & ZEIGER, 2004). O H5 apresentou maior razão raiz parte aérea no regime RI6, de menor disponibilidade de água (Tabela 3). Assim, é de se esperar que plantas do H5, por terem desenvolvido, proporcionalmente mais o sistema radicular em detrimento da parte aérea, apresentem sistema radicular mais desenvolvido quando plantadas em regiões com deficiência hídrica mais acentuada. O H5 apresentou baixo *IR-ALT* sugerindo alocação de recursos de forma diferenciada entre os componentes da parte aérea e radicular, talvez como estratégia de tolerar a deficiência hídrica imposta. Os híbridos H4 e H2 apresentaram valores semelhantes para a RPA diante de todos os regimes hídricos (Tabela 3).

Tabela 3. Incremento relativo (%) em massa seca caule (*IR-MS*) e razão raiz/parte aérea (*RPA*) de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidos a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada 2 dias; RI4 - a cada 4 dias; RI6 - a cada 6 dias), durante 88 dias.

	<i>IR-MS</i>			
	RI1	RI2	RI4	RI6
H1	8396 Ab	8842 Ab	5986 Bb	5028 Bb
H2	6536 Ac	6818 Ac	5160 Bbc	3906 Cbc
H3	10787 Aa	11146 Aa	7501 Ba	6406 Ba
H4	3906 Ad	4291 Ad	3223 ABd	2630 Bc
H5	6707 Ac	7021 Ac	4170 Bcd	3053 Bc
	<i>RPA</i>			
H1	0,26 Bbc	0,32 ABab	0,40 Ab	0,41 Ab
H2	0,23 Ac	0,22 Ab	0,25 Ac	0,29 Ac
H3	0,33 Bbc	0,39 ABa	0,43 ABb	0,48 Ab
H4	0,36 Aab	0,29 Aab	0,34 Abc	0,37 Abc
H5	0,46 BCa	0,40 Ca	0,56 ABa	0,63 Aa

* médias seguidas por uma mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha para uma mesma característica, não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey).

Corroborando com os resultados em *Eucalyptus nitens* e *Eucalyptus globulus* notou-se maiores valores para a relação raiz-parte aérea à medida que a deficiência hídrica tornou-se mais severa (MORONI et al., 2003). REIS et al. (2006) também verificou maior crescimento radicular, em condições de baixa disponibilidade hídrica sendo, por isso, este crescimento considerado uma estratégia de tolerância à seca observado entre híbridos de *Eucalyptus*, em que os híbridos com intenso crescimento radicular apresentaram menor sensibilidade ao déficit hídrico.

4.2. Características Fisiológicas

Taxa de assimilação líquida (A)

Para a taxa de assimilação líquida (*A*) houve diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre híbridos e entre os regimes de irrigação, tanto ao final do período de suspensão da irrigação (Tabela 4) quanto após 48 h da irrigação de todos os tratamentos (Tabela 5). Nestas duas situações, a interação híbridos x regimes de irrigação foi não significativa ($p > 0,05$).

Ao final do período de estresse, ou seja, sob estresse, o híbrido H3 apresentou maior taxa de assimilação líquida que os híbridos H2 e H5; por sua vez o H2 não diferiu do H1 e H4. Quanto aos regimes de irrigação, maiores valores de *A* foram observados nos regimes RI1 e RI2, seguido do RI4 e por último pelo RI6.

Após a irrigação, ou seja, sob recuperação (Tabela 5), as diferenças entre os híbridos foram menores, com o H4 superando o H1, H2 e H5. Também nesta condição, o regime de irrigação RI1 proporcionou menores valores de *A* que o RI2, não havendo diferenças entre as demais situações. Diante desses resultados pode-se considerar que o regime de irrigação diário (RI1) não proporcionou vantagens nos parâmetros fisiológicos, podendo ser considerado como excessivo para esses cinco híbridos de eucalipto. De uma forma geral, menores valores de *A* foram observados ao final do intervalo de irrigação, nos regimes cuja irrigação é menos freqüente (RI4 e RI6). Essas

Tabela 4. Valores de "F" obtidos na análise de variância para taxa de assimilação líquida (A , em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (C_i , em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), em plantas de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidas a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada dois dias; RI4 - a cada quatro dias; RI6 - a cada seis dias). (Médias dos dados obtidos ao final de sete ciclos de estresse hídrico - Estresse).

Fontes de Variação	Características			
	A	g_s	E	C_i
Híbridos (H)	11,659**	2,585*	1,884 ^{ns}	1,052 ^{ns}
Regimes de Irrigação (RI)	132,830**	63,691**	46,394**	2,090 ^{ns}
H x RI	1,191 ^{ns}	0,753 ^{ns}	0,960 ^{ns}	0,598 ^{ns}
Média	11,15	0,320	2,053	250,8
CV(%)	8,74	19,34	7,33	5,40
Híbridos		Médias de Híbridos		
H1	11,406 AB	0,317 AB	2,086	251,7
H2	10,842 B	0,318 AB	2,026	252,9
H3	11,940 A	0,346 A	2,076	244,9
H4	11,714 AB	0,337 AB	2,101	250,7
H5	9,861 C	0,281 B	1,976	253,7
Regimes de Irrigação		Médias de Regimes de Irrigação		
RI1	13,120 a	0,433 a	2,257 a	251,9
RI2	13,351 a	0,391 a	2,222 a	246,5
RI4	9,944 b	0,258 b	1,926 b	248,4
RI6	8,195 c	0,198 c	1,772 c	256,4

^{ns} – não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); * e ** significativos pelo teste F ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$), respectivamente.

Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para híbridos e minúscula para regimes de irrigação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

diferenças, contudo, são minimizadas após a irrigação. Entre os híbridos, o H5 foi o que mais manifestou sensibilidade à suspensão da irrigação, apresentando menor valor de A ao final do intervalo sem irrigação, porém com boa capacidade de recuperação. Sob condições favoráveis de disponibilidade de água (após a irrigação – recuperação) o híbrido H4 superou o H1, H2 e H5.

Os maiores valores para A verificados nos regimes de maior disponibilidade de água (RI2 e RI1) demonstraram que sob estresse (RI4 e RI6) houve inibição da taxa de assimilação líquida, como consequência do fechamento dos estômatos, evidenciado

Tabela 5. Valores de "F" obtidos na análise de variância para taxa de assimilação líquida (A , $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), em plantas de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidas a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada dois dias; RI4 - a cada quatro dias; RI6 - a cada seis dias). (Médias de sete ciclos de estresse obtidas um dia após a irrigação - Recuperação).

Fontes de Variação	Características			
	A	g_s	E	C_i
Híbridos (H)	5,399**	2,279 ^{ns}	2,962*	2,910 *
Regimes de Irrigação (RI)	4,765**	9,624**	1,212 ^{ns}	7,355**
H x RI	1,792 ^{ns}	0,903 ^{ns}	1,278 ^{ns}	1,84 ^{ns}
Média	12,805	0,377	2,322	236,02
CV(%)	7,19	14,79	4,67	4,76
Híbridos		Médias de Híbridos		
H1	12,424 B	0,361	2,317 AB	237,9 AB
H2	12,403 B	0,351	2,246 B	231,1 B
H3	13,189 AB	0,396	2,341 AB	233,5 AB
H4	13,557 A	0,398	2,335 AB	234,1 AB
H5	12,451 B	0,381	2,370 A	243,4 A
Regimes de Irrigação		Médias de Regimes de Irrigação		
RI1	12,222 b	0,406 a	2,321	245,6 a
RI2	13,288 a	0,414 a	2,359	235,5 b
RI4	12,737 ab	0,355 b	2,301	233,2 b
RI6	12,972 ab	0,335 b	2,305	229,7 b

^{ns} - não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); * e ** significativos pelo teste F ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$), respectivamente.

Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para híbridos e minúscula para regimes de irrigação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

também pelos menores valores de g_s nestes regimes. O estresse hídrico afeta a fotossíntese, tanto através do fechamento dos estômatos limitando a troca gasosa, como pelo comprometimento metabólico (FLEXAS et al., 2002).

Analisando a relação entre as situações "recuperação/estresse" (Figuras 6 A e B), percebe-se que o H5, apresentou maior taxa de recuperação, embora não a maior taxa de assimilação líquida; o H2 e H4 apresentaram taxa de recuperação semelhante e o H1 e H3 a menor taxa de recuperação (Figura 6 A). Mesmo sendo esses valores a média dos quatro regimes de irrigação, pode-se considerar que o H1 e H3 são os menos sensíveis ao déficit hídrico e o H5 o mais sensível. Ao considerar os quatro regimes de irrigação, nota-se a alta taxa de recuperação do RI4 e do RI6, e pouca

alteração no RI1 e RI2. De fato esses dois regimes (RI1 e RI2) não foram suficientes para promover deficiência hídrica aos cinco híbridos e, portanto, era esperada menor taxa de recuperação (Figura 6 B).

Ao analisarmos a razão entre os regimes de irrigação RI2, RI4 ou RI6 em relação ao RI1 (Figura 6 C), nas condições sob estresse e sob recuperação, percebe-se que a taxa de assimilação líquida não foi alterada no RI2, mas reduziu em torno de 25% no RI4 e 40% no RI6, contudo sob recuperação os valores de *A* foram superiores nos regimes RI2, RI4 e RI6, comparativamente ao RI1. É provável que a irrigação diária de forma a manter 60% da capacidade de retenção de água pelo substrato não seja uma situação adequada para o crescimento do eucalipto. Depreende-se ainda, que para a taxa de assimilação líquida, 48 h após a irrigação foi suficiente para a recuperação dos cinco híbridos, a considerar o nível de estresse imposto pelos tratamentos.

Em trabalho comparando diferentes clones de *Eucalyptus*, verificou-se que o melhor desempenho das características fisiológicas foi observado no regime de irrigação diário e o pior no regime de irrigação a cada seis dias. Sob condições não limitantes de água os estômatos se mantiveram abertos, as plantas transpiraram livremente e assimilaram mais carbono resultando em maior crescimento e acúmulo de biomassa (VELLINI et al., 2008). Esses resultados estão de acordo com FLEXAS et al. (2002) que afirmam que a baixa disponibilidade hídrica limita o crescimento e a produção.

Condutância estomática (gs)

Os híbridos diferiram quanto a condutância estomática (*gs*) ao final do intervalo sem irrigação (Tabela 4), mas não após a irrigação (Tabela 5). Ao final do intervalo sem irrigação, o híbrido H3 apresentou maior *gs* que o H5, não havendo diferenças entre os demais híbridos. Também, à medida que se aumentou o intervalo de irrigação foram observados menores valores de *gs*, em que os regimes RI1 e RI2 proporcionaram valores semelhantes, porém superiores ao RI4 e este, por sua vez, superior ao RI6 (Tabela 4). Após a irrigação, houve recuperação parcial nos valores de *gs*, em que nos

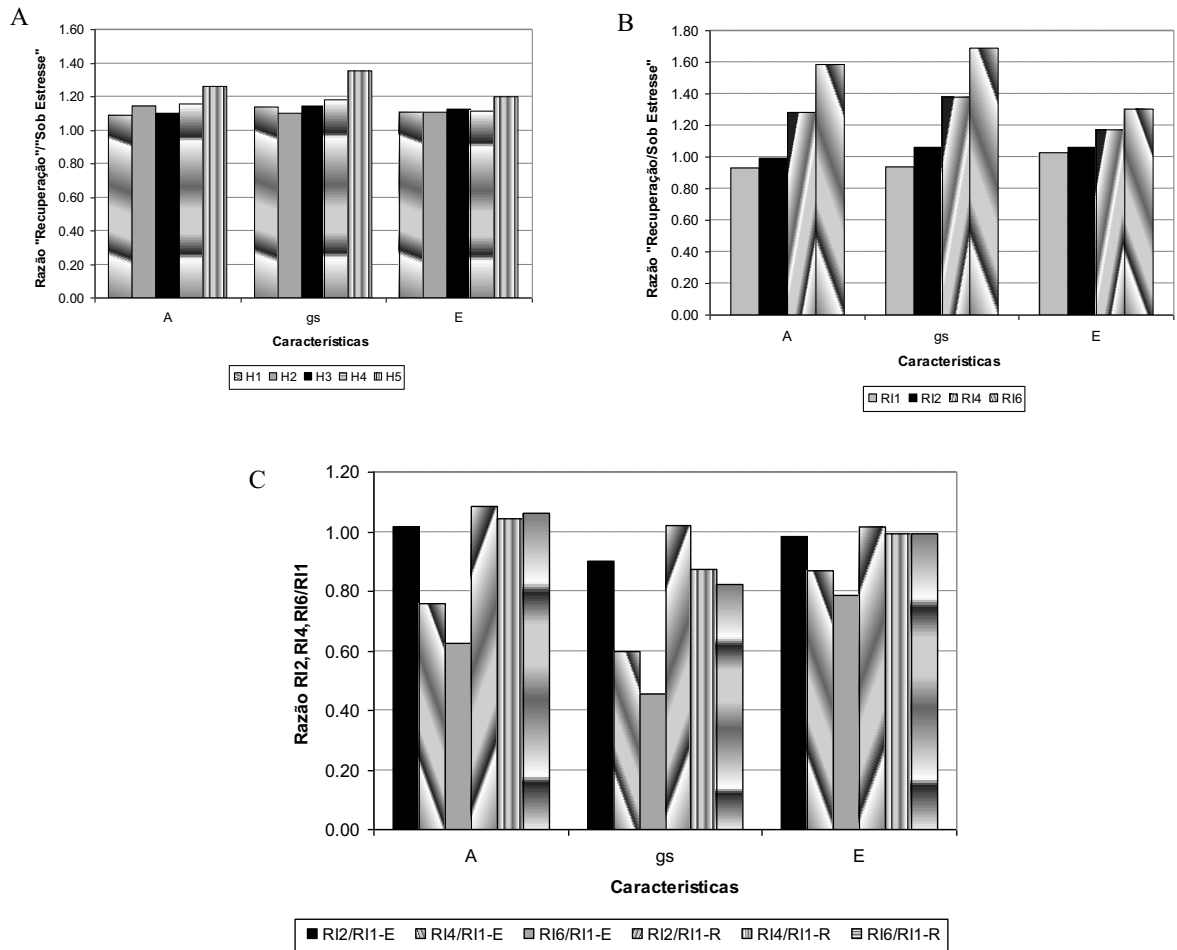


Figura 6. Razão "Recuperação/Sob Estresse" entre a taxa de assimilação líquida (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E), em plantas de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidas a quatro regimes de irrigação. A - relação entre as situações "Recuperação/Sob Estresse", considerando os cinco híbridos; B - relação entre as situações "Recuperação/Sob Estresse", considerando os quatro regimes e C - razão entre os regimes de irrigação RI2, RI4 e RI6 em relação ao RI1 na condição sob estresse (E) e recuperação (R).

regimes RI4 e RI6 foram observados valores inferiores aos do RI1 e RI2, embora com um acréscimo de 38% no RI4 e de 69% no RI6, contra apenas 6% no RI2 e uma redução de 7% no RI1 (Figura 6 B). Não se esperava diferenças nos valores do RI1 e do RI2, antes e após a irrigação, posto que nesse regime as plantas dos cinco híbridos eram irrigadas diariamente ou a cada dois dias, respectivamente, e a avaliação sob recuperação ocorreu 48 h após a irrigação de todos os tratamentos. Assim, pequenas alterações nos valores das características avaliadas no RI1 e no RI2 devem-se mais às condições climáticas, principalmente de temperatura e de umidade relativa, nos dias de avaliação do que ao regime de irrigação.

A *gs* foi mais sensível à supressão da irrigação do que as demais características, com redução mais acentuada nos regimes de irrigação mais espaçados (Figuras 6. B e C). Isto pode ser evidenciado, também, pelo valor do coeficiente de variação experimental, próximo a 20% ao final do intervalo sem irrigação e de 15% após a irrigação. Esses valores são aproximadamente o dobro daqueles observados para a taxa de assimilação líquida (*A*) e cerca de três vezes para a taxa de transpiração (*E*) e concentração interna de CO₂ (*C_i*), portanto evidenciam maior heterogeneidade nos resultados.

Pela razão “recuperação/estresse” percebe-se que o H5 foi o mais responsivo a irrigação com aumento nos valores de *gs* na ordem de 35%; o H2 apresentou a menor taxa de recuperação (Figura 6 A). Pela razão entre os valores de *gs* em relação ao regime de irrigação RI1 (Figura 6 C) nota-se uma redução de aproximadamente 10%, 40% e 55%, respectivamente, no RI2, RI4 e RI6, sob estresse, porém a recuperação nesta característica não foi tão rápida quanto à verificada na taxa de assimilação líquida. No RI4 e no RI6, a recuperação foi de 87% e de 82%, em relação ao RI1. Assim, da mesma forma que o fechamento estomático é uma das primeiras estratégias da planta à deficiência hídrica, reduzindo, por conseguinte, os valores de *gs*, também esta característica demandou mais tempo para sua completa recuperação, neste experimento.

Além das diferenças apresentadas entre híbridos e entre regimes de irrigação, pode-se observar boa recuperação dos híbridos nos regimes de menor disponibilidade

de água após a irrigação. De modo geral, a recuperação foi maior para a taxa de assimilação líquida (A) e condutância estomática (g_s) do que para a transpiração (E). KIRSCHBAUM (1987) observou, em *Eucalyptus pauciflora*, a recuperação do potencial hídrico foliar em 7 h e em fotossíntese um dia após a irrigação. Essa recuperação das trocas gasosas logo após a irrigação é indicativo de tolerância ao estresse. A taxa de fotossíntese, condutância estomática e a transpiração aumentaram nas plantas de todos os híbridos após a irrigação, concordando com os resultados obtidos em *Euterpe oleraceae* (açai) (CALBO & MORAES, 2000), *Bactris gasipaes* (pupunheira) (OLIVEIRA et al., 2002) e *Myracrodruon urundeuva* (aroeira-do-sertão) (QUEIROZ et al., 2002).

Os valores de condutância estomática foram decrescentes com a redução da disponibilidade de água. O fechamento estomático é uma das estratégias de defesa contra a seca, assim como a redução da área foliar e o aprofundamento do sistema radicular (TAIZ & ZEIGER, 2004). Estômatos devem funcionar para maximizar a assimilação enquanto diminui o dano de desidratação (PITA et al., 2005). CHAVES et al. (2002) salientam que em muitos experimentos tem sido observado que respostas estomáticas são mais estreitamente relacionadas ao conteúdo de água no solo do que ao *status* hídrico da planta, sugerindo que estômatos respondam a sinais químicos (por exemplo o ácido abscísico) produzidos pela desidratação da raiz enquanto o *status* hídrico da folha se mantém constante. No entanto, falta uma compreensão clara de como os sinais de estresse hídrico, percebidos na raiz e locais das folhas, são integrados para o controle da condutância estomática e como eles diferem entre as plantas com tolerância à seca de estratégias diferentes (PITA et al., 2005).

A forte relação entre condutância estomática e vários parâmetros fotossintéticos levaram FLEXAS & MEDRANO (2002) a sugerirem o uso de condutância estomática como um parâmetro de referência para avaliar o grau de estresse hídrico. Além disso, a condutância estomática pode ser uma ferramenta útil no melhoramento genético para seleção para maior produtividade em ambientes propensos à seca, porque a condutância estomática fornece 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).

Essas mudanças na condutância estomática são de grande importância, pois genótipos que apresentam este controle quando submetidos a situações de falta de água podem tolerar ou resistir períodos variáveis de deficiência hídrica no solo (CHAVES, 1991).

O estresse hídrico também promoveu redução nos valores de assimilação líquida, condutância estomática e transpiração além da diferença de comportamento entre diferentes clones de eucaliptos (TATAGIBA et al., 2007a). Diferentes populações de *Eucalyptus microtheca* empregaram diferentes estratégias de sobrevivência (menor produção de biomassa e acumulação de ácido abscísico) sob estresse hídrico. Essas diferenças morfológicas e fisiológicas poderão ser empregadas no melhoramento, como critério para seleção de genótipos para regiões áridas e semi-áridas (LI & WANG, 2003). Mecanismos de resistência à seca avaliados com base em respostas fisiológicas e morfológicas, com ênfase no crescimento de raízes e propriedades hidráulicas, em dois clones de *Eucalyptus globulus*, mostraram que o clone mais tolerante apresentou maior crescimento de raízes e maior condutância hidráulica além de um crescimento menor das plantas com redução da área foliar (COSTA E SILVA et al., 2004).

Transpiração (E)

A taxa de transpiração (E) diferiu ($p \leq 0,01$) entre os regimes de irrigação, mas não entre os híbridos ao final do intervalo de suspensão de irrigação (Tabela 4). O regime de irrigação menos freqüente (RI6) proporcionou o menor valor de E , seguido pelo RI4. Os regimes RI1 e RI2 proporcionaram maiores valores de E , sem diferenças entre os mesmos.

Segundo TONELLO & FILHO (2007) a taxa de transpiração, à semelhança das outras características analisadas, também foi afetada pela baixa disponibilidade hídrica, o que comprova que a limitação na disponibilidade hídrica afeta todas as características relacionadas à fotossíntese. Entretanto, na ausência de um suprimento adequado de água, a transpiração excessiva gera uma deficiência hídrica nas folhas, estimulando o fechamento dos estômatos e reduzindo a transpiração. SILVA et al. (2005) estudando plantas de *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá) obtiveram valores de redução para a taxa de

transpiração em torno de 78% para as plantas estressadas; já para plantas de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril) essa redução foi de 42%. No presente trabalho houve uma redução de 15% a 21% (Figura 6 C) nos regimes de menor disponibilidade de água (RI4 e RI6, respectivamente).

Após a irrigação houve diferenças ($p \leq 0,05$) entre híbridos, mas não entre os regimes de irrigação quanto à taxa de transpiração (Tabela 5). Nesta situação o híbrido H5 superou o H2. Houve total recuperação na taxa de transpiração entre os regimes de irrigação, mesmo naqueles em que ao final do intervalo de suspensão da irrigação foram observados os valores mais baixos de E .

Quanto a razão recuperação/estressado, a taxa de transpiração apresentou comportamento intermediário entre a condutância estomática e a taxa de assimilação líquida, porém mais próximo a assimilação, e com recuperação total após a irrigação (Figura 6 A, B e C).

Pelos valores observados de E , A e g_s , ao final do intervalo de suspensão de irrigação, depreende-se que os regimes de irrigação impostos foram eficientes em promover alterações no metabolismo das plantas, com redução nos valores dessas características à medida que aumentou o intervalo de irrigação. A Figura 7 mostra plantas com murchamento e lesões em forma de “V” invertido que é um sintoma característico do déficit hídrico no gênero *Eucalyptus*.

Concentração interna de CO₂ (Ci)

Para a concentração interna de CO₂ (C_i) não houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre híbridos ou entre os regimes ao final do período dos regimes de irrigação (Tabela 4), mas após a irrigação, diferenças significativas foram observadas entre híbridos e entre regimes (Tabela 5). Na recuperação, o H5 apresentou maior C_i que o H2. Também na recuperação o RI1 proporcionou os maiores valores para C_i , diferindo dos demais regimes (Tabela 5).

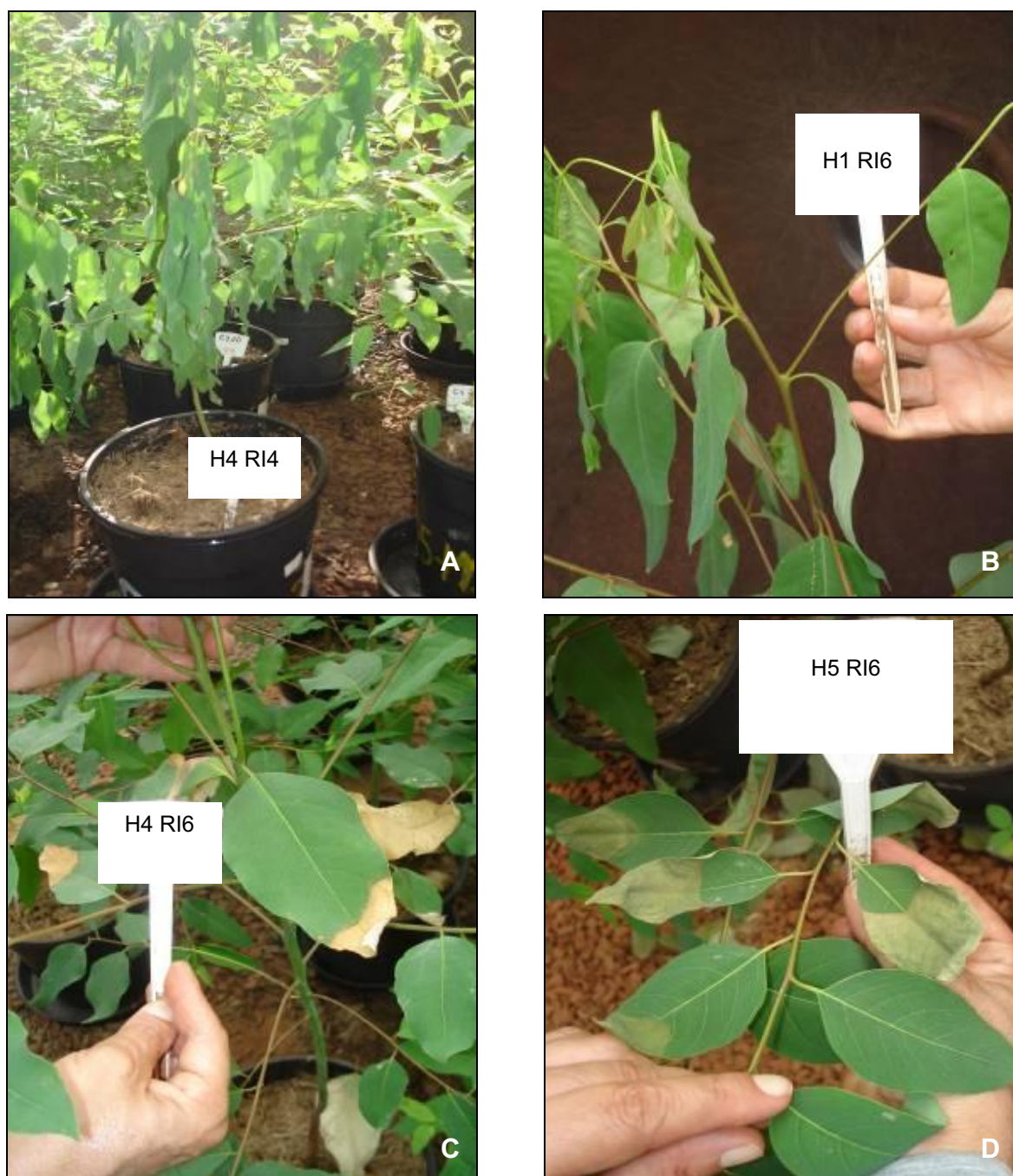


Figura 7. Plantas com sintomas de murcha devido ao déficit hídrico (A; B). Lesões foliares provocadas pelo estresse hídrico (C). Lesão foliar em forma de “V” invertido (D).

Os valores de C_i mostraram-se levemente superiores durante o estresse hídrico tanto nos híbridos como nos regimes de irrigação menos freqüente (Tabelas 4 e 5), embora, as diferenças encontradas nos valores de C_i sejam muito próximas nas duas situações. Maiores valores de C_i , antes da irrigação, podem ser devidos ao ajustamento do grau de abertura dos estômatos, em condições de estresse, pois as plantas tendem a diminuir a abertura estomática para amenizar perdas de água por transpiração, retendo mais CO_2 nas folhas (LARCHER, 2003). O leve aumento de C_i durante o estresse também pode estar relacionado à queda na atividade de enzimas (ribulose 1-5 bifosfato carboxilase oxigenase) envolvidas no processo de fixação de CO_2 (FLEXAS & MEDRANO, 2002). Na recuperação, os menores valores de C_i podem estar relacionados à retomada dos processos fotossintéticos.

Potencial hídrico foliar (Ψ_f) e conteúdo relativo de água (CRA)

Houve diferenças ($p \leq 0,01$) entre os híbridos e entre os regimes de irrigação quanto ao potencial hídrico foliar (Ψ_f) e ao conteúdo relativo de água nas folhas (CRA); para o CRA a interação híbridos x regimes de irrigação também foi significativa ($p \leq 0,01$) (Tabela 6).

Observou-se que os regimes de irrigação RI1 e RI2 não diferiram entre si e proporcionaram maiores Ψ_f que os regimes RI4 e RI6. O H5 foi o híbrido que apresentou o menor Ψ_f , entre os híbridos, apresentando também a menor taxa de assimilação líquida e condutância estomática. Esse híbrido também apresentou o menor valor para a taxa de transpiração, embora sem diferenças entre os demais híbridos, quando em estresse; em recuperação mostrou-se diferente do H2. De forma geral, as plantas com os menores potenciais hídricos também apresentaram menores taxas de transpiração. Este comportamento indica que conforme a planta encontra maiores restrições de água no solo, ou seja, água disponível para suas necessidades fisiológicas, ela também exercerá restrição na abertura dos estômatos para liberação de água para a atmosfera (TONELLO & FILHO, 2007).

Tabela 6. Valores de "F" para as características potencial hídrico foliar (Ψ_f , em MPa), conteúdo relativo de água (CRA, em %), eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) e índice de conteúdo de clorofila (ICC) de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidos a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada dois dias; RI4 - a cada quatro dias; RI6 - a cada seis dias). Dados médios de ciclos de avaliação de estresse (n = 2 ciclos para Ψ_f , n = 3 ciclos para CRA, n = 7 ciclos para Fv/Fm e ICC).

Fontes de Variação	Características			
	Ψ_f	CRA	Fv/Fm	ICC
Híbridos (H)	7,78**	8,82**	4,70**	24,64**
Regimes de Irrigação (RI)	37,70**	26,96**	0,13 ^{ns}	26,65**
H x RI	1,30 ^{ns}	2,50**	1,22 ^{ns}	2,48**
Média	27,66	2,49	1,37	11,03
CV(%)	-0,83	90,83	0,819	13,29
Híbridos		Médias de Híbridos		
H1	-0,75 A	91,8 A	0,820 AB	11,78 C
H2	-0,80 A	91,0 A	0,818 AB	13,75 B
H3	-0,76 A	91,2 A	0,827 A	12,70 BC
H4	-0,76 A	91,2 A	0,819 AB	15,90 A
H5	-1,09 B	88,2 B	0,812 B	12,33 C
Regimes de Irrigação		Médias de Regimes de Irrigação		
RI1	-0,54 a	92,9 a	0,819	11,80 c
RI2	-0,64 a	92,8 a	0,820	12,58 bc
RI4	-1,06 b	89,3 b	0,820	13,44 b
RI6	-1,10 b	88,4 b	0,818	15,32 a

^{ns} - não significativo pelo teste F ($p > 0,05$); * e ** significativos pelo teste F ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$), respectivamente. Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula para híbridos e minúscula para regimes de irrigação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Como pode ser observado na Tabela 7 o CRA foi superior a 90% nos regimes de irrigação RI1 e RI2, não diferindo entre os híbridos. No RI4 e no RI6, o híbrido H5 apresentou CRA de 83,5% e 84,5%, respectivamente, valores esses inferiores aos observados para os demais híbridos. Os híbridos H1 e H2 apresentaram pequenas alterações, não significativas estatisticamente, no CRA nos quatro regimes de irrigação; os híbridos H3 e H4 apresentaram redução significativa no CRA apenas no RI6 e o híbrido H5 apresentou redução significativa no CRA no RI4 e no RI6, comparativamente aos RI1 e RI2. Este híbrido (H5) também apresentou os menores valores para A e gs, mostrando assim sua sensibilidade ao estresse hídrico com algum possível dano no seu aparato fotossintético.

Mesmo com redução do *CRA* no RI6, os valores observados para essa característica não comprometeram seriamente o metabolismo das plantas, como pode ser constatado pela maioria das características fisiológicas. Em geral, considera-se que valores de *CRA* inferiores a 75% já promovam nas plantas limitações nas suas atividades fisiológicas (SMIT & SINGELS, 2006). Deve-se considerar, contudo que essa característica foi avaliada em apenas três ciclos de estresse.

Tabela 7. Conteúdo relativo de água (*CRA*) e índice de conteúdo de clorofila total (*ICC*) em plantas de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidas a quatro regimes de irrigação (RI1 - diário; RI2 - a cada dois dias; RI4 - a cada quatro dias; RI6 - a cada seis dias). Dados médios de ciclos de avaliação de estresse (n = 3 ciclos para *CRA* e n = 7 ciclos para *ICC*).

Híbridos\Regimes de irrigação	<i>CRA</i>			
	RI1	RI2	RI4	RI6
H1	92,6 Aa	92,9 Aa	91,8 Aa	89,9 Aa
H2	92,9 Aa	93,2 Aa	91,1 Aa	90,0 Aa
H3	93,5 Aa	92,7 Aa	89,9 ABa	88,5 Ba
H4	92,5 ABa	93,1 Aa	90,1 ABa	88,9 Ba
H5	93,3 Aa	91,6 Aa	83,5 Bb	84,5 Bb
	<i>ICC</i>			
H1	10,76 Ab	12,26 Aab	11,48 Ab	12,62 Ac
H2	12,34 Bab	13,40 ABa	14,92 Aa	14,32 ABc
H3	11,96 Bab	12,06 Bab	12,10 Bb	14,96 Abc
H4	13,96 Ca	14,52 BCa	16,44 ABa	18,68 Aa
H5	10,30 Bb	10,68 Bb	12,28 Bb	16,04 Ab

Médias seguidas por uma mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

FREITAS et al. (2007) concluíram que o conteúdo relativo de água em *Euterpe edulis* Mart. (açai) diminuiu nas plantas sob estresse hídrico devido à baixa quantidade de água no solo e através da transpiração algumas plantas estressadas perderam água para a atmosfera, tornando-se murchas.

Eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) e índice de conteúdo de clorofila (ICC)

Para a eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_v/F_m) houve diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre os híbridos e para o índice de conteúdo de clorofila (ICC), houve efeito significativo de híbridos, regimes de irrigação e da interação entre ambos (Tabela 6).

As diferenças entre híbridos foram relativamente pequenas para F_v/F_m , com o híbrido H3 superando o H5, indicando apenas a variabilidade entre os mesmos, mas não danos no fotossistema II. Não houve diferenças nos valores de F_v/F_m nos diferentes regimes de irrigação, o que diverge dos resultados encontrados por LIMA et al. (2003) que observaram decréscimo nos valores dessa característica em plantas de eucalipto submetidas ao déficit hídrico. Quando uma planta está com seu aparelho fotossintético intacto, a razão F_v/F_m deve variar entre 0,75 e 0,85 (BOLHAR-NORDENKAMPF et al., 1989), enquanto queda nesta razão reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (BJÖRKMAN & DEMMING, 1987). Depreende-se, com isso, que a deficiência hídrica imposta pelos regimes não promoveu efeitos deletérios ao fotossistema II (PSII). O ambiente de casa de vegetação pode ter amenizado as plantas da radiação solar direta. A casa de vegetação era revestida por um filme de plástico na parte superior e nas laterais por telas que interceptam a luz solar explicando, assim, os resultados obtidos.

Segundo os autores abaixo relacionados a emissão de fluorescência da clorofila *a* de dois clones de *Eucalyptus*, em duas épocas (seca e chuvosa), também não foi afetada pelo estresse imposto. A deficiência hídrica no solo, durante a época seca, não foi suficiente para provocar dano ao aparato fotoquímico do PSII, mostrando a capacidade de tolerância dos dois clones sobre as condições ambientais adversas (TATAGIBA & PEZZOPANE, 2007).

De uma forma geral, o ICC foi menor nos regimes de irrigação mais freqüentes, independentemente do híbrido. O híbrido H5 esteve sempre entre os híbridos de menor ICC, exceto no RI6, por outro lado o H4 e H2 estiverem entre os de maior ICC, exceto o

H2 no RI6 (Tabela 7). O híbrido H1 apresentou valores não significativos perante todos os regimes. Maiores valores de ICC tem sido relatados em tratamentos com menor frequência de irrigação, provavelmente pelo menor crescimento e, conseqüentemente, pela maior concentração de N nas plantas nestas condições. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por VELLINI et al. (2008), estudando 18 clones de eucaliptos submetidos a quatro regimes de irrigação. Em geral, menores valores de ICC foram verificados no RI1, o que pode ser atribuído a um possível efeito de diluição de nutrientes, principalmente o nitrogênio, pois, como foi verificado, este regime foi considerado excessivo ao desenvolvimento dos cinco híbridos.

4.3. Características Bioquímicas

Prolina livre

Os teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca) apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre híbridos, entre os regimes de irrigação e na interação híbridos x regime de irrigação (H x RI), mas as maiores variações nos teores de prolina se devem aos diferentes regimes hídricos e não aos diferentes híbridos (Tabela 8).

O híbrido H1 apresentou maiores teores de prolina livre no RI6 e RI4 e os menores valores nos regimes de irrigação RI1 e RI2. Os híbridos H2, H3 e H4 apresentaram comportamento semelhante diante dos regimes hídricos impostos. O H5 apresentou alto teor de prolina livre no RI6 e valores menores e semelhantes nos demais regimes (Tabela 9). Nos regimes de irrigação RI1, RI2 e RI4 os híbridos não diferiram quanto aos teores de prolina, mas no RI6, o híbrido H5 apresentou os maiores teores de prolina livre, diferindo dos demais híbridos. Assim, esta interação foi significativa, provavelmente, devido ao comportamento diferenciado deste híbrido, neste regime.

Dados semelhantes foram obtidos por MERCHANT et al. (2007) trabalhando com 6 espécies de *Eucalyptus* sob déficit hídrico. Neste trabalho o ajuste osmótico, através

do acúmulo de solutos na célula, foi resposta comum provando ser a explicação fisiológica de tolerância à seca e, assim, mostra a necessidade de se identificar osmólitos que se acumulam sob estresse no gênero *Eucalyptus*. De acordo com SHVALEVA et al. (2005), comparando dois clones de *Eucalyptus globulus*, submetidos ao estresse hídrico, foi constatado decréscimo não só no crescimento como, também, no potencial osmótico em raízes e folhas através do ajuste osmótico (aumento na concentração de açúcares solúveis e de prolina), à medida que o estresse tornou-se mais severo.

Tabela 8. Valores de “F” para os teores de prolina livre nas folhas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca) e de glicina betaína ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa seca) de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*, ao final do 3º ciclo de avaliação sob diferentes regimes de irrigação (RI1 – diário, RI2 – a cada 2 dias, RI4 – a cada 4 dias e RI6 - a cada 6 dias).

Fontes de variação	Características	
	Prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)	Glicina Betaína ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)
Híbrido (H)	6,79**	2,52 ^{ns}
Regime hídrico (RI)	25,26**	5,15**
H x RI	4,19**	3,41**
Média	26,98	10,63
CV (%)	27,47	10,14
<hr/>		
Híbridos	Médias de híbridos	
H1	25,13bc	10,84ab
H2	28,92ab	10,12b
H3	19,77c	10,61ab
H4	28,45ab	10,35ab
H5	32,63a	11,21a
<hr/>		
Regimes hídricos	Médias de Regimes hídricos	
RI1	20,29c	10,55ab
RI2	20,66c	9,94b
RI4	29,08b	10,77ab
RI6	37,89a	11,25a

^{ns}: não significativo ($p > 0,05$); *: significativo ($p \leq 0,05$); **:significativo ($p \leq 0,01$);

^{1,2}: médias seguidas por uma mesma letra, minúscula para híbridos e maiúscula para regimes de irrigação, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

Em cana-de-açúcar foi constatado aumento de 151,3% no teor de prolina com o aumento da deficiência hídrica no solo (BIDOIA et al., 2006). Existem relatos que

consideram a prolina como o principal soluto compatível em plantas sob condições de deficiência hídrica (ASHRAF & FOOLAD, 2007). No ajuste osmótico de folhas com baixo potencial hídrico, a prolina se acumula como soluto compatível para estabilizar membranas e manter a conformação de proteínas, o que impede a desidratação do citosol (KISHOR et al., 2005).

Tabela 9. Teores foliares de prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca) e de glicina betaína ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa seca) de cinco híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* submetidos a quatro regimes de irrigação (RI1 - diária; RI2 - a cada 2 dias; RI4 - a cada 4 dias e RI6 - irrigação a cada 6 dias), ao final do 3º ciclo de avaliações.

<i>Prolina livre ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)</i>				
Híbridos	RI1	RI2	RI4	RI6
H1	17,64Ba	17,15Ba	30,53ABa	35,21Ab
H2	25,99Aa	24,21Aa	29,99Aa	35,47Ab
H3	17,29Aa	16,73Aa	21,00Aa	24,08Ab
H4	24,21Aa	22,76Aa	34,53Aa	32,28Ab
H5	16,34Ba	22,43Ba	29,33Ba	62,43Aa
<i>Glicina Betaína ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca)</i>				
H1	9,25Bb	10,21Ba	11,09ABa	12,83Aa
H2	10,74Aab	9,31Aa	10,96Aa	9,47Ab
H3	10,68ABb	8,81Ba	10,96Aa	12,00Aa
H4	9,93Ab	10,61Aa	10,04Aa	10,81Aab
H5	12,18Aa	10,74Aa	10,77Aa	11,17Aab

*: médias seguidas por uma mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste Tukey.

Segundo BRITO et al. (2008) a função da prolina na resposta ao estresse hídrico é questionada. Em plantas superiores, o acúmulo de prolina pode estar relacionado à síntese “de novo” e à diminuição de seu catabolismo. Porém, a baixa utilização de prolina durante o estresse, em consequência da redução na síntese protéica e do aumento na proteólise, também pode contribuir para seu acúmulo. Esses autores enfatizam que toda a controvérsia em torno da função da prolina pode refletir a

predominância de sua ação em outros mecanismos de resistência que não o ajuste osmótico.

Vários trabalhos têm indicado que a prolina também pode ser um indicador da severidade do estresse, ao invés de estar associada a um mecanismo protetor (VERBRUGGEN & HERMANS, 2008). Deste modo, o acúmulo desse aminoácido só seria promovido caso a desidratação celular ultrapasse um limiar de dano à célula, sendo seu acúmulo mais notório em genótipos mais sensíveis. Neste caso, o acúmulo de prolina no híbrido mais sensível ao estresse hídrico evidenciaria que o acúmulo desse soluto não esteve associado à maior tolerância à seca e sim como consequência do estresse hídrico severo, o que está de acordo com SERRAJ & SINCLAIR (2002).

De acordo com SILVA et al. (2010) os teores de prolina em folhas de café Conilon, sob estresse hídrico severo, também aumentaram, particularmente nos tratamentos envolvendo o clone sensível ao déficit hídrico. Desta maneira, o ajuste osmótico potencial verificado no clone sensível ao déficit hídrico não foi um mecanismo efetivo de tolerância à seca, mas provavelmente um componente de um mecanismo de adaptação ao estresse hídrico.

Isto parece explicar os resultados obtidos neste trabalho em que o híbrido H5, considerado o mais sensível a partir das outras características aqui avaliadas, também apresentou os maiores teores de prolina, na condição de menor disponibilidade hídrica. Entretanto, isso não excluiria a possibilidade de que, em outros genótipos, o aumento no teor de prolina possa contribuir para tolerância à seca (SILVA et al., 2010). Desta maneira estudos visando à verificação da prolina livre, como molécula sinalizadora que induz a expressão de genes ligados à tolerância ao déficit de água no solo, seriam interessantes.

Glicina Betaína

Os teores de glicina betaína nas folhas ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa seca) apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,01$) entre os diferentes regimes de irrigação e na

interação híbrido x regime de irrigação, mas não entre ($p > 0,05$) os diferentes híbridos (Tabela 8).

No regime de irrigação RI1 o híbrido H5 apresentou os maiores teores de glicina betaína. H1 e H4 os menores valores e os híbridos H2 e H3, valores intermediários. No RI2 e RI4 todos os híbridos apresentaram comportamento semelhante. No RI6, os híbridos H1 e H3 apresentaram os maiores teores de glicina betaína e o H2, o menor. Avaliando cada híbrido, dentro dos regimes de irrigação, verificou-se que o H1 apresentou os maiores teores de glicina betaína no RI6 sem diferenças estatísticas nos demais regimes de irrigação. Os híbridos H2, H4 e H5 apresentaram comportamento semelhante nos diferentes regimes hídricos. O híbrido H3 apresentou maiores valores de glicina betaína nos regimes RI6 e RI4, comparativamente ao RI2 (Tabela 9).

Durante a desidratação, o acúmulo de solutos compatíveis como prolina, glicina betaína, entre outros compostos, tem importante papel na osmoproteção (VALLIYODAN & NGUYEN, 2006). Em plantas jovens de cana-de-açúcar foi verificado que o acúmulo de glicina betaína contribuiu para o ajuste osmótico sob o efeito interativo do estresse ácido em solos com baixo potencial hídrico. Já o acúmulo de prolina foi mais relacionado com a quantidade de água disponível no solo do que com a presença da acidez (CARLIN & SANTOS, 2009).

A glicina betaína é acumulada em várias espécies sob condições de estresse, principalmente o estresse salino e a seca. Acúmulo de glicina betaína tem sido registrado em beterraba, espinafre, ervilha, trigo e sorgo e nessas espécies tem sido mostrado que os genótipos mais tolerantes acumulam maiores teores de glicina (YANG et al., 2003). Por outro lado, a relação entre tolerância a estresse e acúmulo de glicina betaína nem sempre é existente e há espécies que não produzem esse composto, como é o caso do arroz e do tabaco; porém, plantas transgênicas dessas espécies que expressem os genes responsáveis pela síntese de glicina betaína passam a exibir maior tolerância à seca que as linhagens selvagens não transformadas (RHODES & HANSON, 1993).

As diferenças no acúmulo de glicina betaína foram pequenas e, a princípio, não podem ser relacionadas nem à tolerância dos híbridos e nem à severidade dos regimes

de irrigação impostos. Os híbridos, de forma geral, apresentaram comportamento semelhante diante dos regimes impostos, assim como as variações entre os regimes de irrigação não apresentaram tendência definida. Assim, há necessidade de mais estudos para explicar e identificar solutos compatíveis que possam se acumular sob estresse no gênero *Eucalyptus*.

4.4. Associação entre as Características

O estresse ocasionado pela deficiência hídrica é sentido em toda a planta, desde os pêlos radiculares até os estômatos sendo, portanto, complexo e podendo envolver vários mecanismos para aclimatação à seca, que são variáveis com a espécie e com a intensidade e duração do estresse. Dentre as principais modificações estão alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas como a redução da área foliar, crescimento do sistema radicular, fechamento dos estômatos e acúmulo de substâncias protetoras, durante a aclimatação da planta à seca (LOPEZ et al., 2008).

Com relação às características de crescimento avaliadas, o híbrido H3 superou os demais quanto aos valores de incremento relativo em altura, área foliar, massa seca de folhas, caule, raízes e total, sob o regime de menor disponibilidade hídrica, podendo-se, assim, inferir a ele maior tolerância ao déficit hídrico. Por outro lado, o híbrido H5 apresentou-se entre os híbridos com os menores valores nas características de crescimento, portanto, de maior sensibilidade ao estresse imposto. Contudo, o H5 apresentou, em resposta ao déficit hídrico, maior crescimento do sistema radicular e maior taxa de recuperação, após a irrigação de todos os tratamentos, podendo, deste modo, ser considerado um material interessante para trabalhos futuros de melhoramento.

As respostas fisiológicas e bioquímicas variam de acordo com o genótipo, mas de modo geral as modificações referentes à deficiência hídrica incluem um menor potencial hídrico no solo e nas folhas (LIBERATO et al., 2006), aumento da síntese de osmoprotetores, como prolina e açúcares (MCCORMICK et al., 2008), diminuição da eficiência quântica do fotossistema II (SILVA et al., 2007), redução do teor relativo de

água na folha (LOBATO et al., 2008) e decréscimo da condutância estomática e taxa fotossintética (POLIZEL, 2007).

Muitas plantas podem se aclimatar a um estresse moderado de falta de água através de ajustamento osmótico, o que possibilita a manutenção da turgescência celular e, conseqüentemente, o crescimento em baixos potenciais de água nas folhas (ARRIEL, 2004). Este ajuste osmótico, além de se apresentar como resposta comum ao déficit hídrico, pode estar relacionado ao grau de tolerância à seca, mas também poderá ser conseqüência da intensidade e duração do estresse hídrico. Há considerável variação interespecífica no gênero *Eucalyptus* na capacidade de regular o potencial osmótico (MERCHANT et al., 2007).

O híbrido H5 apresentou alto teor de prolina nas folhas sob menor disponibilidade hídrica, superando os demais híbridos. Nesta condição os outros híbridos também apresentaram elevados valores de prolina, embora sem diferença entre os demais regimes, com exceção do H1. Os teores de prolina livre obtidos neste trabalho parecem, assim, serem indicadores da severidade do estresse, pois mostrou maior acúmulo no híbrido mais sensível, e não à tolerância dos híbridos à seca. Este fato vem ao encontro de alguns trabalhos em que se verifica a associação marcante deste osmólito como indicador da severidade do estresse hídrico. Em muitos trabalhos encontrados na literatura é também marcante a associação desse osmólito na caracterização de genótipos tolerantes à seca, o que não foi o caso do presente trabalho, pois sua presença não foi marcante no híbrido H3, considerado tolerante, sob outros aspectos.

O mesmo não ocorreu para os valores de glicina betaína, em que os teores de glicina betaína não apresentaram variação definida, nem em relação aos híbridos, nem em relação aos regimes de irrigação, nas condições desse trabalho. Assim, as pequenas diferenças encontradas para o acúmulo deste osmólito, não podem ser atribuídas como indicadores de estresse hídrico, nem da tolerância dos híbridos, neste trabalho. De fato, muitos autores têm indicado que a glicina betaína está mais associada ao estresse salino do que ao estresse hídrico. Surge, então, a importância de se identificar osmólitos que possam se acumular em resposta ao déficit hídrico

verificando-se, assim, se este acúmulo ocorre em função da tolerância ou em resposta ao estresse imposto.

A identificação e a compreensão dos mecanismos de resistência à seca são, assim, fundamentais no desenvolvimento de novos cultivares comerciais mais resistentes ao estresse hídrico (NEPOMUCENO et al., 2001). Estudos como este, aqui apresentado, mostram-se promissores não só para o estudo da variabilidade genética, mas também para o complexo entendimento do mecanismo de adaptação das plantas ao déficit hídrico, merecendo estudos mais detalhados e direcionados a cada espécie.

5. CONCLUSÕES

As características biométricas e fisiológicas apresentaram menores valores com a redução da disponibilidade hídrica, independentemente dos híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*.

As alterações na área foliar, na massa de matéria seca de caule e na condutância estomática são boas sinalizadoras de estresse hídrico.

O acúmulo de prolina nas folhas, com a redução da disponibilidade hídrica, está associado ao estresse hídrico imposto e não à tolerância dos híbridos à seca.

Os teores de glicina betaína não foram associados nem à tolerância dos híbridos e nem às condições de disponibilidade hídrica do solo.

O híbrido H3 é o mais tolerante e o H5 o mais sensível à redução da disponibilidade hídrica no solo.

6. REFERÊNCIAS

ABRAF. Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico da ABRAF - ano base 2009**. Brasília: 2010. p.16-33. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/estatisticas.asp>.> Acesso em: 25 mar. 2011.

AIKEN, R. M.; SMUCKER, A. J. M. Root system regulation of whole plant growth. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 325-346, 1996.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; MIELNICZVK, J.; BORTOLINI, C. G. Parâmetros de planta como indicadores de nitrogênio na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 519-527, 2002.

ARRIEL, E. F. **Divergência genética em *Cnidocolus phylacanthus* (Mart.) Pax. Et K. Hoffm.** 2004. 89 f. Tese (Doutorado em Produção vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.

ASSIS, T. F.; BAUER, J. F. S.; TAFAREL, G. Sintetização de híbridos de *Eucalyptus* por cruzamentos controlados. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 3, n. 1, p. 161-170, 1993.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **The Plant and Soil**, Hague, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BEEVER, D. Os transgênicos e o futuro da agricultura. Biotecnologia e Desenvolvimento. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Viçosa, v. 5, n. 1, p. 4-7, 2000.

BERTOLUCCI, F.; REZENDE, G.; PENCHEL, R. Produção e utilização de híbridos de eucalipto. **Silvicultura**, São Paulo, v. 51, n. 51, p. 12-16, 1995.

BIDOIA, M. A. P.; SANTOS, D. M. M.; MARIN, A.; LANDELL, M. G. A.; BANZATTO, D. A.; CAZETTA, J. O. Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de prolina livre em cana-de-açúcar, em diferentes períodos de desenvolvimento. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 6-9, 2006.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, Berlin, v. 170, n. 4, p. 61-66, 1987. Disponível em: <<http://dx.doi.org>> DOI: 10.1007/BF00402983.

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**, London, v. 3, n. 4, p. 497-514, 1989.

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry Matter Production and Yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 1037-1048, 2000.

BRACELPA. **Informes anuais**: desempenho do setor de papel e celulose. Disponível em: <<http://www.bracelpa.org.br/bra/estatisticas/pdf/booklet/>>. Acesso em: 28 abr. 2009.

BRITO, L. K. F. L.; SILVEIRA, J. A. G.; LIMA, L. L. F.; TIMOTEO, A. R. S.; CHAGAS, R. M.; MACEDO, C. E. C. Alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 6, p. 683-690, 2008.

BROOKER, M. I. H.; KLEINING, D. A. **Field guide to eucalyptus**: Northern Australia. Butterworth: Heinemann, 2000. 383 p.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. de. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 225-230, 2000.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Ed.). **Estresses ambientais**: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 95-105.

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1106-1113, 2009.

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

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

CHAVES, M. M., PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RPDRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P.; OSORIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 7, p. 907-916, 2002.

COSTA E SILVA, F.; SHVALEVA, A.; MAROCO, I. P.; ALMEIDA, M. H.; CHAVES, M. M.; PEREIRA, I. S. Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. **Tree Physiology**, Victoria, v. 24, n. 10, p. 1165-1172, 2004.

DELAUNEY, A. J.; HU, C. A. A.; KAVI KISHOR, P. B.; VERMA, D. P. S. Cloning of ornithine aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 268, n. 25 , p. 18673-18678, 1993.

DESTRO, M. V. P. **Interação estresse salino e aplicação exógena de espermidina nos teores de glicina betaína de guandu**. 2006. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; WYK, G. van. **Eucalipt domestication and breeding**. Oxford: Edilord, 1993. 288 p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: **REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONALDE BIOMETRIA**, 45, 2000, São Carlos, SP. UFSCar, São Carlos, p. 255-258, 2000.

FERREIRA, M. Escolha de espécies de eucalipto. **Circular Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 47, p. 1-30, 1993.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; OLIVEIRAS, L. E. M. de; PURCINO, A. A. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 2, p. 183-189, 2002.

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

FLYNN, R. **Eucalyptus**: progress in higher value utilization - a global review. Washington: R. Flynn & Associates and Economic Forestry Associates, 1999. 212 p.

FREITAS, J. M. N.; CARVALHO, K. S.; LOBATO, A. K. S.; CASTRO, D. S.; MAIA, P. S. P.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L. Atividade da redutase do nitrato, conteúdo relativo de água e teores de clorofilas solúveis totais em folhas de açazeiro (*Euterpe edulis* Mart.) submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 924-926, 2007.

GARCIA, C.; MORA, A. **A Cultura do eucalipto no Brasil**, São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2000. 112 p.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: F. P. Gomes, 2000. 477 p.

GONÇALVES, J. L. M.; RAIJ, B. van; GONÇALVES, J. Q. Florestas. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico/Fundação IAC, 1997. p. 247-259. (Boletim Técnico, 100).

GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, The Hague, v. 70, n. 2, p. 303-307, 1983.

GUARNASCHELLI, A. B.; LENCOFF, J. H.; PRYSTUPA, P.; BASCI, S. O. Responses to drought preconditioning in *Eucalyptus globulus* Labill. Provenances. **Trees**, Berlim, v. 17, n. 17, p. 501-509, 2003.

HIGA, A. R. **Pesquisa com eucalipto no Brasil**: evolução e contribuição. Curitiba: EMBRAPA/CNPF, 1995. 12 p.

HONG, Z.; LAKKINENI, K.; ZHANG, Z.; VERNA, D. P. S. Removal of feedback inhibition of delta-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. **Plant Physiology**, Massachusetts, v. 122, n. 4, p. 1129-1136, 2000.

HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 132-139, 2006.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p.150-157, 2007.

KIRSCHBAUM, M.U.F. Water stress in *Eucalyptus pauciflora*: comparison of effects on stomatal conductance with effects on the mesophyll capacity for photosynthesis, and investigation of a possible involvement of photoinhibition. **Planta**, Berlim, v.171, n. 4, p. 466-473, 1987.

KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; LAXMI, P. S.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Bangalore, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005

KLAR, A. E.; CATÂNEO, A.; DENADAI, I. A. M.; SAAD, J. C. C.; PICARELLI, M. Medidas da adaptação de plantas de trigo a déficits hídricos. **Científica**, São Paulo, v. 13, n. 1/2, p. 117-127, 1985.

KRAUSE, G. H.; WEISS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 313-349, 1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2004. 531 p.
LIMA, W. P.; JARVIS, P.; RHIZOPOULOU, S. Stomatal responses of *Eucalyptus* species to elevated CO₂ concentration and drought stress. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 231-238, 2003.

LI, C.; WANG, K. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. Populations. **Forest Ecology Management**, Wageningen, v. 179, n. 1-3, p. 377-385, 2003.

LIBERATO, M. A. R.; GONÇALVES, J. F. C.; CHEVREUIL, L. R.; NINA JÚNIOR, A. R.; FERNANDES, A. V.; SANTOS JÚNIOR, U. M. Leaf water potential, gas exchange and

chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minquartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 2, p. 315-323, 2006.

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

LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; COSTA, R. C. L.; SANTOS FILHO, B. G.; CRUZ, F. J. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological behavior of *Vigna unguiculata* (L) walp. under water stress during the vegetative phase. **Asian Journal of Plant Science**, Pakistan, v. 7, n. 1, p. 44-49, 2008.

LOPEZ, F. B.; CHAUHAN, Y. S.; JOHANSEN, C. Effects of timing of drought stress on leaf area development and canopy light interception of short-duration pigeonpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, California, v. 178, n. 1, p. 1-7, 2008.

MANSOUR, M. M. F. Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycine betaine and proline against NaCl stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Molineaux, v. 36, n. 10, p. 767-772, 1998.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1267-1275, 2008.

MARTINS, I. S.; MARTINS, R. C. C.; CORREA, H. S. Comparação entre seleção combinada e seleção direta em *Eucalyptus grandis*, sob diferentes intensidades de seleção. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 36-43, 2001.

MARTINS, F. B.; STRECK, N. A.; SILVA, J. C.; MORAIS, W. W.; SUSIN, F.; NAVROSKI.; VIVIAN, M. A. Deficiência hídrica no solo e seu efeito sobre transpiração, crescimento e desenvolvimento de mudas de duas espécies de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 1297-1306, 2008.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MCCORMICK, A. J.; CRAMER, M. D.; WATT, D. A. Culm sucrose accumulation promotes physiological decline of mature leaves in ripening sugarcane. **Field Crops Research**, Ontario, v. 108, n. 3, p. 250-258, 2008.

MCNEIL, S. D.; NUCCIO, M. L.; HANSON, A. D. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 120, n. 4, p. 945-949, 1999.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; MARTINEZ, C. A.; OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycine betaine accumulation in *Prosopis alba*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 39-36, 2004.

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, n. 7, p. 1507-1515, 2007.

MITRA, J. Genetics and genetic improvement of drought resistance of crop plants. **Current Science**, Bangalore, v. 80, n. 6, p. 758-763, 2001.

MOLINARI, H. B. C. **Expressão estresse-induzida do gene *P5CS* em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MORONI, M. T.; WORLEDGE, D.; BEADLE, C. L. Root distribution of *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus* in irrigated and droughted soil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, V. 177, n. 1, p. 399-407, 2003.

MOSSOR, P. T. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. **Acta Biochimica Polonica**, Waszawa, v. 48, n. 3, p. 673-686, 2001.

MUNÔZ-CLARES, R. A.; VELASCO-GARCIA, R. Genio y figura de la betaina aldehído deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, México, v. 28, p. 203-223, 2004.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.

NGUGI, M. R.; DOLEY, D.; HUNT, M. A.; DART, P.; RYAN, P. Leaf water relations of *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* in responses to water deficit. **Tree Physiology**, Victoria, v. 23, n. 5, p. 335-343, 2003.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C.; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, V. F. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n. 12, p. 1963-1969, 1998.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em

aceroleiras submetidas à déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 75-87, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Ed.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 22-31.

OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A.; HABERMANN, G.; RODRIGUES, J. D. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 59-63, 2002.

OREN, R.; SPERRY, J. S.; KATULI, G. G.; PATAKI, D. E.; EWERS, B. E.; PHILLIPS, N.; SCHAFER, K. V. R. 1999. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 1515-1526, 1999.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D.; TURCO, J. E. P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 161-169, 2005.

PAVAN, B. E. **Crescimento de clones de eucalipto submetidos a diferentes regimes hídricos em casa-de-vegetação**. 2003. 43 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

PENG, Z.; LU, Q.; VERMA, D. P. Reciprocal regulation of γ -1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after

osmotic stress in plants. **Molecular and General Genetics**, Germany, v. 253, n. 3, p. 334-341, 1996.

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*. **Investigacion Agraria: sistemas y recursos Forestalis**, Madrid, v.14, n. 3, p. 383-393, 2005.

POLIZEL, A. M. **Avaliações moleculares, morfo-anatômicas e fisiológicas de soja geneticamente modificada com a construção rd29:DREB1A de *Arabidopsis thaliana*, visando tolerância à seca**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2007.

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 Plant Physiology**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2002.

REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, M. A.; GOMES, N. A.; OLIVEIRA, C. H. R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulesis* x *Eucalyptus* spp. submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006.

RESENDE, M. D. V.; OLIVEIRA, E. B.; MELINSK, L. C.; GOULART JUNIOR, F. S.; OAIDA, G. R. P. **Seleção genética computadorizada - selegen "Best Prediction": manual do usuário**. Colombo: Embrapa Floresta, 1994. 31 p.

RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 44, p. 357-384, 1993.

RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A. D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, Gainesville, v. 4, n. 1, p. 49-56, 2002.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. Genetic engineering of glycine betaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 342, p. 81-88, 2000.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; BRADSTRET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Cambridge, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

SERRAJ, E.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 333-341, 2002.

SHVALEVA, A. L.; COSTA E SILVA, F.; BREIA, E.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J. F.; ALMEIDA, M. H.; MAROCO, J. P.; RODRIGUES, M. L.; PEREIRA, J. S.; CHAVES, M. M. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree Physiology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 239-248, 2005.

SILVA, M. R. **Caracterização morfológica, fisiológica e nutricional de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden submetidas a diferentes níveis de estresse hídrico durante a fase de rustificação.** 1998. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

SILVA, E. A.; DA MATTA, F. M.; DUCATTI, A. J.; BARROS, R. S. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arábica coffee trees. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, n. 2-3, p. 349-357, 2004.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; AZEVEDO NETO, A. D.; SANTOS, V. F. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v. 17. n. 2, p. 231-246, 2005.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; DA SILVA, J. A. G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, n. 3, p. 193-201, 2007.

SILVA, V. A.; ANTUNES, W. C.; GUIMARÃES, B. L. S.; PAIVA, R. M. C.; SILVA, V. F.; FERRÃO, M. A. G.; DaMATA, F. M.; LOUREIRO, M. E. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 5, p. 457-464, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org>> DOI: 10.1590/SO100-204X2010000500004.

SLOT, M.; POOTER, L. Diversity of tropical tree seedling responses to drought. **Biotropica**, Peña-Claros, v. 39, n. 6, p. 683-690, 2007.

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.

SODEK, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G. B (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. p. 94-113.

SOUZA, M. J. H.; RIBEIRO, A.; LEITE, H. G.; LEITE, F. P.; MINUZZI, R. B. Disponibilidade hídrica do solo e produtividade do eucalipto em três regiões da Bacia do Rio Doce. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 399-410, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAKABE, T.; NAKAMURA, T.; NOMURA, M.; HAYASHI, Y.; ISHITANI, M.; MURAMOTO Y.; TANAKA, A. Glycine betaine and the genetic engineering of salinity tolerance in plants. In: SATOH K.; MURATA N. (Ed.). **Stress responses of photosynthesis organisms**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p.115-131.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F.; REIS, E. F.; PENCHEL, R. M. Trocas gasosas e potencial da água em clones de eucalipto submetidos ao déficit hídrico. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 15, n. 3, p. 212-227, 2007a.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F.; DARDENGO, M. C. J. D.; EFFGENT, T. A. M. Comportamento Fisiológico de dois clones de *Eucalyptus* na época seca e chuvosa. **Cerne**, Lavras, v. 13, n. 2, p. 149-59, 2007b.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas em dois clones de *eucalyptus*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, Garça, v. 5, n. 10, 2007 . Disponível em: <<http://pezzopane.webnode.com.br>> Acesso em: 25 fev. 2011.

TOMASELLI, I. Processing young Eucalyptus, In: THE FUTURE OF EUCALYPTS FOR WOOD PRODUCTS, 2000, Launceston, Tasmania, **Proceedings...** Launceston: IUFRO, 2000. p. 167-174.

TONELLO, K. C.; FILHO, J. T. Respostas fisiológicas de dois clones de eucalipto submetidos a diferentes potenciais hídricos. In: SEMINÁRIO DE RECURSOS

HÍDRICOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO PARAÍBA DO SUL: o Eucalipto e o Ciclo Hidrológico, I., 2007, Taubaté SP. **Anais...** p. 287-294.

TYREE, M. T.; ENGELBRECHT, B. M. J.; VARGAS, G.; KURSAR, T. A. Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panamá. Relationship to a field assessment of drought performance. **Plant Physiology**, São Carlos, v. 132, p. 1439-1447, 2003.

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory Networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, Columbia, v. 9, n. 2, p. 189-195, 2006.

VELLINI, A. L. T. T.; PAULA, N. F.; ALVES, P. L. C.; PAVANI, 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 - MG, v. 32, n. 4, p. 651-663, 2008.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, Viena, v. 35, n. 5, p. 735-759, 2008.

VERBRUGGEN, N.; HUA, X.J.; MAY, M.; VANMONTAGU, M. Environmental and developmental signals modulate proline homeostasis: evidence for a negative transcriptional regulator. **Plant Biology**, Belgium, v. 93, n. 16, p. 8787-8791, 1996.

WADITEE, M. R.; BHUIYAN.; RAI, V.; AOKI, K.; TANAKA, Y.; HIBINO, T.; SUZUKI, S.; TAKANO, J.; JAGENORF, A. T.; TAKABE, T. Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycine betaine and abiotic stress tolerance in *Synechococcus* and *Arabidopsis*. **Proceedings of National Academy Sciences**, USA, v. 102, n. 5, p. 1318-1323, 2005.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurements of water deficits in leaves. **New Phytologist**, Cambridge, v. 49, n. 1, p. 81-97, 1950.

YAMADA, M.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 417, p. 1975-1981, 2005.

YANCEY, P. H.; CLARKE, M. E.; HAND, S. C.; BOWLUS, R. D.; SOMERO, G. N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. **Science**, Cambridge, v. 217, n. 4566, p. 1214-1222, 1982.

YANG, C. M.; WU, J. T.; SHEN B.-K.; YU, J. Z.; LO, C. T.; SHEN, Y. Estimating growth and nitrogen status in plants of *Amaranthus mangostanus* with canopy spectral characteristics. **Journal of Agricultural Research**, China, v. 52, p. 268-290, 2003.

ZAIFNEJAD, M.; CLARK, R. B.; SULLIVN, C. Y. Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 150, n. 3, p. 338-344, 1997.