

LILIANNA MENDES LATINI GOMES

**CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À
RESTRIÇÃO HÍDRICA EM CLONES DE EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

G633c
2013
Gomes, Lilianna Mendes Latini, 1984-
Características morfofisiológicas associadas à restrição hídrica em clones de eucalipto / Lilianna Mendes Latini Gomes. - Viçosa, MG, 2013. ix, 26 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Nairam Félix de Barros.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 23-26.

1. Eucalipto - Fisiologia - Efeito da água. 2. Eucalipto - Morfologia - Efeito da água. 3. Carbono - Isótopos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 634.973766

LILIANNA MENDES LATINI GOMES

**CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À
RESTRICÇÃO HÍDRICA EM CLONES DE EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2013.

Edgard Augusto de Toledo Picoli
(Coorientador)

Helio Garcia Leite

Alice Pita Barbosa

Nairam Félix de Barros
(Orientador)

*A possibilidade de realizarmos um sonho
é o que torna a vida interessante.*

Paulo Coelho

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fazer acreditar que poderia chegar até aqui.

À minha mãe, Dorinha, por estar sempre ao meu lado me dando forças.

Ao meu pai, Fábio, pelos bons conselhos.

À minha querida irmã, Poli, pelo apoio incondicional.

Aos meus irmãos, Bibi e Fabinho, pelos momentos de descontração e pelas palhaçadas.

Aos sobrinhos queridos, Bê e Fred, amos vocês!

Aos amigos de curso, Fred, Silmara, Chico, Aloncio, Luísa Poyares, Bárbara e Julenice, pelos momentos alegres.

Aos amigos insubstituíveis, Camila Braga, Marcelo Vieira (eterno vizinho), Aline Mazon, Juliana Tensol, adoro vocês.

Em especial, à Cris Godinho, pelo carinho e apoio incondicional nos momentos mais difíceis.

À Andrea Lanna pela preciosa ajuda na execução desse estudo.

Aos professores Nairam Félix de Barros, Edgard A. de Toledo Picoli, Helio Garcia Leite e Júlio César Lima Neves pela dedicação, pelos ensinamentos e pela confiança depositada.

À pesquisadora Alice Pita, que aceitou prontamente o convite para contribuir com este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

À Bahia Specialty Cellulose, pela oportunidade e boa vontade de permitir a execução desse trabalho.

Ao Flancer Nunes, pelo empenho, apoio e assistência ao longo desse estudo.

Aos técnicos do laboratório de Solos Florestais: Sr. Cardoso, Beto e Poliana, pela ajuda e pelos momentos de descontração.

Aos professores e funcionários do Departamento de Solos, pelos ensinamentos e pela convivência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

BIOGRAFIA

LILIANNA MENDES LATINI GOMES, filha de Fábio Latini Gomes e Maria das Dores Mendes Gomes, nasceu em Santo Antônio do Gramma, Minas Gerais, no dia 8 de junho de 1984.

Em maio de 2006, ingressou no curso de Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, graduando-se em janeiro de 2011.

Em agosto de 2011, iniciou o curso de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil submetendo-se à defesa da dissertação no dia 31 de julho de 2013.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1. Produtividade média	6
2.2. Discriminação isotópica do $^{13}\text{CO}_2$ (Δ).....	6
2.3. Morfometria foliar	6
2.4. Micromorfometria foliar	6
2.5. Análise estatística	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	8
3.1. Discriminação isotópica do $^{13}\text{CO}_2$ (Δ).....	8
3.2. Morfometria foliar	11
3.3. Micromorfometria foliar	14
4. CONCLUSÕES	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

RESUMO

GOMES, Lilianna Mendes Latini, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Características morfofisiológicas associadas á restrição hídrica em clones de eucalipto.** Orientador: Nairam Félix de Barros. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli e Júlio César Lima Neves.

O cultivo do eucalipto no Brasil tem ocorrido em diferentes condições edafoclimáticas. Quanto ao clima, os plantios têm sido feitos desde regiões onde não ocorrem déficits até regiões com fortes restrições hídricas. De modo semelhante, há plantios em solos com restrições variáveis quanto à fertilidade e, ou, características físicas. A combinação de tais restrições requer a seleção de material genético que possa suplantá-las. Enquanto a baixa fertilidade do solo pode ser contornada pela técnica de fertilização, a restrição física e climática é de mais difícil solução. A escolha de genótipos tolerantes ao déficit hídrico tem sido a principal opção para plantio em tais condições. Por isso, a definição de biomarcadores dessa tolerância, como alterações morfológicas, anatômicas e fisiológicas, é de alto interesse prático. O objetivo deste estudo foi avaliar características e adaptações morfoanatômicas em clones de eucalipto com tolerância diferencial ao déficit hídrico e sua relação com a discriminação isotópica do $^{13}\text{CO}_2$ (Δ). O estudo foi conduzido em plantios comerciais de eucaliptos situados em duas condições edafoclimáticas no norte do estado da Bahia. As árvores tinham, aproximadamente, cinco anos de idade, no espaçamento inicial de 9 m^2 por planta, e os plantios se situam em áreas com precipitação média anual de 900 mm e 1500 mm. Em cada área, os clones 1277 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), 1404 (*E. urophylla*) e 1407 (híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*), considerados com alta, média e baixa tolerância à seca, respectivamente, foram selecionados em talhões situados em Argissolos Amarelo para avaliações biométricas e fisiológicas. Foram selecionadas e abatidas quatro árvores médias por clone e área e, na base de cada uma, foi retirado um disco do tronco com, aproximadamente, 5 cm de espessura, do qual foram obtidas amostras das seções radiais do lenho para determinação dos isótopos do C. De cada árvore foram, ainda, selecionadas folhas completamente expandidas do terceiro ou quarto nó do ápice para a base do ramo, em três posições distintas da copa: basal, mediana e apical. Foram coletadas dez folhas para cada uma dessas posições as quais foram utilizadas nas análises morfométricas para obtenção da área, largura, comprimento e perímetro. Adicionalmente, uma folha sadia e completamente expandida

foi também coletada de cada árvore para as seguintes análises micromorfométricas, em secção transversal: (espessura total, da cutícula, da epiderme e do mesofilo, bem como porcentagem de espaços intercelulares). As características avaliadas foram comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade. O clone 1277, mais tolerante à seca, na área com precipitação média anual de 900 mm, mostrou maior $\Delta^{13}\text{C}$ em comparação com os demais clones, possivelmente, devido à manutenção da condutância estomática. O clone tolerante (1277), na área com precipitação média anual de 900 mm, apresentou menor área foliar nas folhas do ápice da copa, menor tempo de difusão do vapor de água nas posições basal e mediana, e menores porcentagens de espaço intercelular no mesofilo em todas as posições da copa, características indicadoras de xeromorfismo. Portanto, foram verificadas características qualitativas e quantitativas associadas à tolerância dos clones ao déficit hídrico. As características xeromórficas mais evidentes do clone 1277 lhe conferem maior tolerância e condições de se adaptar e desenvolver sob restrição hídrica.

ABSTRACT

GOMES, Lilianna Mendes Latini, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Morphological characteristics of eucalypt clones associated to water restrictions.** Adviser: Nairam Félix de Barros. Co-Advisers: Edgard Augusto de Toledo Picoli and Júlio César Lima Neves.

In Brazil, eucalyptus have been planted under different climatic and edaphic conditions. As regard to climate, the plantations have been located in a wide range of conditions, from regions with no restrictions to regions with strong water deficit. Similarly, soils are quite variable in terms of fertility and physical characteristics. The combination of soil and water restrictions can be overcome by the selection of genetic material adapted to such conditions. Soil low fertility can easily be resolved by mineral fertilization, whereas climatic and soil physical restrictions are of more difficult solution. Selecting genotypes adapted to such restrictions has been one of the alternatives adopted in the Brazilian silviculture. Early selection attributes, as biomarkers of such adaptations, including morphological, anatomical and physiological characteristics, are of great practical interest. The objective of this study was to evaluate characteristics and morpho-anatomic adaptations of eucalypt clones, differing in tolerance to water deficit and relate these adaptations to isotopic carbon discrimination ($^{13}\text{CO}_2$ (Δ)). The study was carried out in commercial eucalypt stands located in two different climate conditions (mean of 900 mm and 1,500 mm per year) on an soil Yellow Ultisol, in the Northeast of Bahia State, Brazil. In both sites, three clones (1277, a hybrid of *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis*, 1404, *E. urophylla*, and 1407, a hybrid of *E. urophylla* x *E. grandis*) respectively considered of high, medium and low tolerance to water deficit, were planted at 3 x 3 m spacing and the stands were approximately 5 year old at the assessment time. In each site were selected and felled four trees of average size (diameter and height) per clone. At the stem base, a disc of 5 cm width was removed for $^{13}\text{CO}_2$ (Δ) determination. Wood samples were collected from each disc in radial sections, dried in the laboratory and submitted to a mass spectrometer. Ten completely expanded and active leaves of the third or fourth world of branches located at the top, half and base of the crown were also collected from each sampled tree for morphometric analyses and dimension determination (area, width, length and perimeter). An additional leaf was also collected for micromorphometric analyses (cuticle, epidermis and mesophyll width and intercellular space). In the region of lower

precipitation, clone 1277 presented higher $\Delta^{13}\text{C}$, lower leaf area at the top of the crown, lower water diffusion time of leaves at the half and bottom of the crown and less mesophyll intercellular space than the other two clones. All these characteristics are indicators of adaptation to xeromorphic conditions. Therefore, quantitative and qualitative characteristics were associated with the tolerance to water restrictions. Xeric characteristics were more evident on clone 1277, which showed higher tolerance and adaptation to conditions where water restrictions predominate.

1. INTRODUÇÃO

A demanda crescente por madeira nos mercados nacional e mundial, especialmente para celulose e energia, contribui para o aumento de plantios florestais em larga escala. A Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas relatou que, em 2011, a área cultivada com eucalipto no Brasil ultrapassou 4,8 milhões de hectares, sendo Minas Gerais, São Paulo e Bahia os principais estados produtores (ABRAF, 2012).

Eucalyptus é um gênero de elevada plasticidade e com boa adaptação a diversas condições de solo e clima. Essas características, aliadas às inovações técnicas na implantação e manejo florestal, contribuem para que novos plantios sejam realizados em áreas com restrições hídricas e nutricionais. As plantas cultivadas em tais situações, em geral, apresentam adaptações fisiológicas e, ou, morfológicas, no sentido de suplantar essas restrições.

Organismos com elevada plasticidade fenotípica possuem vantagens sobre os que são menos adaptáveis e podem sobreviver às mudanças do meio ambiente (FAHN; CUTLER, 1992). Espécies adaptadas às condições de restrição hídrica possuem adaptações na estrutura foliar como baixa densidade estomática, redução dos espaços intercelulares, presença de duas ou mais camadas de paliçada no mesófilo dentre outros. O aumento da espessura da folha, presença de estômatos em ambas as superfícies foliares e redução do diâmetro dos vasos são também características associadas a ambientes com déficit hídrico (CAO, 2000).

Quando a evolução do déficit hídrico é lenta, permitindo mudanças nos processos do desenvolvimento vegetal, vários efeitos sobre o crescimento podem ser observados, como, por exemplo, a redução da área foliar. Esse mecanismo de adaptação contribui para a redução da transpiração, conservando um suprimento de água limitado no solo por um período mais longo. Em contrapartida, essa alteração interfere diretamente na fotossíntese, que é determinada pela quantidade de área foliar. Essa resposta adaptativa ao déficit hídrico é considerada a primeira linha de defesa contra seca (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O efeito do estresse hídrico nas plantas é complexo, não havendo um mecanismo universal de tolerância à seca. O fechamento estomático pode contribuir para a manutenção da hidratação dos tecidos por reduzir a transpiração, mas pode também

diminuir o crescimento das plantas, por reduzir a concentração interna de CO₂ (KOZLOWSKI *et al.*, 1991).

Em condições de restrições hídricas, algumas espécies de plantas são capazes de realizar a abertura parcial dos estômatos, contribuindo para a manutenção das concentrações internas de CO₂ e da fotossíntese, sem que haja perdas excessivas de água pelo processo transpiracional. Esse mecanismo confere maior eficiência de utilização da água (EUA) pela planta (CONDON *et al.*, 2004). Assim, clones de eucalipto com maior EUA apresentam menor requerimento de água por unidade de matéria seca produzida. A EUA, por ser expressa pela relação entre o produto da fotossíntese e a quantidade de água utilizada neste processo, é estreitamente associada à pressão parcial interna de CO₂ e reflete fatos que ocorrem ao longo de um período. Uma maneira de avaliar a EUA é por meio da composição relativa dos isótopos estáveis do carbono, ¹³CO₂ e ¹²CO₂ ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{12}\text{C}$, respectivamente) no material vegetal (FARQUHAR *et al.*, 1989).

Existem dois principais pontos de discriminação contra o ¹³CO₂ em plantas C3. O primeiro ponto está relacionado com o aspecto difusional dos gases. Como o ¹³CO₂ possui maior peso molecular que o ¹²CO₂, ele se difunde mais lentamente nos espaços intercelulares gerando um empobrecimento de ¹³CO₂ nos tecidos foliares da ordem de – 4,4 ‰. O segundo ponto de discriminação (aspecto bioquímico) está relacionado com a fixação do CO₂. A fixação do CO₂ é feita pela enzima rubisco, que possui uma maior afinidade pelo ¹²CO₂ em comparação ao ¹³CO₂. Essa preferência da rubisco pelo ¹²CO₂ é da ordem de – 27 ‰. Forte correlação positiva entre EUA e discriminação isotópica do ¹³CO₂ (Δ) nos tecidos foliares tem sido encontrada em algumas espécies C3 (ZHANG *et al.*, 1993, CHEN *et al.*, 2007), isto é, com o fechamento dos estômatos as plantas discriminam menos o ¹³CO₂.

Dentre os indicadores de tolerância de genótipos ao estresse hídrico está a EUA, em que maior EUA reflete maior tolerância à seca (CONDON *et al.*, 2004). Entretanto, alguns estudos indicam que plantas com maior EUA se adaptam a situações de déficit hídrico e outros demonstraram não haver favorecimento nestas situações (DONOVAN & EHLERINGER, 1994; GEBER & DAWSON, 1997; PENNINGTON *et al.*, 1999; DONOVAN *et al.*, 2007).

Diversos autores têm utilizado Δ na seleção de genótipos de plantas potencialmente tolerantes ao déficit hídrico (LI, 2000; IMPA *et al.*, 2005; MONNEVEUX *et al.*, 2007; DUCREY *et al.*, 2008). Yin *et al.* (2004), avaliando as

diferenças interespecíficas na EUA e $\delta^{13}\text{C}$ entre duas espécies de *Populus*, sob dois regimes de irrigação (com e sem déficit hídrico), encontraram correlação positiva entre a biomassa, EUA e $\delta^{13}\text{C}$ em ambos os regimes. Eles sugeriram que a espécie mais tolerante à seca (*P. przewalskii*) possuía uma estratégia mais conservativa no uso de água ao passo que a espécie menos tolerante (*P. cathayana*) possuía uma estratégia menos conservativa. Porém, Pita *et al.* (2001), trabalhando com várias espécies de eucalipto com idades entre 3 e 7 anos no sudoeste da Espanha, encontraram uma relação forte e positiva entre Δ e o diâmetro médio à altura do peito (dap), significando menor eficiência transpiracional em genótipos mais produtivos. Foi verificado, também, por Le Roux *et al.* (1996), que clones de *E. grandis* com maior acúmulo de biomassa apresentaram maiores valores de Δ .

O objetivo deste estudo foi avaliar as características e adaptações morfoanatômicas de clones de eucalipto com tolerância diferencial ao déficit hídrico e sua relação com Δ .

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido em plantios de eucalipto situados na região do recôncavo norte da Bahia em áreas da empresa Bahia Specialty Cellulose. Selecionaram-se plantios em um gradiente de precipitação pluviométrica do litoral para o interior. Nas áreas situadas próximas ao litoral, de acordo com a classificação de Köppen, o clima é do tipo Af (tropical equatorial), em que a temperatura média do mês mais frio é superior a 18°C, com ocorrência de precipitação em todos os meses do ano e inexistência de estação seca definida. A precipitação média anual nessa área pode chegar a 1.700 mm. Próximo ao sertão, o clima é do tipo BSh (clima de estepe quente), com temperaturas médias elevadas (27 °C), com ocorrência de pouca precipitação (média anual de 700 mm) e grande irregularidade na sua distribuição.

Foram selecionados talhões com os clones 1277 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), 1404 (*E. urophylla*) e 1407 (híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*), considerados pela Empresa como de alta, média e baixa tolerância à seca, respectivamente. Os clones tinham aproximadamente cinco anos de idade, plantados no espaçamento inicial de 9 m² por planta em áreas com precipitação média anual de 900 mm e 1.500 mm (Figura 1), totalizando, portanto, seis combinações (três clones x duas áreas).

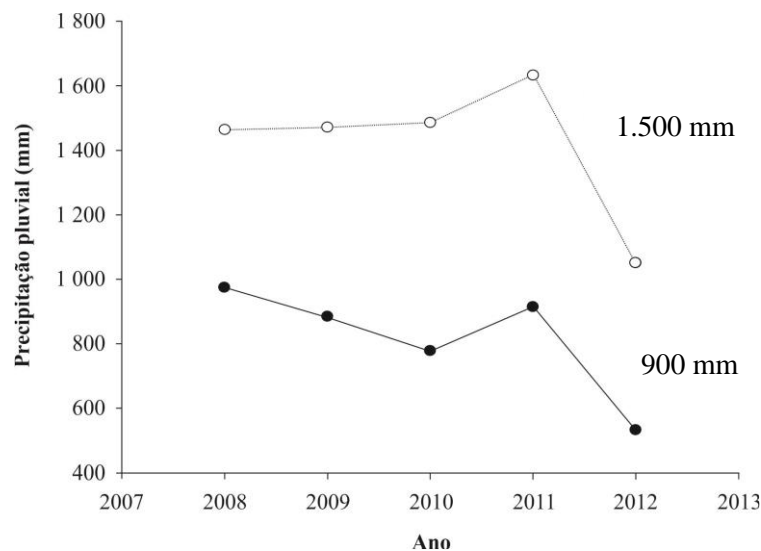


Figura 1 – Precipitação pluviométrica (mm) nos últimos cinco anos de duas áreas, com médias de 900 mm (região próxima ao sertão) e 1.500 mm (região próxima ao litoral), no recôncavo norte da Bahia.

Todos os talhões selecionados foram de plantios em Argissolo Amarelo, porém, com derivações a partir do terceiro nível categórico de classificação, exceto para um tratamento (Argissolo Vermelho Amarelo distrófico), de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2006) (Tabela 1). Em cada talhão foram estabelecidas parcelas de 1.600 m² para medição do dap do tronco de todas as árvores. Quatro árvores cujo dap correspondia à média foram selecionadas para avaliações biométricas e fisiológicas. As coletas foram feitas ao final da estação chuvosa (julho/agosto).

Tabela 1 – Características das áreas estudadas

Clone	Precipitação (mm)	Solo ^{1/}	Textura (A/B) ^{2/}
1407	900	PVAd	Arenosa/média
1404	900	PAd	Arenosa/média
1277	900	PAdx	Arenosa/média
1407	1.500	PAdx	Média/argilosa
1404	1.500	PAd	Arenosa/média
1277	1.500	PAdx	Arenosa/média

^{1/} PVAd = Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico; PAd = Argissolo Amarelo distrófico; PAdx = Argissolo Amarelo distrocócosos; e ^{2/} Textura dos horizontes A e B.

Na base de cada árvore abatida foi retirado um disco de madeira, de 5 cm de espessura, do qual foram retiradas amostras das seções radiais do lenho e armazenadas em sacos de papel. Essas amostras foram levadas ao laboratório para determinação dos isótopos do C.

De cada árvore abatida e representativa das combinações de precipitação e clone foram selecionadas folhas completamente expandidas do terceiro ou quarto nó, do ápice para a base do ramo, em três posições distintas da copa: basal, mediana e apical. Foram coletadas dez folhas em cada uma dessas posições, das quais seis foram selecionadas com base em critérios de integridade física. Essas folhas foram utilizadas nas análises morfométricas.

Uma folha sadia e completamente expandida do 3º ou 4º nó, tomado a partir do ápice para a base do ramo, foi coletada de cada árvore abatida representativa das combinações das três posições da copa (basal, mediana e apical), precipitações médias (900 e 1.500 mm) e clones (1277, 1404 e 1407), totalizando 72 amostras. Essas folhas foram utilizadas nas análises micromorfométricas.

2.1 Produtividade média

A produtividade média dos povoamentos, aos cinco anos de idade, foi obtida pela média aritmética dos incrementos médios anuais (IMA) em volume de tronco estimados para cada parcela do inventário florestal contínuo conduzido nos talhões.

2.2. Discriminação isotópica do $^{13}\text{CO}_2$ (Δ)

As amostras de madeira foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C até atingirem peso constante, e depois moídas para a determinação da $\delta^{13}\text{C}$. A $\delta^{13}\text{C}$ foi determinada utilizando um espectrômetro de massa de razão isotópica (ANCA-GLS, Sercom, Crewe, UK). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram expressos em relação ao padrão internacional Pee Dee Belemnite, calculados conforme descrito por Farquhar *et al.* (1994). Realizou-se o cálculo de Δ pela fórmula:

$$\Delta = (\delta^{13}\text{C}_{\text{ar}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}) / (1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{ar}}), \text{ onde } \delta^{13}\text{C}_{\text{ar}} = - 8\text{‰}$$

2.3. Avaliações morfológicas de folhas

As folhas selecionadas foram digitalizadas em scanner HP modelo Scanjet 8200 C com uma escala em centímetros. O software IMAGE PRO PLUS foi calibrado com esta escala e utilizado na medição das variáveis: área, largura, perímetro e comprimento do limbo foliar.

2.4. Avaliações micromorfológicas de folhas

As folhas foram subamostradas e uma porção de 2 cm² da região mediana de cada folha foi retirada com o auxílio de um bisturi, fixada em FAA (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1: 18, v/v) por 48 h e posteriormente estocada em etanol 70% (JOHANSEN, 1940) até o seu processamento.

Secções transversais de 8 μm de espessura foram obtidas com o auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, *Leica Microsystems Inc.*,

Deerfield, US). Os cortes foram corados com Azul de Toluidina pH 4,0 (JOHANSEN, 1940) e as lâminas montadas com resina sintética (*Permout Fisher*).

As observações e a documentação fotográfica do laminário foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) equipado com sistema U-Photo.

A partir das fotografias das lâminas, com auxílio do software IMAGE PRO PLUS, foi avaliada a espessura total da folha; da cutícula e da epiderme das faces adaxial e abaxial do mesofilo; e porcentagem de espaços intercelulares. Foram documentados cinco campos de cada combinação de genótipo, posição e regime pluviométrico, sendo a avaliação realizada a partir da média de três medidas em cada campo.

2.5. Análise estatística

As comparações da Δ , morfometria e micromorfometria foram feitas pelo teste t para amostras independentes, em nível de 5 % de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Discriminação isotópica de carbono

Os valores de Δ do clone 1277 (22,43 ‰) na área com 900 mm de precipitação média foram maiores do que dos clones 1477 (19,67 ‰) e 1404 (19,92 ‰), ($p \leq 0,05$), enquanto que na área de 1.500 mm, o clone 1407 (21,39 ‰) apresentou maior valor de Δ ($p \leq 0,05$) do que os clones 1404 e 1277, sendo observados em média 19,87 e 20,72 ‰, respectivamente (Figura 2). Em princípio, em regiões mais chuvosas a restrição hídrica é ausente e os estômatos dos clones permaneceriam abertos, com maior discriminação do $^{13}\text{CO}_2$. Por outro lado, quando há restrição hídrica, a diferença entre clones quanto à tolerância ao estresse pode ser influenciada pelo fechamento dos estômatos mais efetivo nos clones 1404 e 1407, levando a planta a uma menor discriminação do $^{13}\text{CO}_2$. Aparentemente, na região mais seca, o clone 1277 permaneceu com os estômatos abertos por mais tempo do que os demais clones, o que o levou a discriminar mais os isótopos de C. Esse tipo de comportamento tem sido observado por outros autores (PORTÉ & LOSTAU 2001; ARANDA *et al.*, 2010).

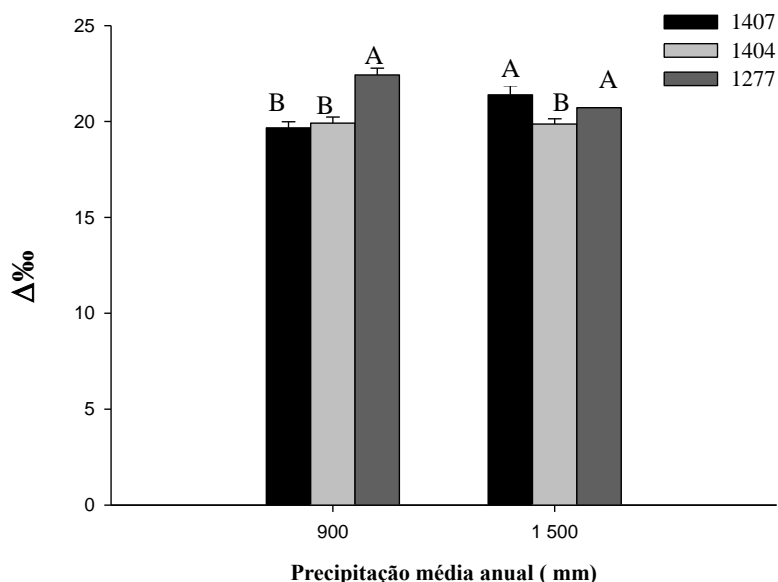


Figura 2 – Discriminação isotópica do $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta\text{‰}$) em amostras de lenho dos clones 1407, 1404 e 1277 considerados de baixa, média e alta tolerância ao déficit hídrico respectivamente, coletadas em locais com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm. Em cada local, $A > B$ ($p \leq 0,05$) pelo teste t .

Na região com 900 mm de precipitação média, o IMA dos três clones foi semelhante (Figura 3), sinalizando que a maior Δ pelo clone 1277, indicador de maior EUA, não conduziu a uma maior produção de parte aérea. Uma maior abertura estomática, caso tenha ocorrido no clone 1277, pode ter possibilitado maior alocação de carboidratos para crescimento do sistema radicular, e conseqüentemente maior absorção de água. Porém o sistema radicular não foi avaliado nesse trabalho. Outros trabalhos como Reis *et al.* (2006) foi verificado que plantas desse clone (1277 – híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), aos 38 meses de idade, em região com restrições hídricas, apresentaram maior crescimento do seu sistema radicular, principalmente em profundidade. Gomes (1994) também observou em condições de campo, na região do cerrado, que material genético de *E. camaldulensis* apresentou sistema radicular mais profundo do que *E. urophylla*.

Na região mais chuvosa, o clone mais sensível à seca (1407 – *E. urophylla*) apresentou maior IMA ($53,6 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), seguido do clone médio tolerante (1404 – híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*) com IMA de $42,6 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Em condições ambientais menos restritivas, genótipos de *E. urophylla* são mais produtivos do que genótipos de *E. camaldulensis* (BERNARDO *et al.*, 1998). As produtividades médias nas duas áreas (Figura 3) indicam o reduzido potencial de crescimento do clone mais tolerante à seca (1277), com IMA em cerca de $26 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, bastante estável.

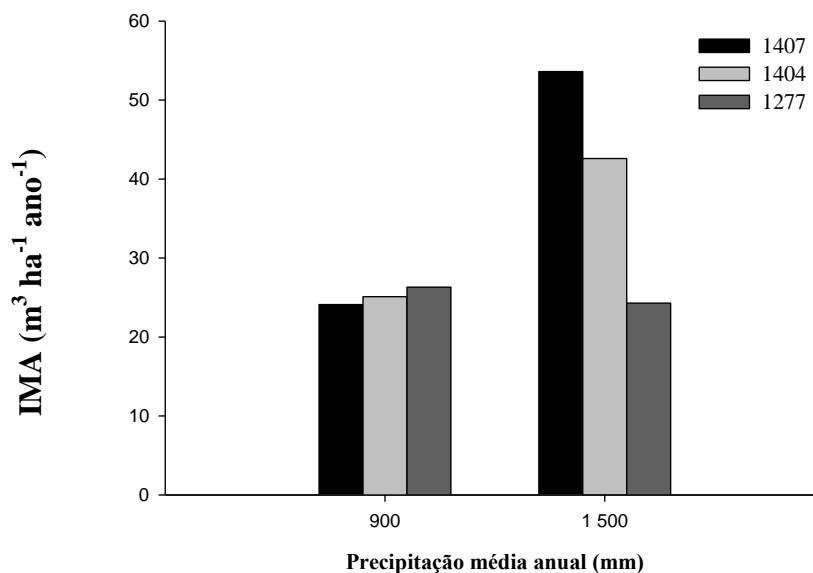


Figura 3 – Incremento médio anual (IMA) em volume, aos cinco anos de idade, de três clones de eucalipto (1407, 1404 e 1277) considerados de baixa, média e alta tolerância ao déficit hídrico respectivamente, cultivados em áreas com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm.

Portanto, na área com precipitação média anual de 900 mm o clone tolerante (1277) apresentou maior Δ associada com maior produtividade que o clone sensível (1407) e médio tolerante (1404). Na região com precipitação média anual de 1.500 mm, sem limitação hídrica, não ocorreu diferença significativa de Δ ($p > 0,05$) entre os clones 1277 e 1407, porém o clone sensível apresentou mais que o dobro da produtividade aos cinco anos, comparado com o clone tolerante. Esses resultados contrariam trabalhos (ZHANG *et al.*, 1994; STILLER *et al.*, 2005; DUCREY *et al.*, 2008) que têm mostrado que materiais genéticos tolerantes ao déficit hídrico são mais produtivos e associados a uma menor Δ .

Estudo realizado por Nunes (2010) com eucalipto, em condição de campo e déficit hídrico, mostrou menores valores de Δ e maior produtividade para clones tolerantes, sugerindo que clones resistentes apresentam menor condutância estomática associada à manutenção da taxa fotossintética e estratégia de utilização de água mais conservativa. Porém, Pita *et al.*(2001), trabalhando com *E. globulus*, encontraram uma relação forte e positiva entre Δ e o dap, justificada principalmente pela variação da condutância estomática. Segundo os autores, a provável estratégia adotada por essa espécie para atingir alta produtividade foi a manutenção da baixa taxa transpiratória, apesar das condições extremas de seca. Os resultados obtidos para o clone 1277 podem ser decorrentes de um sistema radicular mais profundo, que possibilitaria maior absorção de água do solo. Plantas provenientes de região de baixa precipitação adaptam-se á seca por alocarem mais carbono para raízes e apresentam maior EUA (LI, 2000).

Os resultados aqui encontrados são ainda respaldados pelos relatados por Li (2000), que descreveu duas estratégias contrastantes para tolerância à seca em populações de *E. microtheca*. Em seu estudo realizado no noroeste da Austrália (região árida), as plantas tinham uma estratégia mais conservativa de uso da água, por meio de uma melhor regulação estomática, evitando perdas excessivas de água e evidenciando um comportamento mais compatível com condições de seca prolongada. Já as populações provenientes do sudeste (clima úmido) possuíam uma estratégia de uso da água menos conservativa. As plantas mantiveram maior condutância estomática o que, provavelmente, permitiu atingir maior produtividade.

Em condições de restrição hídrica, a absorção de água pode ser maximizada por meio do ajuste do padrão de alocação dos fotoassimilados, que são mais direcionados

para o crescimento radicular (JACKSON *et al.*, 2000; CAMPION *et al.*, 2006). Como a produtividade é fortemente ligada às taxas de transpiração, o incremento do sistema radicular sob deficiência hídrica é extremamente importante para a produção da cultura nestas condições (BLUM, 2009). Segundo Gonçalves e Passos (2000), a maior partição de carbono (massa seca) para as raízes (maior relação raiz/parte aérea), quase sempre associada ao aprofundamento do sistema radicular, possibilita captação de água em camadas mais profundas do solo, onde há maior disponibilidade de água. A maior absorção de água permite que ocorram maiores taxas transpiratórias e favorece a entrada de CO₂ nas folhas, reduzindo a limitação estomática imposta em períodos de seca, contribuindo para uma maior Δ , aumento da produtividade e maior EUA.

Cabe ressaltar que maior capacidade produtiva em condições de déficit hídrico não é decorrente de maiores taxas de EUA, mas da capacidade da manutenção da condutância estomática e transpiração. Assim, haveria uso mais efetivo da água (UEA), ou seja, aumento da biomassa da cultura por meio da maximização da absorção de água pela cultura em períodos de estresse (BLUM, 2009).

A resistência das plantas aos estresses abióticos é multigênica e assim a identificação e compreensão do controle dos processos envolvidos são tarefas que apresentam maior dificuldade e complexidade (VINOCUR *et al.*, 2005; ASHRAF *et al.*, 2010).

Desta forma, para os clones de eucalipto avaliados, a discriminação isotópica de carbono não separa simplesmente quem produz mais, mas, quem produz mais em determinada condição de ambiente que muitas vezes não é totalmente explorado ou conhecido.

3.2. Morfometria foliar

Dentre as características morfométricas foliares avaliadas, apenas a área foliar foi diferente entre os clones ($p \leq 0,05$). Os clones de média e alta tolerância à seca, 1404 e 1277, respectivamente, cultivados em locais de precipitação média de 900 mm, apresentaram na posição apical da copa (A), menor área foliar se comparados com os valores encontrados para locais de precipitação média anual de 1.500 mm. Já a área foliar do clone de baixa tolerância (1407) não diferiu entre os locais de 900 e 1500 mm ($p > 0,05$), em nenhuma das três posições da copa (Tabela 2).

Tabela 2 – Área foliar média (cm²) dos clones de eucalipto considerados de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico em três posições da copa: basal (B); mediana (M) e apical (A) nos locais com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm.

		Região 900 mm	Região 1500 mm
Posição			
1407 (baixa tolerância)	B	34,52 A	42,28 A
	M	41,56 A	42,81 A
	A	30,40 A	38,05 A
1404 (média tolerância)	B	39,76 A	43,90 A
	M	39,14 A	44,38 A
	A	32,95 A	47,63 B
1277 (alta tolerância)	B	22,07 A	27,15 A
	M	23,58 A	28,90 A
	A	21,43 A	29,54 B

Em cada linha, B > A (p ≤ 0,05) pelo teste *t*.

Verificou-se que os clones 1407 e 1404 apresentaram maiores áreas foliares do que o clone 1277 em todas as posições da copa nas duas regiões. Porém, a área foliar dos clones 1407 e 1404 não diferiu nas posições da copa e nas regiões avaliadas (Tabela 3). Isso seria indicativo que o clone 1277 se adapta à condição de déficit hídrico por possuir folhas menores.

Tabela 3 – Diferença da área foliar média (cm²) nas três posições da copa, basal (B), mediana (M) e apical (A) entre os clones de eucalipto considerados de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico em dois locais com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm.

		Região 900 mm		Região 1500 mm	
		1404	1277	1404	1277
Posição B	1407	-5,24	12,45*	-1,62	15,13*
	1404		17,69*		16,75*
Posição M	1407	2,43	17,98*	-1,57	13,91*
	1404		15,55*		15,48*
Posição A	1407	-2,54	8,98*	-9,59	7,08*
	1404		11,52*		14,21*

* p ≤ 0,05 pelo teste *t*.

Considerando que as folhas do ápice da copa estão mais expostas à radiação solar e à maior movimentação do ar, a redução da área foliar pode contribuir para menor

perda de água uma vez que diminui a superfície sujeita a evapotranspiração. As plantas exibem mecanismos de adaptação que são ativados em resposta ao estresse hídrico. Quando o déficit hídrico apresenta evolução suficientemente lenta para permitir mudanças nos processos de desenvolvimento, o estresse hídrico tem vários efeitos sobre o crescimento, um dos quais é a limitação da expansão foliar considerada como a primeira linha de defesa contra seca (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Todos os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas podem ser afetados pela deficiência hídrica nos tecidos, causada pela excessiva demanda evaporativa ou limitado suprimento de água. Como consequência, ocorre desidratação do protoplasto, resultando na diminuição do volume celular e aumento na concentração de solutos (MARTINS *et al.*, 2010).

A expansão foliar depende de processos e características como taxa de divisão celular, número de células e pressão de turgor, que são extremamente sensíveis ao déficit hídrico. A expansão celular pode ser descrita pela equação (TAIZ & ZEIGER, 2004):

$$GR = m(\Psi_p - \gamma)$$

em que GR é a taxa de crescimento, considerada como o aumento de volume irreversível da célula, Ψ_p é o potencial de pressão, γ é o limiar de amolecimento (a pressão abaixo da qual a parede celular resiste à deformação plástica ou irreversível) e m é a extensibilidade da parede. Esta equação mostra que um decréscimo do turgor (Ψ_p) causa um decréscimo da taxa de crescimento (GR). Como a expansão foliar depende da expansão celular, os princípios que fundamentam os dois processos são similares. A inibição da expansão celular provoca uma lentidão da expansão foliar no início de desenvolvimento de déficits hídricos. Com área foliar menor a planta transpira menos, o que permite a conservação de um suprimento de água limitado no solo por um período mais longo (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A redução da área foliar em plantas sob condições de estresse hídrico, como mecanismo de redução da perda de água pela transpiração, tem sido observada por diversos autores (LI *et al.*, 2000; CHAVES, 2001; PEREIRA, 2006; TATAGIBA, 2007A; MARTINS, 2010; BORTOLINI *et al.*, 2011). Osório *et al.* (1998) observaram, em plantas de *E. globulus*, redução de 50 e 65% da área foliar, quando elas foram submetidas ao estresse hídrico moderado e severo, respectivamente. Essa redução foi atribuída à menor expansão foliar e diminuição na produção de hastes e ramos.

Resultados semelhantes foram observados por Cabral *et al.* (2004) em plantas jovens de *Tabebuia aurea* sob restrições hídricas. Kozłowski *et al.* (1991) relataram que um dos efeitos mais drásticos do estresse hídrico é a redução na área foliar, levando a um decréscimo na fotossíntese e, conseqüentemente, no crescimento da planta.

É importante ressaltar que as expansões celular e foliar dependem de outros fatores bioquímicos e moleculares, além daqueles que controlam o fluxo de água. Uma forte evidência sustenta a hipótese de que as plantas alteram sua taxa de crescimento em resposta ao estresse por meio de um controle coordenado de muitos outros processos importantes, como a síntese da parede celular e síntese proteica (BURSSENS *et al.*, 2000).

3.3. Micromorfometria foliar

Para as análises micromorfométricas foliares, a variável que teve maior relevância foi porcentagem de espaços intercelulares no mesofilo.

Os clones 1404 e 1277 (média e alta tolerância à seca, respectivamente) apresentaram menor porcentagem de espaços intercelulares (7,8 e 1,33 % respectivamente) nas folhas do ápice da copa, na área de 900 mm comparados com a área de 1.500 mm que foi 8,94 % para o clone 1404 e 4,21 % para o clone 1277. A porcentagem de espaços intercelulares do clone 1407 diferiu apenas em folhas da posição basal. Nas demais posições da copa, a porcentagem foi semelhante para as duas regiões (Tabela 4).

Tabela 4 – Porcentagem de espaços intercelulares dos clones de eucaliptos considerados de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico, em três posições da copa, basal (B), mediana (M) e apical (A), entre as áreas com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm.

		Região 900 mm	Região 1.500 mm
	Posição		
1407 (baixa tolerância)	B	4,80 A	9,16 B
	M	8,12 A	11,20 A
	A	8,88 A	11,15 A
1404 (média tolerância)	B	11,31 A	11,22 A
	M	9,54 A	10,47 A
	A	7,88 A	8,94 B
1277 (alta tolerância)	B	3,01 A	4,52 A
	M	2,62 A	3,73 A
	A	1,33 A	4,21 B

Para cada clone e posição da copa, B > A pelo teste *t*, a 5 % de probabilidade.

Verificou-se que o clone 1277 apresentou menor porcentagem de espaços intercelulares no mesofilo em todas as posições da copa, comparado com os clones 1407 e 1404. Os clones 1407 e 1404 apresentaram espaços intercelulares semelhantes (Tabela 5). Os valores da porcentagem de espaços intercelulares nas folhas do clone 1407 foram o inverso dos observados nas folhas dos demais clones quando se consideram as posições basal e apical, nas duas áreas avaliadas (Tabela 4). Considerando que o clone tolerante (1277) apresentou diferença significativa desta variável em relação ao clone médio tolerante (1404) e pouco tolerante (1407), independentemente da área (Tabela 5), a redução dos espaços intercelulares das folhas na porção apical pode ser uma das características relevantes na indicação da tolerância ao déficit hídrico.

Tabela 5 – Diferença da porcentagem média de espaços intercelulares do mesofilo nas três posições da copa: basal (B), mediana (M) e apical (A) entre os clones de eucalipto considerados de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico, em duas áreas com precipitação média anual de 900 e 1.500 mm.

		Região 900 mm		Região 1.500 mm	
		1404	1277	1404	1277
Posição B	1407	-3,63	2,74*	-0,02	6,68*
	1404		8,72*		6,70*
Posição M	1407	-1,43	5,50*	0,74	6,08*
	1404		6,92*		5,34*
Posição A	1407	1,00	7,55*	2,21	6,94*
	1404		6,55*		4,74*

* $p \leq 0,05$ pelo teste t .

O menor espaço intercelular e menor área foliar no clone tolerante (1277) em comparação aos outros dois clones, em ambos os locais, foram marcantes e correspondem ao que tem sido observado em plantas que habitam ambientes xeromórficos (FAHN & CUTLER, 1992).

Derivando a primeira lei de Fick, encontra-se uma expressão para o tempo requerido por uma substância para difundir ao longo de uma distância específica. O tempo médio necessário para uma partícula difundir-se por uma distância L é igual a L^2/D_s , onde D_s é o coeficiente de difusão, o qual depende tanto da identidade da partícula quanto do meio onde esta se difunde. A partir da razão entre a área total dos espaços intercelulares no mesofilo e o comprimento do mesofilo, foi estimada a distância média (L) pela qual a molécula de água tem de difundir-se do sítio de evaporação dentro da folha para a atmosfera externa. Conhecida a distância (L), foi possível calcular o tempo médio necessário para que as moléculas de água transitem do mesofilo até a epiderme onde se encontram os estômatos.

O clone tolerante (1277), na área de precipitação média anual de 900 mm, obteve menor tempo médio de difusão comparado com os demais clones para folhas das posições mediana e basal da copa. Contudo, essa redução foi mais pronunciada em folhas presentes na posição apical da copa (Figura 4).

Observando o efeito das posições da copa em cada clone, verificou-se que o tempo médio de difusão nas folhas do clone de baixa tolerância (1407) aumentou no sentido base para posição apical da copa. O contrário foi observado para o clone médio (1404) e tolerante (1277), para os quais a diferença do tempo de difusão não foi

significativa ($p > 0,05$), embora haja uma tendência na redução do tempo médio de difusão à medida que se consideram as folhas mais apicais. A redução no tempo de difusão observada no clone 1277 é decorrente do fato de seu valor de L ser menor que nos demais clones, ou seja, a distância que a água percorre por meio dos espaços intercelulares até chegar à cavidade estomática e sair na forma de vapor d'água para a atmosfera é menor no clone 1277 que nos clones 1407 e 1404 (Figura 4).

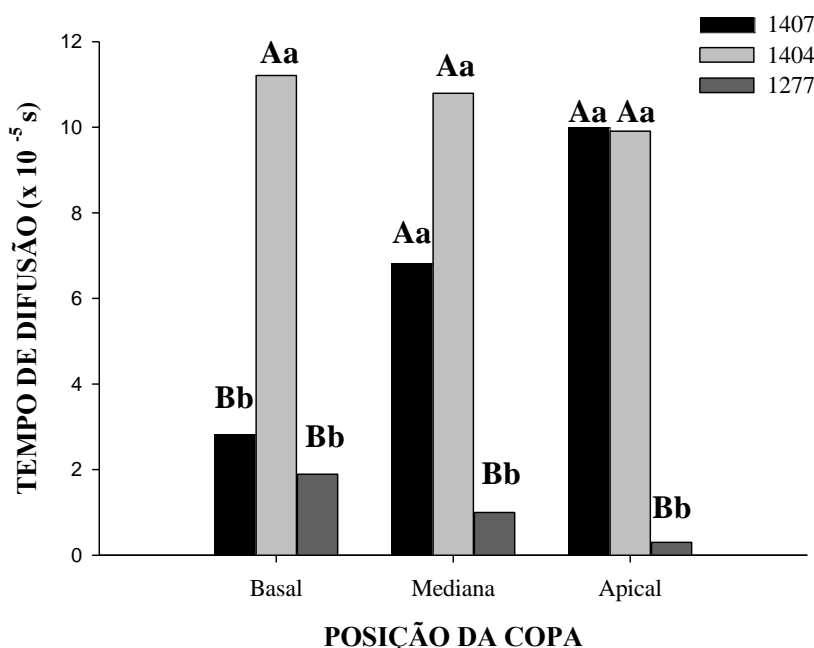


Figura 4 – Tempo médio ($s \times 10^{-5}$) necessário para que o vapor d'água difunda-se dos espaços intercelulares do mesofilo para a atmosfera em folhas de eucalipto em três posições da copa: basal, mediana e apical dos clones de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico, localizados em áreas com precipitação média anual de 900 mm. Mesma letra maiúscula, dentro de cada posição da copa (comparação entre clones), e mesma letra minúscula (comparação entre posições da copa para o mesmo clone) não diferem entre si pelo teste t ($p > 0,05$).

Foram observadas diferenças quantitativas e qualitativas no tempo de difusão entre os clones e entre os ambientes avaliados (Figuras 4 e 5). Nas áreas com precipitação média anual de 1.500 mm, também foi verificado que o clone 1277 possuiu um tempo médio de difusão menor que os demais clones em todas as posições da copa. Avaliando o efeito das posições da copa em cada clone, o tempo médio de difusão encontrado foi semelhante (Figura 5). Nas áreas com precipitação média de 900 mm, observa-se a tendência de manutenção do tempo médio de difusão para os clones

tolerante e médio tolerante independente da posição amostrada, o contrário sendo observado para o clone de baixa tolerância que apresentou um aumento desta variável. O maior tempo de difusão nas folhas da posição apical dos clones 1407 e 1404 está relacionado ao aumento da porcentagem de espaços intercelulares (Tabela 4). Este comportamento pode favorecer a maior suscetibilidade ao estresse hídrico destes clones por dificultar o processo de evapotranspiração e transporte no xilema. Por outro lado, nas áreas com maior disponibilidade de água, não foi verificada diferenças no tempo de difusão do vapor d'água entre as posições basal, mediana e apical da copa dentro de cada clone, mas os clones diferiram entre si dentro de cada posição (Figura 5). Independente da posição, o clone tolerante (1277) apresentou menor tempo de difusão, sugerindo mais uma vez, que a redução de espaços intercelulares (Tabela 4) e do tempo de difusão (Figura 5) estão associados à tolerância ao déficit hídrico.

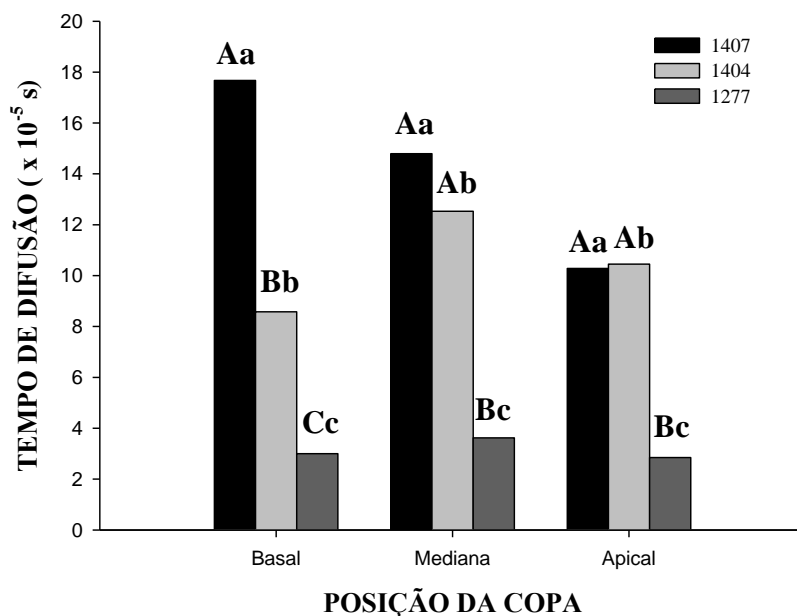


Figura 5 – Tempo médio ($\times 10^{-5}$ s) necessário para que o vapor d'água difunda-se dos espaços intercelulares do mesofilo para a atmosfera em folhas de eucalipto em três posições da copa, basal, mediana e apical dos clones de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico localizados em áreas com precipitação média anual de 1.500 mm. Mesma letra maiúscula, dentro de cada posição da copa (comparação entre clones), e pela mesma letra minúscula (comparação entre posições da copa para o mesmo clone) não diferem entre si pelo teste t ($p > 0,05$).

Observações de campo permitiram verificar que o clone 1277 possuía a copa menos adensada que as copas dos outros clones (Figura 6), o que contribui para uma maior movimentação de ar ao longo do dossel. O vento tem uma ação preponderante na remoção da camada limítrofe, que corresponde à camada de vapor existente entre uma superfície evaporante qualquer e o meio externo a essa superfície. Com maior circulação de ar, a tendência é que ocorra maior remoção da camada de vapor d'água sobre a superfície evaporante da folha. Com essa remoção, há menor pressão de vapor d'água sobre essa superfície, e, conseqüentemente a água escapará mais facilmente da fase líquida (dentro da folha) para a fase gasosa (atmosfera). A diminuição do tempo de difusão da água para a superfície aumenta a eficiência na transpiração. Esta arquitetura da copa da planta pode constituir um ambiente mais favorável à diferenciação de folhas com menores áreas (Tabela 2) e menores proporções de espaços intercelulares (Tabela 4).



1407 (baixa tolerância)



1404 (média tolerância)



1277 (alta tolerância)

Figura 6 – Arquitetura da copa dos clones de eucalipto 1407 (baixa tolerância), 1404 (média tolerância) e 1277 (alta tolerância) em áreas com precipitação média anual de 900 mm.

Também foi observado que o clone 1277 apresenta folhas anfiestomáticas, enquanto os demais clones (1407 e 1404) apresentaram folhas hipoestomáticas. Segundo Parkhurst *et al.* (1988), a presença de estômatos em ambas as superfícies da folha reduz a distância de difusão do CO₂ no mesofilo. Além do caráter anfiestomático, o clone tolerante (1277) apresentou epiderme simples unisseriada com seis a sete camadas de parênquima paliçádico bem diferenciado, tendendo a parênquima homogêneo donde o parênquima lacunoso é praticamente ausente. Nos demais clones as camadas de parênquima paliçádico são menos definidas e a presença do parênquima lacunoso é nítida (Figura 7). O aumento na camada paliçádica é citado por Zagdanska & Kozdoj (1994) como estratégia utilizada pelos vegetais para manter a capacidade fotossintética em potenciais de água muito baixo. Outra característica observada foi à presença de fibras na posição superior e inferior dos feixes vasculares do clone 1277. Nos clones 1407 e 1404, as fibras se encontram apenas na posição superior dos feixes vasculares.

As características observadas no clone 1277 se assemelham com as características de plantas xerófitas como a *Capparis spinosa* cultivadas na região mediterrâneo, que possuem estômatos uniformemente distribuídos em ambas às superfícies foliares, carregam um grande número de células no mesofilo e uma baixa porcentagem de espaço intercelular (Rhizopoulou *et al.*, 2003). As outras características analisadas como comprimento, largura de folha, espessura de cutícula, epiderme superior e inferior não seguiram o mesmo padrão das variáveis discutidas anteriormente. Uma possível explicação pode ser ao fato que as coletas das folhas no campo foram feitas ao final da estação chuvosa. A coleta do material vegetal ao final da estação seca poderá contribuir para melhor avaliação e ou discriminação das características dos genótipos, bem como a estimativa da influência do ambiente e do genótipo sobre as mesmas.

Em suma, foram verificadas diferenças qualitativas e quantitativas significantes entre os clones divergentes quanto à tolerância ao déficit hídrico. As características xeromórficas mais evidentes conferem ao clone tolerante (1277) melhores condições de se adaptar ou se desenvolver sob condições onde há restrição na disponibilidade de água.

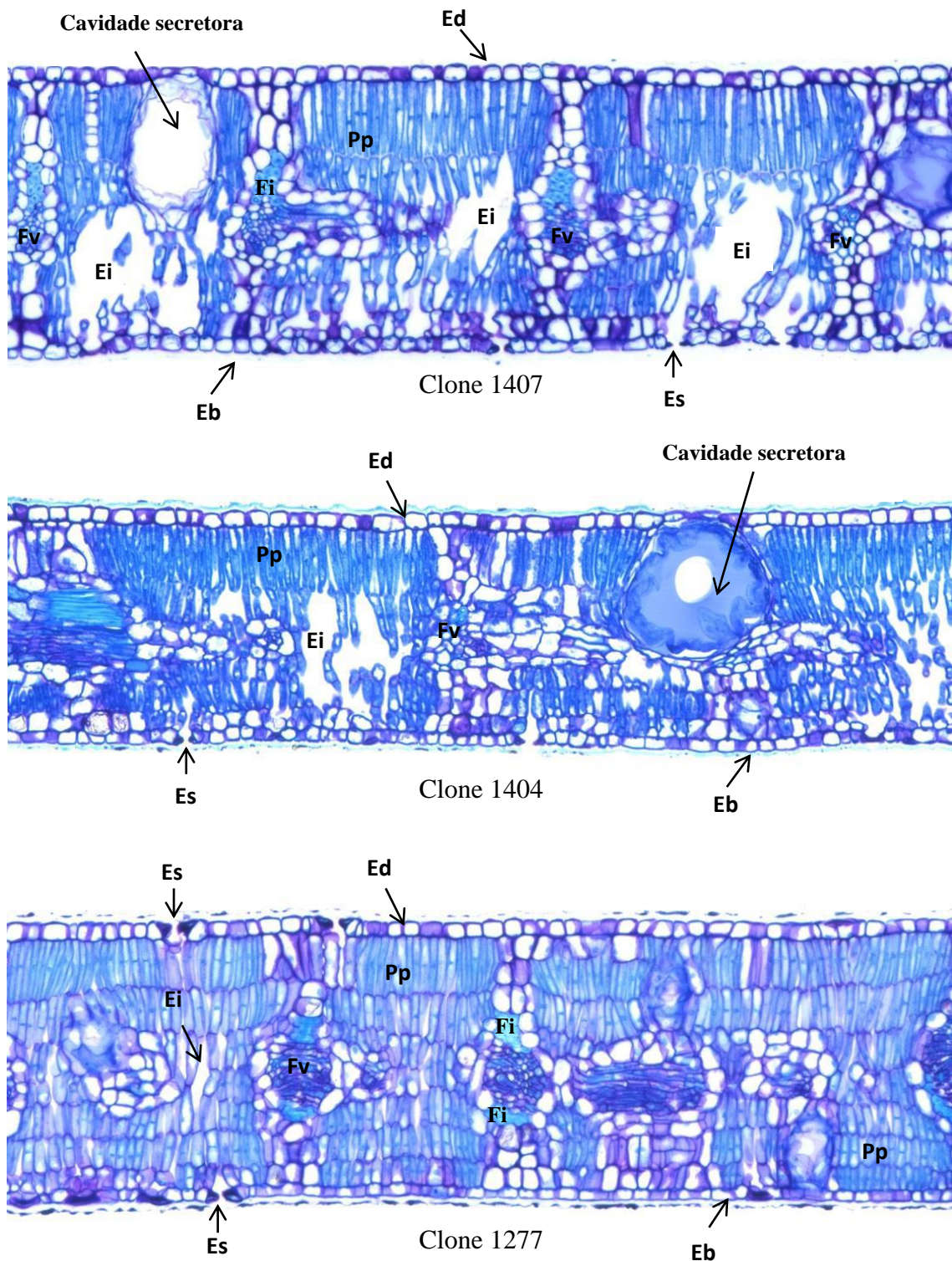


Figura 7 – Seções transversais (microscopia de luz) do limbo foliar localizadas na posição apical da copa em áreas com precipitação média anual de 900 mm dos clones considerados de baixa (1407), média (1404) e alta (1277) tolerância ao déficit hídrico. Ed = face adaxial da epiderme; Eb = face abaxial da epiderme; Es = estômato; Pp = parênquima paliçádico; Fv = feixe vascular; Fi = fibras; Ei = espaço intercelular.

4. CONCLUSÕES

1. A discriminação dos isótopos de C está associada à tolerância ao déficit hídrico em eucalipto.

2. O menor tempo de difusão do vapor d'água e menor espaço intercelular no mesofilo são características associadas à tolerância à seca em eucalipto.

3. Em regiões com déficit hídrico, as características morfológicas e anatômicas como a área foliar, espaços intercelulares do mesofilo e tempo de difusão são indicadores de tolerância ao estresse hídrico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTOS DE FLORESTAS PLANTADAS. *Anuário estatístico da ABRAF 2012* ano base 2011. Brasília: ABRAF, 2012. 150 p.

ARANDA, I.; ALÍA, R.; ORTEGA, U.; DANTAS, A. K.; MAJADA, J. Intra-specific variability in biomass partitioning and carbon isotopic discrimination under moderate drought stress in seedlings from four *Pinus pinaster* populations. *Tree Genetics & Genomes*, v. 6, p. 169-178, 2010.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: Recent advances. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 169-183, 2010.

BERNARDO, A. L.; REIS, M. G. R.; REIS, G. G.; HARRISON, R. B.; FIRME, D. J. Effect of spacing on growth and biomass distribution in *Eucalyptus camaldulensis*, *E. urophylla* plantations in southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management*, v. 104, p. 1-13, 1998.

BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, v. 112, p. 119-123, 2009.

BORTOLINI, F.; DALL'AGNOL, M.; BISSANI, C. A. Características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em sete genótipos da coleção nuclear de trevo branco. *Ciência Rural*, Santa Maria, *on-line*.

BURSSSENS, S.; HIMANEN, K.; van de COTTE, B.; BEECKMAN, T.; van MONTAGU, M.; INZÉ, D.; VERBRUGGEN, N. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Ciência*, v. 211, p. 632-640, 2000.

CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore submetidas a estresse hídrico. *Acta Bot. Bras.*, v. 18, n. 2, p. 241-251, 2004.

CAMPION, J. M.; NKOSANA, M.; SCHOLLES, M. C. Biomass and N and P pools in above- and below-ground components of an irrigated and fertilized *Eucalyptus grandis* stand in South Africa. *Australian Forestry*, v. 69, p. 48-57, 2006.

CAO, K.F. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Can. J. Bot.*, v. 78, p. 1245-1253, 2000.

CHAVES, J. H. *Crescimento, fotossíntese e relações hídricas de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos*. 2001. 106 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

CHEN, S.; BAI, Y.; LIN, G.; HUANG, J.; HAN, X. Isotopic carbon composition and related characters of dominant species along an environmental gradient in Inner Mongolia, China. *Journal and Arid Environments*, v. 71, p. 12-28, 2007.

- CONDON, A. G.; RICHARDS, R. A.; REBETZKE, G. J.; FARQUHAR, G. D. Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 407, p. 2447-2460, 2004.
- DONOVAN, L. A.; DUDLEY, S. A.; ROSENTHAL, D. M.; LUDWIG, F. Phenotypic selection on leaf water use efficiency and related ecophysiological traits for natural populations of desert sunflowers. *Oecologia*, v. 152, p. 13-25, 2007.
- DONOVAN, L. A.; EHLERINGER, J. R. Potential for selection on plants for water-use efficiency as estimated by carbon isotope discrimination. *American Journal of Botany*, v. 81, n. 7, p. 927-935, 1994.
- DUCREY, M.; HUC, R.; LADJAL, M.; GUEHL, J. M. Variability in growth, carbon isotope composition, leaf gas exchange and hydraulic traits in the eastern Mediterranean cedars *Cedrus libani* and *C. brevifolia*. *The Physiology*, v. 28, p. 689-701, 2008.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA SOLOS. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2. ed., Brasília: Embrapa, 2006. 306 p.
- FAHN, A.; CUTLER, D. *Xerophytes*. Berlin-Stuttgart: Gebruder Borntrauger, 1992. 176 p.
- FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v. 40, p. 503-507, 1989.
- GEBER, M. A.; DAWSON, T. D. Genetic variation in stomatal and biochemical limitations to photosynthesis in the annual plant, *Polygonum arenastrum*. *Oecologia*, v. 109, p. 535-546, 1997.
- GONÇALVES, M. R.; PASSOS, C. A. M. Crescimento de cinco espécies de eucalipto submetidas a déficit hídrico em dois níveis de fósforo. *Ciência Florestal*, v. 10, n. 2, p. 145-161, 2000.
- IMPA, S. M.; NADARADJAN, S.; BOOMINATHAN, P.; SHASHIDHAR, G.; BINDUMADHAVA, H.; SHESHAYEE, M. S. Carbon isotope discrimination accurately reflects variability in WUE measured at a whole plant level in rice. *Crop Science*, v. 45, p. 2517-2522, 2005.
- JACKSON, R. B.; SPERRY, J. S.; DAWSON, T. E. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends in Plant Sciences*, v. 5, 2000.
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill Book, 1940. 523 p.
- KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. Water stress. In: *The physiological ecology of woody plants*. New York: Academic Press, 1991. p. 248-302.

- LE ROUX, D.; STOCK, W. D.; BOND, W. J.; MAPHANGA, D. Dry mass allocation, water use efficiency and δ^{13} in clones of *Eucalyptus grandis*, *E. grandis* x *camaldulensis* and *E. grandis* x *nitens* grown under two irrigation regimes. *Tree Physiology*, v. 16, p. 497-502, 1996.
- LI, C. Population differences in water-use efficiency of *Eucalyptus microtheca* seedlings under different watering regimes. *Physiologia Plantarum*, n. 108, p. 134-139, 2000.
- MARTINS, M. O.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; AZEVEDO NETO, A. D.; SANTOS, M. G. Crescimento de plantas jovens de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss. – Meliaceae) sob diferentes regimes hídricos. *Revista Árvore*, Viçosa, MG, v. 34, p. 771-779, 2010.
- MONNEVEUX, P.; SHESHSHAYEE, M. S.; AKHTER, J.; RIBAUT, J.-M. Using carbon isotope discrimination to select maize (*Zea mays* L.) inbred lines and hybrids for drought tolerance. *Plant Science*, v. 173, p. 390-396, 2007.
- NUNES, F. N. *Crescimento e expressão gênica em clones de eucalipto influenciados pelo boro e déficit hídrico*. 65 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.
- OSÓRIO, J.; OSÓRIO, M. L.; CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S. Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, v. 18, p. 363-373, 1998.
- PARKHURST, D. F.; WONG, S. C.; FARQUHAR, G. D.; COWAN, I. R. Gradients of intercellular CO₂ levels across the leaf mesophyll. *Plant Physiology*, v. 86, p. 1032-1037, 1988.
- PENNINGTON, R.; TISCHLER, C. R.; JOHNSON, H. B.; POLLEY, H. W. Genetic variation for carbon isotope composition in honey mesquite (*Prosopis glandulosa*). *Tree Physiology*, v. 19, p. 583-589, 1999.
- PEREIRA, M. R. R.; KLAR, A. E.; SILVA, M. R.; SOUZA, R. A.; FONSECA, N. R. Comportamento fisiológico e morfológico de clones de *Eucalyptus urograndis* submetidos a diferentes níveis de água no solo. *Irriga*, Botucatu, v. 11, p. 518-531, 2006.
- PITA, P.; SORIA, F.; CAÑAS, I.; TOVAL, G.; PARDOS, J. A. Carbon isotope discrimination and its relationship to drought resistance under field conditions in genotypes of *Eucalyptus globulus* Labill. *Forest Ecology and Management*, v. 141, p. 211-221, 2001.
- PORTÉ, A.; LOUSTAU, D. Seasonal and interannual variation in carbon isotope discrimination in a maritime pine (*Pinus pinaster*) stand assessed from the isotopic composition of cellulose in annual rings. *Tree Physiology*, v. 21, p. 861-868, 2001.
- RHIZOPOULOU, S.; PSARAS, G. K. Development and structure of drought-tolerant leaves of the mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. *Annals of Botany*, v. 92, p. 377-383, 2003.

REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, A. M.; GOMES, A. N.; OLIVEIRA, C. H. R. Crescimento de raízes e da parte aérea 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. *Revista Árvore*, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006.

SILVA, H.; ACEVEDO, E.; SILVA, P. Anatomía del tejido fotossintético de diez taxa de *Opuntia* estabelecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 74, p. 341-351, 2001.

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

STILLER, W. N.; READ, J. J.; CONSTABLE, G. A.; REID, P. E. Selection for water use efficiency traits in a cotton breeding program: cultivar differences. *Crop Science*, v. 45, p. 1107-1113, 2005.

TATAGIBA, S. D. *Crescimento inicial, trocas gasosas e status hídrico de clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação*. 110 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006.

VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 16, p. 123-132, 2005.

YIN, C.; WANG, X.; DUAN, B.; LUO, J.; LI, C. Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environmental and Experimental Botany*, v. 53, p. 315-322, 2005.

ZAGDANSKA, B.; KOZDÓJ, J. Water stress-induced changes in morphology and anatomy of flag leaf of spring wheat. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, v. 63, p. 61-66, 1994.

ZHANG, J.; FINS, L.; MARSHALL, J. D. Stable carbon isotope discrimination, photosynthetic gas exchange, and growth differences among western larch families. *Tree Physiology*, v. 14, p. 531-539, 1994.