

LEONARDO ARAUJO OLIVEIRA

**ASPECTOS HIDRÁULICOS DA TOLERÂNCIA À SECA EM CLONES DE
EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins

Coorientadoras: Amanda Ávila Cardoso
Genaina Aparecida de Souza

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

O48a
2020
Oliveira, Leonardo Araujo, 1994-
Aspectos hidráulicos da tolerância à seca em clones de
eucalipto / Leonardo Araujo Oliveira. – Viçosa, MG, 2020.
86 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Análise foliar. 2. Folhas - Anatomia. 3. Eucaliptos -
Resistência à seca. 4. Potencial hídrico da folha. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa
de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22 ed. 575.57

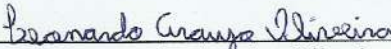
LEONARDO ARAUJO OLIVEIRA

**ASPECTOS HIDRÁULICOS DA TOLERÂNCIA À SECA EM CLONES DE
EUCALIPTO**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Leonardo Araujo Oliveira
Autor



Samuel Cordeiro Vitor Martins
Orientador

Aos meus familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

À minha mãe Marilza, meu padrasto José e minha irmã Letícia, pelo amor, carinho, apoio, compreensão e por estarem sempre ao meu lado.

Ao Professor Samuel Cordeiro Vitor Martins, pela amizade e orientação.

Às minhas coorientadoras Amanda e Genaina pelo convívio, apoio, compreensão e amizade tão importantes.

Aos meus amigos Talitha Pereira, Moab Andrade, Ramon Badaró e Cleiton de Paula pela ajuda direta e companheirismo ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos demais companheiros de laboratório por todo companheirismo e momentos de descontração.

A todos os colegas dos demais laboratórios da Fisiologia que de alguma forma fizeram parte desta jornada.

A todos os professores que foram responsáveis pelo meu crescimento intelectual.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela infraestrutura e suporte.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do curso tanto de graduação, quanto de mestrado, contribuindo na melhoria de minha formação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Projeto Tolerância à seca pelo fornecimento de recursos para o desenvolvimento do trabalho.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente, colaboraram na realização deste trabalho e em minha jornada na universidade.

“Não há nada impossível; há só vontades mais ou menos enérgicas”.

(Júlio Verne)

RESUMO

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Aspectos hidráulicos da tolerância à seca em clones de eucalipto.** Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Coorientadoras: Amanda Ávila Cardoso e Genaina Aparecida de Souza.

A intensidade e a frequência das secas têm aumentado globalmente a mortalidade de árvores nos últimos anos. Assim, compreender quais características da planta são responsáveis por conferir maior tolerância à seca é de extrema importância, tanto para prever o que pode ocorrer em ambientes naturais, quanto para aumentar a eficiência na seleção de genótipos mais aptos a sobreviver sob déficit hídrico. Uma vez que as características hidráulicas estão intimamente ligadas à sobrevivência de espécies sob seca, selecionamos clones de eucalipto contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico para a realização dos experimentos. Esses clones foram escolhidos com base em um ranking de campo fundamentado em parâmetros de crescimento e sobrevivência durante um período de seca severa. No primeiro capítulo, foram utilizados três clones cultivados em casa de vegetação em condições de boa disponibilidade hídrica pelo período de sete meses, sendo eles classificados como tolerante, intermediário e sensível quanto à seca. O objetivo foi testar se a tolerância à seca pode ser explicada pela vulnerabilidade à cavitação nas folhas e se existe uma sequência de eventos fisiológicos durante a desidratação foliar que possa ser utilizada para encontrar preditores correlacionados com a vulnerabilidade. No segundo capítulo, foram utilizados quatro clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação em condições de boa disponibilidade hídrica e sob redução de 40% da disponibilidade hídrica durante um período de seis meses. Posteriormente, a irrigação foi suspensa no tratamento sob déficit, para expor as plantas ao potencial hídrico (Ψ_w) responsável por 50 e 88% da área cumulativa de embolismo quando foram então reidratadas. O foco foi compreender como a plasticidade fenotípica em características de relações hídricas, trocas gasosas e anatomia foliar influenciam na tolerância à seca. O clone tolerante à seca apresentou menor vulnerabilidade à cavitação e todos os clones apresentaram fechamento estomático completo antes de serem observados embolismo e perda de capacidade de reidratação, indicando que o fechamento estomático atua na proteção da folha contra a falha hidráulica. Além disso, foi encontrado uma sequência de eventos fisiológicos durante o processo de desidratação foliar, que permitiu encontrar características (Ψ_w em 12% de perda de capacidade de reidratação, por exemplo) que podem ser sugeridas como preditores da tolerância à seca em clones de eucalipto. Além disso, foram observadas mudanças morfológicas, anatômicas e

fisiológicas em folhas de plantas sob déficit hídrico, como o aumento pronunciado na eficiência intrínseca do uso da água e redução dos diâmetros hidráulicos na nervura central e pecíolo. No entanto, todos os quatro clones responderam de forma semelhante, não sendo possível encontrar características de folhas individuais que expliquem a tolerância à seca diferencial entre eles. Adicionalmente, foram observadas variações muito grandes no padrão de mortalidade de folhas dentro do dossel das plantas. O clone tolerante apresentou menor depauperamento, perdendo apenas as folhas mais velhas e, portanto, protegendo as zonas de crescimento, potencialmente facilitando o reestabelecimento de um novo dossel após reidratação.

Palavras-chave: Anatomia foliar. Capacidade de reidratação foliar. Embolismo do xilema. Hidráulica de folhas. Mortalidade de folhas. Plasticidade fenotípica.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Hydraulic aspects of drought tolerance in eucalyptus clones.** Adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Co-advisers: Amanda Ávila Cardoso and Genaina Aparecida de Souza.

Increments in the intensity and frequency of drought events across the globe have resulted in increases in tree mortality in the past years. Understanding the fundamental traits that are responsible for plant drought tolerance is of paramount importance in order both to predict what may occur in natural environments, and to increase the efficiency for the selection of genotypes better adapted to grow and survive upon water deficit. Given that hydraulic traits are closely associated with plant survival during drought, we selected eucalyptus clones with contrasting drought tolerance to perform our experiments. These clones were chosen using a field ranking based on growth and survival during a severe drought event. In the first chapter, three clones (classified as tolerant, intermediate and sensitive to drought) were cultivated under well-watered conditions for seven months in a greenhouse. The aim of this chapter was to observe whether the drought tolerance could be explained by the leaf cavitation vulnerability, and whether there was a sequence of physiological events during the leaf dehydration that could potentially be used as predictors for drought vulnerability. In the second chapter, four eucalyptus clones were cultivated under either well-watered or water-limited (40% reduction in water availability) conditions over a six-month period in a greenhouse. Next, the irrigation was suspended for the water-limited plants in order to expose them to water potentials (Ψ_w) at 50 and 88% of the embolized xylem area. After that, they were rehydrated. The focus was to understand how the phenotypic plasticity in water relations, gas exchange and leaf anatomy influence the plant drought tolerance. The drought-tolerant clone was less vulnerable to cavitation, and all clones had complete stomatal closure before embolism and loss of rehydration capacity were observed, indicating that the stomatal closure acts to protect the leaf against hydraulic failure. In addition, a sequence of physiological events was found during the leaf dehydration process, which allowed us to find characteristics (e.g. Ψ_w at 12% loss of rehydration capacity) that can be suggested as predictors of drought tolerance in clones of eucalyptus. In addition, morphological, anatomical and physiological changes were observed in leaves of plants under water deficit, such as a pronounced increase in the intrinsic efficiency of water use and a reduction in hydraulic diameters in the leaf midrib and petiole. However, all four clones responded similarly to water-limitation, and it was not possible to find individual leaf characteristics that could explain the differential drought tolerance among them. In

addition, very large variations were observed in the pattern of leaf mortality across the canopy. The tolerant clone exhibited less mortality of leaves, losing only the oldest leaves and, therefore, protecting the growth zones, which potentially facilitates the reestablishment of a new flush after rehydration.

Keywords: Leaf anatomy. Leaf rehydration capacity. Xylem embolism. Leaf hydraulics. Leaf mortality. Phenotypic plasticity.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A = taxa fotossintética líquida

A/g_s = eficiência intrínseca do uso da água

AF = área foliar unitária

AFE = área foliar específica

AL = altura da planta

CI = clone de tolerância intermediária ao déficit hídrico

C_i = concentração interna foliar de CO_2

C_{PP} = capacitância foliar pré-perda de turgor

C_{PPT} = capacitância foliar pós-perda de turgor

CS = clone sensível ao déficit hídrico

CT = clone tolerante ao déficit hídrico

$CT2$ = clone tolerante ao déficit hídrico 2

D = diâmetro do caule

DE_{Ab} = densidade estomática da face abaxial

DE_{Ad} = densidade estomática da face adaxial

DE_T = densidade estomática total

$Dh_{Máximo}$ = diâmetro hidráulico máximo dos vasos do xilema

$Dh_{Médio}$ = diâmetro hidráulico médio dos vasos do xilema

Dh_{Sperry} = diâmetro hidráulico de Sperry dos vasos do xilema

DP_{Ab} = diâmetro polar do estômato da face abaxial

DP_{Ad} = diâmetro polar do estômato da face adaxial

DV = densidade de venação

ε = módulo de elasticidade

E = transpiração foliar

EE = extravasamento de eletrólitos

ELF = espessura do limbo foliar

F_v/F_{m12} e F_v/F_{m50} = 12 e 50% do rendimento quântico máximo do fotossistema II

g_{min} = condutância foliar mínima

g_s = condutância estomática

K_{folha} = condutância hidráulica foliar

K_t = condutância hidráulica teórica

MSH_{50} e MSH_{88} = Margem de segurança hidráulica

NR = número de ramos

NV = número de vasos do xilema

P_{12} , P_{50} e P_{88} = potencial hídrico responsável por 12, 50 e 88 % da área cumulativa de embolismo, respectivamente

PF = Plasticidade fenotípica

PP/PL = razão entre o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso

$PPCR_{12}$ e $PPCR_{50}$ = 12 e 50 % da perda percentual da capacidade de reidratação, respectivamente

R_d = respiração no escuro

$(t/b)^3$ = razão entre a espessura da parede do xilema (t) e diâmetro do lúmen do xilema (b)

TRA = teor relativo de água

TRA_{12} , TRA_{50} e TRA_{88} = teor relativo de água para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo

TRA_{PPT} = teor relativo de água no ponto de perda de turgor

V_{cmax} = velocidade máxima de carboxilação

$\Psi_{gs\text{ fechamento}}$ = potencial hídrico correspondente ao fechamento estomático

Ψ_{PPT} = potencial hídrico de perda do turgor foliar

Ψ_{100} = potencial osmótico em turgescência plena

Ψ_w = potencial hídrico foliar

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	13
2.	REFERÊNCIAS	16
	CAPÍTULO 1 - CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS FOLIARES EM EUCALIPTO	20
1.	INTRODUÇÃO	23
2.	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.	RESULTADOS	32
4.	DISCUSSÃO	33
5.	REFERÊNCIAS	37
6.	TABELAS	42
7.	LEGENDAS DAS FIGURAS	45
8.	FIGURAS	46
9.	MATERIAL SUPLEMENTAR	51
	CAPÍTULO 2 - PLASTICIDADE FENOTÍPICA DE FOLHAS DE EUCALIPTO SOB DÉFICIT HÍDRICO	53
1.	INTRODUÇÃO	56
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	58
3.	RESULTADOS	63
4.	DISCUSSÃO	65
5.	REFERÊNCIAS	69
6.	TABELAS	75
7.	LEGENDAS DAS FIGURAS	78
8.	FIGURAS	80

1. INTRODUÇÃO GERAL

A disponibilidade de água é crítica para a sobrevivência das plantas e, devido às mudanças climáticas (Pfausch *et al.*, 2016), várias áreas no globo poderão ter o seu balanço hídrico afetado. Com essas mudanças, espera-se que os sistemas tropicais experimentem aquecimento, modificação nos padrões de precipitação, aumento da evaporação, além de maior frequência de eventos extremos de seca (Allen *et al.*, 2010; Dai 2011, 2013; Cook *et al.*, 2014; Basu *et al.*, 2016; Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016). Particularmente, o aumento na intensidade e frequência das secas tem aumentado globalmente a mortalidade das árvores nos últimos anos (Allen *et al.*, 2010; Adams *et al.*, 2017; Trueba *et al.*, 2017). Este aumento da mortalidade geralmente ocorre após uma única seca severa, ou resulta da ocorrência de secas repetidas ao longo de anos ou décadas (Meir *et al.*, 2015), sendo responsável por reduzir a produtividade primária líquida e a quantidade de carbono armazenada nos ecossistemas terrestres (Ambriz-González *et al.*, 2009; Zhao e Running 2010; Malhi *et al.*, 2015; Cavaleri *et al.*, 2017; Esquivel-Muelbert *et al.*, 2017).

Para enfrentar os desafios associados às mudanças climáticas globais, é fundamental conhecer a resposta das plantas à seca para gerar modelos de previsão (Allen *et al.*, 2015; Adams *et al.*, 2017). Porém, a implementação desses modelos é dificultada devido à falta de informações consistentes sobre os mecanismos de morte nos modelos de vegetação (Mackay *et al.*, 2015). A princípio, para compreender os mecanismos que causam a mortalidade das plantas frente à seca, são necessários estudos individuais que permitam a derivação dos fatores de risco e previsões da mortalidade das plantas em escalas maiores (Hartmann *et al.*, 2018). Grandes avanços foram feitos para entender as razões pelas quais as árvores morrem quando submetidas à seca e, atualmente, os dois principais mecanismos que explicam a mortalidade de árvores frente a eventos de seca são direta ou indiretamente relacionados ao sistema hidráulico das plantas (McDowell *et al.*, 2008; Anderegg *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2017). O primeiro mecanismo é chamado de “falha hidráulica” e acontece quando o potencial hídrico (Ψ_w) no xilema alcança nível suficiente para causar 88% de perda da capacidade de transporte de água (P_{88}) do caule em angiospermas (Barigah *et al.*, 2013; Ulri *et al.*, 2013). O segundo mecanismo é chamado de “fome de carbono” e acontece, *a priori*, para evitar a falha hidráulica: os estômatos se fecham para diminuir a taxa transpiratória da planta (aliviando assim a tensão no xilema), mas acabam por reduzir também a assimilação de CO₂ levando, com o tempo, à depleção das reservas internas até o ponto em que a planta morreria por inanição ou ataque de agentes bióticos (McDowell *et al.*, 2008). No entanto, a maioria das meta-análises realizadas

até o momento tem encontrado mais evidências para a ocorrência da falha hidráulica do que da fome de carbono (Anderegg *et al.*, 2016, Adams *et al.*, 2017).

O mecanismo de ascensão de água nas plantas envolve o transporte de água sob tensão, em um estado metaestável, i.e., propenso ao fenômeno de cavitação (quebra da coluna de água) (Tyree e Ewers, 1991; Baas *et al.*, 2004) e subsequente formação de embolismos que comprometem a funcionalidade dos vasos do xilema (Chaves *et al.*, 2003; Brodribb e Cochard, 2009). As espécies diferem quanto a sua vulnerabilidade à cavitação, sendo que é esperado que espécies altamente tolerantes à seca apresentem baixa vulnerabilidade (Maherali *et al.*, 2004). Apesar de a variação interespecífica ser substancial e ter significado ecológico, poucos estudos quantificaram a variação intraespecífica da vulnerabilidade do xilema (Maherali e DeLucia 2000; Martínez-Vilalta *et al.*, 2009; López *et al.*, 2013; Lucani *et al.*, 2019) e evidências sugerem que a plasticidade nessa característica pode ser significativa e ter valor adaptativo (Anderegg 2014). Até o momento, a maioria dos estudos sobre mortalidade de árvores e sua associação com vulnerabilidade à cavitação foi feita com espécies nativas e em ecossistemas naturais; no entanto, pouco se conhece sobre essas relações em espécies de importância econômica. No Brasil, o eucalipto (*Eucalyptus* spp.) é uma cultura perene economicamente importante, destinada principalmente à produção de celulose, papel, painéis de madeira, carvão vegetal e biomassa (IBÁ, 2017). A área com cobertura de eucalipto corresponde a 75% das florestas plantadas para fins comerciais, totalizando uma área de 7,4 milhões de hectares (IBGE, 2017). A resposta à seca varia significativamente entre espécies, genótipos, híbridos e clones (Saadaoui *et al.*, 2017) e, até o presente momento, estudos da fisiologia do eucalipto sob seca, incluindo estudos hidráulicos, foram feitos principalmente com espécies que não são cultivadas comercialmente no país, como *E. sideroxylon*, *E. teriticornis*, *E. viminalis*, *E. largiflorens*, *E. regnans*, *E. smithii*, *E. radiata*, *E. blakelyi*, *E. macrorhyncha*, *E. populnea* e *E. lesouefii* (Mitchell *et al.*, 2013; Pfaustch *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018; Blackman *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019). Sabendo que há evidências de que as características hidráulicas estão intimamente ligadas à sobrevivência e distribuição de espécies de eucalipto (Lucani *et al.*, 2019), torna-se necessário ampliar o conhecimento sobre o comportamento hidráulico dos materiais genéticos utilizados no país, que consistem principalmente em *E. urophylla*, *E. grandis* e seus híbridos.

Segundo Pfaustch *et al.*, (2016), o gênero *Eucalyptus* é ideal para investigar a adaptação climática em características vasculares, por apresentar uma longa história evolutiva e diversidade de ambientes onde podem ser encontrados. Em trabalho utilizando madeira coletada

de 28 espécies de eucalipto, distribuídas em um amplo gradiente de aridez em toda a Austrália, Pfaustch *et al.*, (2016) relatou que a arquitetura hidráulica reflete a variação adaptativa desse gênero em resposta à variação do clima. Sob condições de limitação de água, a seleção de materiais deve favorecer genótipos que desenvolvem características hidraulicamente mais seguras, aumentando assim sua margem de segurança hidráulica. Esse aumento coincide principalmente com alta frequência relativa de elementos de vasos com diâmetro reduzido (Wheeler *et al.*, 2007; Sperry *et al.*, 2008; Brodribb *et al.*, 2012), que aumenta a tolerância à alta tensão do xilema (Moles *et al.*, 2009; Carlquist 2012), mas, em contra partida, incorre em baixa condutividade do dossel e absorção limitada de CO₂ (Santiago *et al.*, 2004; Poorter *et al.*, 2010). Em estudo realizado com *E. globulus* e *E. smithii*, Mitchell *et al.*, (2013) descreveram que o eucalipto tem uma estratégia do tipo resiliência, em que a perda rápida da função hidráulica significa que elas sucumbem rapidamente à seca, mas que, sob condições não letais, as plantas têm o potencial de se recuperar construindo novas vias hidráulicas e folhas mediante utilização de suas reservas remanescentes de carboidratos. Até o momento, não se sabe até onde estas conclusões podem ser extrapoladas; sendo assim, é de extrema importância que sejam realizados trabalhos utilizando *E. urophylla*, *E. grandis* e seus híbridos, principalmente quando se consideram as particularidades desses genótipos, como o rápido crescimento de *E. grandis* e a maior tolerância à seca de *E. urophylla* (Kullan *et al.*, 2012).

O risco de mortalidade frente à seca pode ser importante no Brasil, haja vista que boa parte das áreas de plantio estão localizadas em regiões sujeitas a déficit hídrico prolongado. Além disso, espécies de eucalipto são caracterizadas por altas taxas de crescimento e uso de água, levando ao rápido esgotamento da água do solo (Mitchell *et al.*, 2013). Barros-Filho (2014) relatou que, após eventos de seca severa em 2007, houve mortalidade diferencial de clones de eucalipto em áreas em expansão no Norte de Minas Gerais. Essa observação evidencia dois pontos críticos para o setor florestal: o perigo iminente de mortalidade frente à seca e a existência de variabilidade genética na tolerância à seca em eucalipto. Portanto, surge a necessidade de abordagens para seleção de materiais mais promissores para plantios onde o risco de períodos de seca pode se tornar crescente com os cenários futuros de mudanças climáticas. Assim, estudos visando à seleção precoce de materiais genéticos de eucalipto com base em indicadores mais estáveis são de grande relevância. Recentemente, diversas metodologias têm permitido a avaliação da vulnerabilidade hidráulica de forma mais confiável e tem-se buscado a melhor compreensão dos seus fatores determinantes, sejam eles fisiológicos e/ou anatômicos. Portanto, este estudo buscou caracterizar a vulnerabilidade hidráulica em

clones de eucalipto, avaliar o impacto da exposição das plantas a tensões no xilema suficientes para causar níveis de embolismo significativos nas folhas, aumentando a compreensão acerca do que ocorre durante o processo de desidratação foliar e procurar características de trocas gasosas, relações hídricas e anatomia foliar que possam ser utilizadas para discriminar materiais mais tolerantes às condições de seca.

2. REFERÊNCIAS

- Adams, H. D., Zeppel, M. J., Anderegg, W. R., Hartmann, H., Landhäusser, S. M., Tissue, D. T., ... & Anderegg, L. D. (2017). A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology & Evolution*, 1(9), 1285-1291.
- Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., ... & Gonzalez, P. (2010). A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management*, 259(4), 660-684.
- Allen, C. D., Breshears, D. D., & McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1-55.
- Ambroz-González, G., Lewis, A. L., Zelazowski, P., Pitman, N. C., Fisher, M. B., Baker, R. T., ... & Czimczik, C. I. (2009). Drought sensitivity of the Amazon rainforest. *Science* (New York, NY).
- Anderegg, W. R. (2014). Spatial and temporal variation in plant hydraulic traits and their relevance for climate change impacts on vegetation. *New Phytologist*, 205(3), 1008-1014.
- Anderegg, W. R., Schwalm, C., Biondi, F., Camarero, J. J., Koch, G., Litvak, M., ... & Wolf, A. (2015). Pervasive drought legacies in forest ecosystems and their implications for carbon cycle models. *Science*, 349(6247), 528-532.
- Baas, P., Ewers, F. W., Davis, S. D., & Wheeler, E. A. (2004). Evolution of xylem physiology. In *The evolution of plant physiology* (pp. 273-295). Academic Press.
- Barigah, T. S., Charrier, O., Douris, M., Bonhomme, M., Herbette, S., Améglio, T., ... & Cochard, H. (2013). Water stress-induced xylem hydraulic failure is a causal factor of tree mortality in beech and poplar. *Annals of botany*, 112(7), 1431-1437.
- de Barros Filho, N. F. (2014). Discriminação isotópica do ^{13}C e nutrição com cálcio e boro em clones de eucalipto submetidos ao déficit hídrico (Doctoral dissertation, Universidade Federal de Viçosa).
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5.
- Blackman, C. J., Creek, D., Maier, C., Aspinwall, M. J., Drake, J. E., Pfautsch, S., ... & Choat, B. (2019). Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree physiology*, 39(6), 910-924.

- Brodribb, T. J., & Cochard, H. (2009). Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology*, 149(1), 575-584.
- Brodribb, T. J., Pittermann, J., & Coomes, D. A. (2012). Elegance versus speed: examining the competition between conifer and angiosperm trees. *International Journal of Plant Sciences*, 173(6), 673-694.
- Carlquist, S. (2012). How wood evolves: a new synthesis. *Botany*, 90(10), 901-940.
- Cavaleri, M. A., Coble, A. P., Ryan, M. G., Bauerle, W. L., Loescher, H. W., & Oberbauer, S. F. (2017). Tropical rainforest carbon sink declines during El Niño as a result of reduced photosynthesis and increased respiration rates. *New Phytologist*, 216(1), 136-149.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3), 239-264.
- Cook, B. I., Smerdon, J. E., Seager, R., & Coats, S. (2014). Global warming and 21 st century drying. *Climate Dynamics*, 43(9-10), 2607-2627.
- Dai, A. (2011). Drought under global warming: a review. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, 2(1), 45-65.
- Dai, A. (2013). Increasing drought under global warming in observations and models. *Nature Climate Change*, 3(1), 52-58.
- Esquivel-Muelbert, A., Galbraith, D., Dexter, K. G., Baker, T. R., Lewis, S. L., Meir, P., ... & Phillips, O. L. (2017). Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Hartmann, H., Moura, C. F., Anderegg, W. R., Ruehr, N. K., Salmon, Y., Allen, C. D., ... & Ruthrof, K. X. (2018). Research frontiers for improving our understanding of drought-induced tree and forest mortality. *New Phytologist*, 218(1), 15-28.
- Relatório, I. B. Á. (2017). Indústria brasileira de árvores. Brasília, 80p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Produção da extração vegetal e da silvicultura – PEVS. Series históricas, 2017. https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/15f538e9095614fc3204f828b22fa714.pdf. 29 Jan. 2019.
- Jiménez-Muñoz, J. C., Mattar, C., Barichivich, J., Santamaría-Artigas, A., Takahashi, K., Malhi, Y., ... & Van Der Schrier, G. (2016). Record-breaking warming and extreme drought in the Amazon rainforest during the course of El Niño 2015–2016. *Scientific Reports*, 6, 33130.
- Kullan, A. R. K., Van Dyk, M. M., Hefer, C. A., Jones, N., Kanzler, A., & Myburg, A. A. (2012). Genetic dissection of growth, wood basic density and gene expression in interspecific backcrosses of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. *BMC Genetics*, 13(1), 60.
- Li, X., Blackman, C. J., Choat, B., Duursma, R. A., Rymer, P. D., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2018). Tree hydraulic traits are coordinated and strongly linked to climate-of-origin across a rainfall gradient. *Plant, Cell & Environment*, 41(3), 646-660.
- Li, X., Blackman, C. J., Peters, J. M., Choat, B., Rymer, P. D., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2019). More than iso/anisohydry: hydroscares integrate plant water use and drought

- tolerance traits in 10 eucalypt species from contrasting climates. *Functional Ecology*, 33(6), 1035-1049.
- López, R., López de Heredia, U., Collada, C., Cano, F. J., Emerson, B. C., Cochard, H., & Gil, L. (2013). Vulnerability to cavitation, hydraulic efficiency, growth and survival in an insular pine (*Pinus canariensis*). *Annals of Botany*, 111(6), 1167-1179.
- Lucani, C. J., Brodribb, T. J., Jordan, G., & Mitchell, P. J. (2019). Intraspecific variation in drought susceptibility in *Eucalyptus globulus* is linked to differences in leaf vulnerability. *Functional Plant Biology*, 46(3), 286-293.
- Mackay, D. S., Roberts, D. E., Ewers, B. E., Sperry, J. S., McDowell, N. G., & Pockman, W. T. (2015). Interdependence of chronic hydraulic dysfunction and canopy processes can improve integrated models of tree response to drought. *Water Resources Research*, 51(8), 6156-6176.
- Maherali, H., & DeLucia, E. H. (2000). Interactive effects of elevated CO₂ and temperature on water transport in ponderosa pine. *American Journal of Botany*, 87(2), 243-249.
- Maherali, H., Pockman, W. T., & Jackson, R. B. (2004). Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology*, 85(8), 2184-2199.
- Malhi, Y., Doughty, C. E., Goldsmith, G. R., Metcalfe, D. B., Girardin, C. A., Marthews, T. R., ... & da Costa, A. C. (2015). The linkages between photosynthesis, productivity, growth and biomass in lowland Amazonian forests. *Global Change Biology*, 21(6), 2283-2295.
- Martínez-Vilalta, J., Cochard, H., Mencuccini, M., Sterck, F., Herrero, A., Korhonen, J. F. J., ... & Ripullone, F. (2009). Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytologist*, 184(2), 353-364.
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., ... & Yezzer, E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. *New Phytologist*, 178(4), 719-739.
- Meir, P., Mencuccini, M., & Dewar, R. C. (2015). Drought-related tree mortality: addressing the gaps in understanding and prediction. *New Phytologist*, 207(1), 28-33.
- Mitchell, P. J., O'Grady, A. P., Tissue, D. T., White, D. A., Ottenschlaeger, M. L., & Pinkard, E. A. (2013). Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. *New Phytologist*, 197(3), 862-872.
- Moles, A. T., Warton, D. I., Warman, L., Swenson, N. G., Laffan, S. W., Zanne, A. E., ... & Leishman, M. R. (2009). Global patterns in plant height. *Journal of Ecology*, 97(5), 923-932.
- Pfautsch, S., Harbusch, M., Wesolowski, A., Smith, R., Macfarlane, C., Tjoelker, M. G., ... & Adams, M. A. (2016). Climate determines vascular traits in the ecologically diverse genus *Eucalyptus*. *Ecology Letters*, 19(3), 240-248.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J. C., Peña-Claros, M., ... & Sass-Klaassen, U. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist*, 185(2), 481-492.

- Saadaoui, E., Yahia, K. B., Dhahri, S., Jamaa, M. L. B., & Khouja, M. L. (2017). An overview of adaptative responses to drought stress in *Eucalyptus* spp. *Forestry Studies*, 67(1), 86-96.
- Santiago, L. S., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Fisher, J. B., Machado, K., Woodruff, D., & Jones, T. (2004). Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia*, 140(4), 543-550.
- Sperry, J. S., Meinzer, F. C., & McCulloh, K. A. (2008). Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell & Environment*, 31(5), 632-645.
- Trueba, S., Pouteau, R., Lens, F., Feild, T. S., Isnard, S., Olson, M. E., & Delzon, S. (2017). Vulnerability to xylem embolism as a major correlate of the environmental distribution of rain forest species on a tropical island. *Plant, Cell & Environment*, 40(2), 277-289.
- Tyree, M. T., & Ewers, F. W. (1991). The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*, 119(3), 345-360.
- Urli, M., Porté, A. J., Cochard, H., Guengant, Y., Burlett, R., & Delzon, S. (2013). Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology*, 33(7), 672-683.
- Wheeler, E. A., Baas, P., & Rodgers, S. (2007). Variations in dieot wood anatomy: a global analysis based on the Insidewood database. *Iawa Journal*, 28(3), 229-258.
- Zhao, M., & Running, S. W. (2010). Drought-induced reduction in global terrestrial net primary production from 2000 through 2009. *Science*, 329(5994), 940-943.

**CAPÍTULO 1 - CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS FOLIARES EM CLONES DE
EUCALIPTO**

RESUMO

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Características hidráulicas foliares de eucalipto**. Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Coorientadores: Amanda Ávila Cardoso e Genaina Aparecida de Souza.

A mortalidade de árvores frente aos avanços das mudanças climáticas globais vem sendo cada vez mais observada nos últimos anos, constituindo um grande problema para ecossistemas naturais e agrícolas. Este estudo objetivou compreender se a tolerância diferencial à seca em clones de eucalipto pode ser explicada pela vulnerabilidade à cavitação e se existem eventos fisiológicos de fácil mensuração durante a desidratação foliar que sejam correlacionados com tal vulnerabilidade. Também foram medidos os principais determinantes anatômicos associados à vulnerabilidade hidráulica. Para tal, foram utilizados três clones de eucalipto contrastantes quanto sua tolerância à seca, cultivados em vasos de 20 L em casa de vegetação por um período de sete meses antes do início das avaliações. Esses clones foram escolhidos a partir de um ranking de campo baseado em parâmetros de crescimento e sobrevivência durante um período de seca severa. Dentre os eventos fisiológicos, foram avaliados os processos de perda de capacidade de reidratação, potencial hídrico no ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT}) e rendimento quântico máximo do fotossistema II. O clone tolerante à seca apresentou menor vulnerabilidade à cavitação, a qual foi associada à maior espessura das paredes dos vasos do xilema. Durante a desidratação foliar, ocorreu uma sequência orquestrada de eventos fisiológicos: fechamento estomático completo ($\Psi_{gs \text{ fechamento}}$), ponto de perda do turgor, início do embolismo (P_{12}), falha hidráulica moderada (P_{50}), leve perda de capacidade de reidratação foliar ($PPCR_{12}$), falha hidráulica (P_{88}), dano fotoquímico leve ((F_v/F_{m12})), elevada perda da capacidade de reidratação ($PPCR_{50}$), e dano fotoquímico severo ((F_v/F_{m50})). Nossos resultados sugerem que o P_{50} e a margem de segurança hidráulica ($\Psi_{gs \text{ fechamento}} - P_{50}$) podem ser utilizados como preditores de tolerância à seca em clones de eucalipto. Além disso, sugerimos que o $PPCR_{12}$ pode ser utilizada como um proxy para a falha hidráulica das folhas, o que torna esta característica adequada para programas de melhoramento, pois pode ser facilmente obtida.

Palavras-chave: capacidade de reidratação foliar, embolismo do xilema, estresse hídrico, fechamento estomático, hidráulica de folhas.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Leaf hydraulic characteristics of eucalyptus**. Adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Co-advisers: Amanda Ávila Cardoso e Genaina Aparecida de Souza.

Events of drought-induced mortality of trees have increased considerably in the past years, and they constitute an important issue for natural and cultivated systems. This study aimed to better understand whether the contrasting drought tolerance among eucalyptus clones could be explained by their leaf xylem vulnerability to cavitation, and whether an orchestrated sequence of physiological events during leaf dehydration can be utilized to find proxies for such xylem vulnerability. We also determined the main foliar anatomical traits associated with hydraulic vulnerability as well as physiological process such as losses in the leaf capacity to rehydration, leaf turgor loss point (Ψ_{TLP}) and maximum quantum efficiency of photosystem II. The eucalyptus clone with greater drought tolerance presented the lower leaf hydraulic vulnerability to cavitation, which was associated to a higher cell wall thickness of xylem conduits. As leaves dehydrated, an orchestrated sequence of physiological events occurred: complete stomatal closure ($\Psi_{gs\ close}$), turgor loss point, onset embolism (P_{12}), moderate hydraulic failure (P_{50}), mild losses of the leaf capacity to rehydration ($PPCR_{12}$), hydraulic failure (P_{88}), mild photochemical damage (F_v/F_{m12}), severe losses of the leaf capacity to rehydration ($PPCR_{50}$), and severe photochemical damage (F_v/F_{m50}). Our findings implicate that the P_{50} and the hydraulic security margin ($\Psi_{gs\ close} - P_{50}$) can be utilized as proxies for the drought tolerance of eucalyptus clones. Moreover, we suggest that the $PPCR_{12}$ can be utilized as a proxy for leaf hydraulic failure, which renders this trait suitable for breeding programs as it can be easily obtained.

Key words: foliar capacity of rehydration, xylem embolism, drought stress, stomatal closure, leaf hydraulics.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas globais têm alterado diversas condições ambientais e, dentre estas, os aumentos na temperatura média e na incidência e severidade de eventos de seca são especialmente prejudiciais às plantas (Trenberth *et al.*, 2014). O déficit hídrico no solo leva à redução gradual no potencial hídrico (Ψ_w) da planta, acompanhada por uma sequência orquestrada de alterações na funcionalidade do vegetal (Creek *et al.*, 2019; Trueba *et al.*, 2019). Uma das alterações mais marcantes é o rápido fechamento estomático, resultando em considerável redução nas taxas transpiratórias foliares visando à economia hídrica e à manutenção da tensão do xilema em níveis seguros (Brodrribb e Holbrook, 2004; Hochberg, *et al.*, 2017; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Creek *et al.*, 2019).

O aumento nos eventos de seca já faz com que muitos ecossistemas apresentem maior frequência de mortalidade de árvores em diversas regiões do mundo (Ciais *et al.*, 2005; Allen *et al.*, 2010; Carnicer *et al.*, 2011). Dentre os diversos fatores fisiológicos causadores da mortalidade de plantas durante eventos de seca prolongada, pode-se citar a fome de carbono devido às reduções nas taxas fotossintéticas (A) resultantes do fechamento estomático (McDowell *et al.*, 2008) e, principalmente, a completa falha do sistema hidráulico, resultante de altas taxas de embolismo no xilema (Brodrribb e Cochard 2009; Urli *et al.*, 2013; Adams *et al.*, 2017; Choat *et al.*, 2018). O mecanismo de ascensão de água nas plantas envolve o transporte de água sob tensão, em um estado metaestável (Tyree e Ewers, 1991). Durante eventos de seca ocorre redução da disponibilidade hídrica do solo, sendo necessária a geração de tensão no xilema cada vez maior para a extração de água. No entanto, a tensão pode alcançar nível suficientemente altos para indução do processo de cavitação (quebra da coluna de água) (Sperry e Tyree 1989; Tyree e Ewers, 1991; Baas *et al.*, 2004) e subsequente formação de embolismo que irão comprometer a funcionalidade do xilema (Chaves *et al.*, 2003; Brodrribb e Cochard, 2009). Dessa forma, a disfunção do caminho hidráulico normalmente é avaliado como o Ψ_w responsável pela perda de 50% da condutividade hidráulica do xilema (P_{50}) do caule e restringe fortemente a distribuição geográfica de espécies (Choat *et al.*, 2012), podendo ser utilizado como preditor da tolerância à seca (Brodrribb *et al.*, 2014). Além disso, também tem importante papel na previsão de mortalidade de florestas ao longo do globo (Choat *et al.*, 2018).

À medida que as plantas desidratam, a perda do turgor celular faz com que os poros estomáticos na superfície da folha se fechem, diminuindo acentuadamente a desidratação da planta e conseqüentemente reduzindo a tensão no xilema, evitando a rápida propagação de

eventos de embolismo (Hochberg, *et al.*, 2017; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018). O fato de o fechamento estomático ocorrer na maioria dos casos antes da cavitação (Manzoni *et al.*, 2014; Barlett *et al.*, 2016; Martin-StPaul *et al.*, 2017), mesmo incorrendo em custos energéticos devido à redução da assimilação de CO₂ e do resfriamento da copa pela transpiração, sugere que evitar a cavitação do xilema é de extrema importância para a sobrevivência a longo prazo das árvores, se mostrando uma importante estratégia para aumentar a resistência à seca nas plantas (McDowell *et al.*, 2008; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Choat *et al.*, 2018).

A disfunção hidráulica nas folhas influencia vários aspectos das respostas da planta frente ao estresse hídrico (Blackman *et al.*, 2010). Muitas espécies lenhosas produzem folhas mais vulneráveis à cavitação que o caule (i.e. processo conhecido como segmentação hidráulica), que agem como fusíveis hidráulicos protegendo o xilema do caule de tensões que resultariam em embolismo (Charrier *et al.*, 2016; Rodrigues-Dominguez *et al.*, 2018). No entanto, tem sido demonstrado que algumas espécies, incluindo o eucalipto, fogem a esse padrão, produzindo folhas tão ou mais resistentes à cavitação do que o caule (Bouche *et al.*, 2016; Klepsch *et al.*, 2018; Skelton *et al.*, 2018; Losso *et al.*, 2019; Lucani *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020), permitindo que o P₅₀ de folhas também possa ser utilizado como indicativo de tolerância. Com o advento de técnicas não-invasivas para a obtenção de P₅₀ de folhas de forma simples e confiável (Brodribb *et al.*, 2016), a utilização dessa propriedade para inferir na tolerância intraespecífica à seca se apresenta como ferramenta interessante, especialmente como possível bioindicador no melhoramento genético visando tolerância à seca. Além do P₅₀ de folhas, várias outras características foliares funcionais, como o Ψ_w correspondente ao fechamento estomático (Ψ_{gs} fechamento), potencial hídrico de perda do turgor foliar (Ψ_{PPT}) e danos à maquinaria fotossintética (e.g. quedas no rendimento quântico máximo do fotossistema II; F_v/F_m), também têm sido associadas à tolerância à seca (Barlett *et al.*, 2016; Cardoso *et al.*, 2018; Trueba *et al.*, 2019).

Até o momento, a maior parte dos estudos de mortalidade de árvores foram feitos com espécies nativas e em ecossistemas naturais (Allen *et al.*, 2010; Anderegg 2014; McDowell *et al.*, 2016; Venturas 2016) e pouco se conhece sobre essas relações em espécies de importância econômica. Recentes eventos de seca no estado de Minas Gerais, Brasil, causaram a morte de milhares de hectares de florestas de eucalipto, ressaltando a importância de averiguarem-se as causas da mortalidade nesse gênero. O gênero *Eucalyptus* contém mais de 700 espécies, distribuídas em ambientes com gradientes de aridez contrastantes (Beech *et al.*, 2017), sendo

atualmente as árvores mais plantadas no mundo (Myburg *et al.*, 2014). Embora sejam encontrados estudos da fisiologia do eucalipto sob seca, incluindo alguns estudos hidráulicos, os mesmos foram realizados principalmente em espécies não cultivadas comercialmente, como *E. sideroxylon*, *E. teriticornis*, *E. viminalis*, *E. largiflorens*, *E. regnans*, *E. smithii*, *E. radiata*, *E. blakelyi*, *E. macrorhyncha*, *E. populnea* e *E. lesouefii* (Mitchell *et al.*, 2013; Pfaustch *et al.*, 2016; Adams *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018; Blackman *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019). Uma vez que a resposta à seca varia significativamente entre espécies, genótipos, híbridos e clones (Saadaoui *et al.*, 2017) e as características hidráulicas estão intimamente ligadas à sobrevivência e distribuição de espécies de eucalipto (Lucani *et al.*, 2018), buscou-se no presente estudo ampliar o conhecimento sobre o comportamento hidráulico de materiais genéticos utilizados comercialmente, principalmente *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. camaldulensis* e seus híbridos.

Neste estudo, examinamos aspectos ligados a características foliares como vulnerabilidade hidráulica, anatomia e respostas fisiológicas durante o processo de dessecação foliar em três clones de eucalipto contrastantes quanto sua tolerância à seca, que foram selecionados através de um ranking de crescimento e mortalidade com base em um levantamento realizado no campo durante período de seca severa. As hipóteses testadas foram que a tolerância diferencial à seca observada nos clones de eucalipto poderia ser explicada por diferença na vulnerabilidade à cavitação e que existe uma sequência de eventos fisiológicos padrão durante a desidratação foliar que pode ser utilizada para encontrar preditores para a vulnerabilidade à cavitação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais, em uma casa de vegetação localizada na Unidade de Crescimento de plantas da Universidade Federal de Viçosa. Os clones foram selecionados com base em um ranking gerado pelas empresas participantes do projeto Tolerância à Seca em condição de campo, onde foram consideradas características de crescimento e sobrevivência das plantas durante um período de restrição hídrica severo entre os anos de 2015 e 2016. A partir deste ranking, foram utilizadas mudas de clones de eucalipto com diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico: clone tolerante (CT, *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), clone intermediário (CI, *E. urophylla* x *E. grandis*) e clone sensível (CS, híbrido espontâneo de *E. urophylla*). As mudas destes clones foram cultivadas em vasos de 20 litros (uma planta por vaso) utilizando como substrato solo +

areia lavada (proporção 1:1, adubado conforme recomendações para a cultura), em casa de vegetação sendo irrigadas diariamente até a capacidade de campo. As plantas foram cultivadas de julho de 2017 a fevereiro de 2018, neste período a irradiância média interceptada na altura da copa das plantas às 12:00 horas foi de $700 \mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

Curva de vulnerabilidade \u00f3ptica foliar

Para a constru\u00e7\u00e3o das curvas de vulnerabilidade \u00e0 cavita\u00e7\u00e3o, a propaga\u00e7\u00e3o de embolismos foi avaliada pelo m\u00e9todo da vulnerabilidade \u00f3ptica proposto por Brodribb *et al.*, (2016). Nesse m\u00e9todo, os embolismos s\u00e3o detectados monitorando-se as mudan\u00e7as na transmiss\u00e3o da luz atrav\u00e9s do xilema, onde vasos embolizados e funcionais diferem quanto \u00e0s suas propriedades \u00f3pticas. As plantas foram cultivadas em casa de vegeta\u00e7\u00e3o sob irriga\u00e7\u00e3o abundante durante sete meses. Foram coletadas no in\u00edcio da manh\u00e3 e tiveram suas ra\u00edzes lavadas at\u00e9 a retirada completa do solo aderido a elas, tendo sido colocadas em um balde de 20L com \u00e1gua, onde ficaram por duas horas para que estivessem completamente hidratadas no in\u00edcio das avalia\u00e7\u00f5es. Uma folha completamente expandida do terceiro ou quarto par de folha de um ramo localizado na parte mediana da planta foi acoplada a um scanner (Epson perfection V800; Epson America) e digitalizadas com lado adaxial voltado para a superf\u00edcie, fixadas com o aux\u00edlio de fita transparente e iluminadas por baixo para criar uma imagem da luz transmitida, permitindo assim que os embolismos fossem registrados durante a desidrata\u00e7\u00e3o da planta a cada tr\u00eas minutos. A obten\u00e7\u00e3o das imagens foi finalizada duas horas ap\u00f3s a observa\u00e7\u00e3o dos \u00faltimos eventos de embolismo. Para identificar e quantificar os embolismos, foi realizada an\u00e1lise de imagens usando m\u00e9todo de subtra\u00e7\u00e3o no ImageJ (National Institute of Health, New York, NY, USA) para destacar mudan\u00e7as entre imagens sucessivas na sequ\u00eancia de imagens produzidas durante processo de secagem da planta. Nesta s\u00e9rie de imagens subtra\u00eddas, os pixels pretos representam qualquer evento \u00f3ptico: cavita\u00e7\u00e3o, instabilidade das condi\u00e7\u00f5es de luz e movimentos da folha ou de suas estruturas. Para separar o sinal (evento de cavita\u00e7\u00e3o) do ru\u00eddo, as imagens diferenciais foram processadas e posteriormente examinadas para remo\u00e7\u00e3o manual do ru\u00eddo. O grau de embolia foi calculado como o n\u00famero cumulativo de pixels embolizados normalizados pelo n\u00famero total de pixels embolizados ao longo da desidrata\u00e7\u00e3o. O Ψ_w , foi medido em folhas de outros ramos em regi\u00f5es semelhantes \u00e0s da folha acoplada ao scanner a cada hora, com o aux\u00edlio de uma bomba de press\u00e3o tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA). Posteriormente foram obtidas equa\u00e7\u00f5es lineares com estes dados, para que fosse poss\u00edvel estimar os potenciais h\u00eddricos associados a todos os eventos de

área cumulativa de embolismo. Por fim, para visualizar a dinâmica da propagação de embolismos pela folha, foi plotado o Ψ_w pela percentagem de área cumulativa de embolismo, sendo uma curva de vulnerabilidade óptica produzida para cada planta. Os potenciais hídricos a 12, 50 e 88% da cavitação máxima da folha (P_{12} , P_{50} e P_{88}) foram calculados com base na curva de vulnerabilidade óptica. Adicionalmente, foi realizado o acompanhamento da condutância estomática (g_s) durante a desidratação da planta utilizando-se do sistema de trocas gasosas (LI-6400XT, LICOR, Lincoln, NE, EUA); as medições foram realizadas em condições ambientes de temperatura e déficit de pressão de vapor, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial, isto é, $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em n\u00edvel das folhas, e $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$. Ao final, foi calculada a margem de seguran\u00e7a hidr\u00e1ulica (MSH), calculada como a diferen\u00e7a de tens\u00e3o (MPa) entre o potencial h\u00eddrico correspondente ao fechamento estom\u00e1tico ($\Psi_{g_s \text{ fechamento}}$) e o P_{50} (MSH_{50}), e entre o $\Psi_{g_s \text{ fechamento}}$ e o P_{88} (MSH_{88}).

Curva de perda percentual da capacidade de reidrata\u00e7\u00e3o

Dez folhas completamente expandidas do ter\u00e7o m\u00e9dio da copa foram coletadas, armazenadas em sacos zip lock, transportadas ao laborat\u00f3rio e colocadas em dessecadores com seu pec\u00edolo imerso em \u00e1gua por 12 horas, para posterior pesagem e digitaliza\u00e7\u00e3o. De posse das imagens digitalizadas, a medi\u00e7\u00e3o de \u00e1rea foliar foi feita com o aux\u00edlio do software Image Pro Plus. Em seguida, as folhas foram desidratadas em bancada (sob luz ambiente), sendo pesadas frequentemente para a estimativa do teor relativo de \u00e1gua (TRA) (dados de \u00e1rea foliar espec\u00edfica coletados previamente forneceram uma estimativa inicial da mat\u00e9ria seca). As folhas foram removidas da bancada a cada varia\u00e7\u00e3o de 10% do seu TRA original. Ao atingir o TRA desejado, as folhas foram aclimatadas por 30 min no escuro para medi\u00e7\u00e3o do rendimento qu\u00e2ntico do fotossistema II (F_v/F_m) utilizando-se do fluor\u00f4metro (LI-6400-40, LI-COR Inc) e foram novamente colocadas em um dessecador com o pec\u00edolo imerso em \u00e1gua por 12 h. Ap\u00f3s esse per\u00edodo, tiveram seu peso t\u00fargido determinado e as folhas foram para a estufa a 70°C por 72 h para determina\u00e7\u00e3o da mat\u00e9ria seca. A perda percentual da capacidade de reidrata\u00e7\u00e3o (PPCR em %) e o TRA (%) foram calculados como descrito por Trueba *et al.*, (2019) utilizando as f\u00f3rmulas abaixo.

O teor saturado de \u00e1gua (TSA, em g g^{-1}) de folhas t\u00fargidas antes da desidrata\u00e7\u00e3o (TSA_i) e reidratadas (TSA_r) foi calculado como:

$$\text{TSA}_i = \frac{\text{Msa} - \text{Ms}}{\text{Ms}}$$

$$TSAr = \frac{Mr - Ms}{Ms}$$

em que M_s , M_{sa} e M_r são os valores de massa seca, massa saturada inicialmente e massa saturada após reidratação, respectivamente. O TSA das folhas reidratadas e folhas saturadas são usadas para calcular a perda percentual da capacidade de reidratação (PPCR em%) como:

$$PPCR = 100x \left(1 - \frac{TSAr}{TSAi} \right)$$

O teor relativo de água (TRA, em %) das folhas desidratadas foi calculado da seguinte forma:

$$TRA = 100x \left(\frac{Mde - Ms}{Msa - Ms} \right)$$

Em que Mde , Ms e Msa são os valores de massa (em g) das folhas desidratadas, secas e saturadas com água, respectivamente.

Os valores de 12 e 50% do rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_{m12} e F_v/F_{m50}) são correspondentes a 12 e 50% do valor de F_v/F_{m12} obtido nas folhas com 100 % de TRA.

Os valores de Ψ_w foram obtidos a partir dos dados da curva pressão-volume descrita abaixo, que relaciona TRA com Ψ_w . Para cada clone foi plotado uma equação polinomial de segunda ordem e a equação obtida foi utilizada para estimar os Ψ_w com base nos dados de TRA da curva de PPCR. As curvas de reidratação para cada clone foram determinadas por funções de adaptação ao aumento de PPCR e F_v/F_m com decréscimo de Ψ_w .

Curva pressão-volume

Para a construção das curvas pressão-volume (curvas PV), três plantas de cada clone foram irrigadas até a saturação dos vasos no final da tarde para que estas se reidratassem completamente durante a noite. Após esse período de reidratação (14 h), procedeu-se à coleta de folhas e medição do Ψ_w . As folhas foram imediatamente pesadas em balança analítica digital, para obtenção da massa fresca, em seguida foram reidratadas por meio da imersão do pecíolo em água destilada por 12 h.

Após essa coleta inicial, suspendeu-se a irrigação das plantas para permitir que a desidratação ocorresse naturalmente. Durante a desidratação foi repetido o procedimento de coleta e medições de Ψ_w e massa foliar de 7 às 16h por sete dias, até o completo colapso e dessecação da folha. No final das medições, as folhas foram secas em estufa a 70°C, até massa constante, para obtenção das massas secas. Posteriormente foi plotado o inverso do Ψ_w pelo TRA. Devido ao percentual de perda da capacidade de reidratação, após um certo nível de dessecação as folhas não eram mais capazes de atingir seu peso túrgido; portanto, para o cálculo do TRA, utilizou-se um peso túrgido estimado, obtido através de uma curva de perda percentual da capacidade de reidratação e uma equação gerada mediante uma regressão linear entre o peso túrgido e o peso seco. A regressão foi construída com os pesos túrgidos das folhas (e seus respectivos pesos secos) que apresentavam grau de desidratação abaixo do limiar da perda percentual da capacidade de reidratação.

As curvas PV foram construídas através da plotagem do inverso do Ψ_w contra o TRA (Tyree e Hammel, 1972). A partir das curvas PV, foram calculadas Ψ_w no ponto de perda do turgor (Ψ_{PPT} ; MPa), potencial osmótico em turgescência plena (Ψ_{100} ; MPa), teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_{PPT} ; %) e módulo de elasticidade (ϵ) de acordo com Bartlett *et al.*, (2012). A capacitância foliar foi calculada a partir da variação no volume por variação no potencial hídrico no turgor completo (C_{PP} ; mol m⁻² MPa⁻¹) e abaixo do ponto de perda do turgor (C_{PPT} ; mol m⁻² MPa⁻¹).

Extravasamento de eletrólitos

Utilizando-se do mesmo protocolo de desidratação descrito no item anterior, folhas destacadas foram desidratadas até atingirem 100, 75, 50 e 25% do seu TRA original, quando tiveram discos foliares retirados para determinação do extravasamento de eletrólitos (EE), descrito a seguir: foram retirados 12 discos de 1.1cm de diâmetro, os quais foram lavados e acondicionados em frascos pesa-filtro contendo 20 mL de água deionizada. Após fechadas, as placas foram acondicionadas à temperatura de 25°C, por 12 h sendo, em seguida, aferida a condutividade inicial do meio (X_i) usando condutivímetro de bancada (Lutron CD-4301, Lutron Electronic Enterprise Co., Taipei, Taiwan). Posteriormente, as placas foram submetidas à temperatura de 90°C, por 2 h, em estufa de secagem e, após resfriamento do conteúdo dos mesmos, foi aferida a condutividade final (X_f). O EE foi expresso como a porcentagem de condutividade em relação à condutividade total após o tratamento por 2 h a 90°C: $[(X_i/X_f) \times 100]$ (Campos e Thi, 1997).

Características morfológicas

Folhas completamente expandidas do terço médio da planta tiveram sua área foliar unitária (AF) medida utilizando um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus. Posteriormente foram secas em estufa a 70°C até massa constante para determinação da matéria seca e a área foliar específica (AFE, em cm² g⁻¹) foi calculado da seguinte forma:

$$AFE = \frac{\text{Área foliar}}{\text{Massa seca}}$$

Condutância hidráulica foliar

Para determinação da condutância hidráulica foliar (K_{folha}) por meio do método de fluxo evaporativo (Sack *et al.*, 2002; Brodribb e Holbrook, 2006), utilizou-se folhas completamente expandidas do terço médio da planta, que tiveram seu pecíolo cortado embaixo d'água e seu limbo posicionado em uma câmara de coníferas (LI-6400-18, LICOR, Lincoln, NE, EUA), conectada a um sistema aberto portátil de trocas gasosas (LI-6400-18, LI-Cor Lincoln, EUA). As medições foram realizadas sob RFA de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em nível de folha e 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$. Todas as medidas foram realizadas a 25°C e o déficit de pressão de vapor foi mantido em torno de 1,0 kPa. As folhas permaneceram na câmara sob essas condições até atingirem um estado estacionário de transpiração (variação inferior a 10% ao longo de 180 s). A folha foi então coletada para obtenção do Ψ_{folha} utilizando-se de uma bomba de pressão tipo Scholander. K_{folha} foi então calculada usando-se a seguinte equação:

$$K_{\text{folha}} = -E / \Psi_{\text{folha}}$$

em que E é o fluxo de transpiração na condição estável normalizado pela área foliar, que foi medida utilizando um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus.

Características anatômicas

As folhas utilizadas para a medição do K_{folha} foram fixadas em FAA₅₀ (Johansen, 1940) durante 48 h, sendo posteriormente armazenadas em etanol aquoso 70% (v v⁻¹). Uma subamostra do pecíolo foi embebida em metacrilato (Historesina - Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Alemanha) de acordo com as recomendações do fabricante, cortados com 5 μm de espessura utilizando-se um micrótomo rotativo de avanço automático (Leica

RM2155, Leica Microsystems Inc., Derfeld, USA), corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1964) e montados em resina sintética (Permout®). Os cortes anatômicos foram utilizados para medir a espessura dos tecidos foliares e as características da nervura central e do pecíolo. Para avaliar a distribuição de nervuras e características estomáticas, uma amostra de 200 mm² da porção mediana de cada folha, evitando veias principais, foi diafanizada empregando o método de Strittmatter (1973).

As lâminas foram fotografadas em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) acoplado a câmera fotográfica digital (Zeis AxioCan HRc, Göttinger, Alemanha) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axio Vision. As imagens foram obtidas com ampliação de 4 x para as medições da densidade de venação (DV), 10 x para as espessuras dos tecidos que constituem o limbo foliar, características da nervura central e densidade estomática (DE) e de 20 x para o índice estomático (IE) e diâmetro polar estomático (DP). Foram obtidas imagens de cinco campos de visão para as medições de DV, DE, IE e DP, três para as espessuras dos tecidos foliar e um para as características hidráulicas da nervura central.

Todas as medições foram feitas utilizando o programa de análise de imagem Image Pro Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). A DV, DE e as análises de diâmetro e número dos condutos do xilema do pecíolo foram feitas como descrito em Martins *et al.*, (2014) e o $(t/b)^3$ conforme descrito por Cardoso *et al.*, (2018).

Condutância cuticular mínima

O g_{\min} foi medido para folhas intactas usando o método de perda de massa de folhas destacadas (Duursma *et al.*, 2019). Foram coletadas no final da tarde duas folhas completamente expandidas do terço médio de seis indivíduos por clone, que foram acondicionadas em sacos ziplock com atmosfera saturada de água e transportadas ao laboratório, onde tiveram seus pecíolos imersos em água destilada por, no mínimo 12 h. Após este período, seu pecíolo foi selado com parafilme e foram pesadas em balança analítica a cada 15 minutos por 4 h. Durante as pesagens foi monitorada a temperatura e a umidade do ambiente para posterior cálculo do déficit de pressão de vapor (DPV). Sua AF inicial e final foi obtida a partir de imagens digitalizadas e medidas com auxílio do software Image Pro Plus. A condutância cuticular mínima (perda mínima de água após o fechamento estomático) foi calculada a partir da inclinação da relação linear da massa foliar versus tempo e convertida em unidades de mmol m² s⁻¹ em conjunto com o DPV (mol mol⁻¹) e a área foliar (m²).

Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três clones e cinco repetições. As análises estatísticas foram realizadas com o software SAS Learning Edition 4.1[®] (SAS Institute, 2006). Os dados foram submetidos à análise de variância e as diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

O Ψ_w foliar de fechamento estomático foi conservado em todos os clones, com valor médio de $-2,6 \pm 0.10$ MPa (Figura 1, Tabela 1). Eventos de cavitação em folhas foram visualizados com o auxílio do método óptico, tendo todas as curvas apresentado comportamento sigmoidal (Figura 1). Foram encontradas diferenças em P_{12} , P_{50} e P_{88} , tendo o CT apresentado os menores valores (Figura 1, Tabela 1). Houve a tendência de o CT apresentar maior MSH_{50} e MSH_{88} seguido pelos CI e CS à seca (Tabela 1), mas sem significado estatístico.

Os clones não diferiram quanto ao Ψ_{PPT} (valor médio -2.77 ± 0.1 MPa) (Tabela 2). Em relação ao TRA_{PPT} e ϵ , o CT apresentou os maiores valores, seguido do CI e finalmente pelo CS. Os CT e CI apresentaram maiores valores de C_{PT} em relação aos do CS à seca. O CT apresentou maior C_{PPT} em relação aos demais.

O $PPCR_{12}$ do CT diferiu apenas do CI, que apresentou o menor valor (Tabela 3). Com relação ao $PPCR_{50}$, não houve diferença entre os materiais. O CI apresentou menor Ψ_w associado ao F_v/F_{m12} e ao F_v/F_{m50} em relação aos demais clones.

Nos resultados de EE, quando comparados os diferentes TRA dentro de um mesmo clone, todos os clones apresentaram similar EE sob TRA de 100 e 75%, o qual diferiu do EE sob TRA de 25% (Figura 3). Apenas o CS apresentou EE sob TRA de 50% igual ao EE sob TRA de 75%, indicando ocorrência precoce de dano em relação aos demais clones. Ao compararmos os clones sob o mesmo TRA, não houve diferença significativa em TRA de 100 e de 75%, já no de 50%, o CS apresentou maior EE, sendo 44 e 33% maiores que CT e CI, respectivamente. Em contra partida, sob TRA de 25%, o CT apresentou maiores valores em relação ao CI e o CS. O CT apresentou g_{min} inferior aos demais clones (Tabela 4).

Embora em um comportamento geral para a espécie a progressão dos eventos fisiológicos que ocorrem devido a desidratação foliar siga a seguinte ordem: Ψ_{gs} de fechamento, Ψ_{PPT} , P_{12} , P_{50} , $PPCR_{12}$, P_{88} , F_v/F_{m12} , $PPCR_{50}$ e F_v/F_{m50} (Figura 5), no CT podemos observar

que eles aconteceram de maneira gradual, enquanto no CI e no CS o colapso de F_v/F_{m50} e $PPCR_{50}$ ocorrem abruptamente em menores Ψ_w , sendo que no CI isso ocorre até mesmo com o F_v/F_{m12} (Figura 4).

A AF variou entre os clones, com maior AF unitária do CT, seguido do CI e depois pelo CS (Tabela 4). A AFE diferiu apenas entre CI e CS, que apresentou menor valor. A DV do CT foi 25% maior que a do CS. Em relação a DE_{Ab} , os CT e CS apresentaram menor valor em relação ao CI e apenas o CT é anfiestomático, entretanto o CI possuiu maior DE_T . Os estômatos tanto da face abaxial, quanto da adaxial apresentam D_p médio igual a $21.5 \pm 0.43 \mu m$. O $D_{hSperry}$ do CT foi maior que o do CI e do CS e o $D_{hMédio}$ do CT e do CI foram maiores que os do CS. Em relação ao $D_{hMáximo}$ houve diferença significativa apenas entre o CT e o CS, sendo que o primeiro apresentou os maiores valores. Para número de vasos (NV), os materiais não diferiram significativamente, entretanto o K_t do CT foi maior que o do CI e este por sua vez foi maior que o do CS. O $(t/b)^3$ do CT foi maior que o do CI e do CS e não houve diferença estatística entre os clones em relação ao K_{folha} .

4. DISCUSSÃO

Diversas características hidráulicas foram avaliadas em três clones de eucalipto com o objetivo de compreender a relação entre a vulnerabilidade à cavitação e a tolerância à seca nestes materiais, além das relações entre parâmetros hidráulicos, de relações hídricas, de trocas gasosas e fluorescência da clorofila durante uma sequência de desidratação foliar. Coletivamente, estes resultados fornecem informações importantes sobre a coordenação entre características hidráulicas e a tolerância diferencial à seca dos clones avaliados e aumentam significativamente nossa capacidade de inferir sobre tolerância à seca a partir de aspectos hidráulicos foliares.

Com relação ao fechamento estomático, foram encontrados valores próximos entre Ψ_{PPT} e $\Psi_{gs \text{ fechamento}}$, provavelmente devido ao fato de o Ψ_{PPT} ser o Ψ_w no qual ocorre considerável acúmulo de ácido abscísico nos tecidos foliares (Pierce e Raschke 1980), promovendo um rápido e eficiente fechamento estomático em angiospermas (Brodribb e McAdam, 2017). Desse modo, o Ψ_{PPT} funciona como um preditor para o $\Psi_{gs \text{ fechamento}}$ (Christoffersen *et al.*, 2016, Xu *et al.*, 2016), consistente com o encontrado em outros trabalhos com espécies lenhosas (Hochberg, *et al.*, 2017; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Creek *et al.* 2019; Trueba *et al.*, 2019). Além disso, todos os clones apresentaram fechamento estomático completo antes de se observar embolismo e perda de capacidade de reidratação, indicando o papel do fechamento estomático para a

proteção da folha contra a cavitação induzida pela seca (Brodribb e Holbrook, 2003, Creek *et al.*, 2019, Li *et al.*, 2018, Martin-StPaul *et al.*, 2017, Skelton *et al.*, 2018). Ressalte-se aqui a importância da metodologia na construção da curva PV, os valores próximos de Ψ_{PPT} e $\Psi_{\text{gs fechamento}}$ foram encontrados via desidratação de plantas inteiras, em que cada ponto da curva foi obtido a partir de folhas diferentes. Por outro lado, quando utilizado o método tradicional de obtenção de curvas PV (medidas sequenciais de Ψ_w em uma mesma folha), observamos que os valores encontrados não condiziam com a sequência lógica esperada, já que o Ψ_{PPT} era maior do que o $\Psi_{\text{gs fechamento}}$ (dados não mostrados). Assim, cuidado deve ser tomado com o uso do método tradicional, principalmente quando o interesse é entender a relação fisiológica entre o Ψ_{PPT} e outros parâmetros.

Trabalhos recentes têm demonstrado que o P_{50} de folhas de algumas espécies de eucalipto guarda forte relação com o P_{50} de ramos e caules (Lucani *et al.*, 2019), possibilitando inferir sobre mortalidade com base em dados obtidos a partir de curvas de vulnerabilidade de folhas. Uma maior proteção contra o embolismo no xilema é frequentemente associada a maiores MSH₅₀ e MSH₈₈ (Martin-StPaul *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018; Blackman *et al.*, 2019) e, de fato, o CT apresentou também os maiores valores de MSH, embora não tenha sido encontrada diferença significativa. Embora todos os clones tenham apresentado valores semelhantes de $\Psi_{\text{gs fechamento}}$ e Ψ_{PPT} , eles contrastaram em relação ao P_{50} e P_{88} sendo que o CT apresentou a menor vulnerabilidade foliar a cavitação ($P_{50} = -4.0$ MPa), o que corrobora a MSH encontrada para este material, já que em trabalho com várias espécies lenhosas, incluindo duas espécies de eucalipto, Blackman *et al.* (2010) encontrou relação significativa entre o P_{50} foliar e a MSH, indicando que espécies com P_{50} mais negativos tendem a exibir maiores MSH devido à disfunção hidráulica em condições de seca do que as espécies mais vulneráveis. Além disso, foi encontrada grande variabilidade individual nos valores de P_{50} do CT (valores de P_{50} variaram entre -3.5 e -4.6 MPa). Variações semelhantes e até maiores no P_{50} de folhas já foram previamente encontradas em uma série de espécies lenhosas (Lamarque *et al.*, 2018; Rodríguez-Dominguez *et al.*, 2018; Cardoso *et al.*, 2020), e foi demonstrado estarem associadas à mortalidade diferencial de folhas ao longo da copa de um mesmo indivíduo (Cardoso *et al.*, 2020).

O CT apresentou menor Ψ_{100} , compatível com redução do Ψ_w e possibilitando maior capacidade de extração de água do solo (Blackman *et al.*, 2010). A menor taxa de dessecação foliar do CT é devido a um conjunto de fatores: antes de atingir o Ψ_{PPT} , as menores taxas de dessecação podem ser explicadas pelo maior ϵ , que confere maior resistência à seca, permitindo

grandes ajustes no Ψ_w com pequenas alterações no teor de água foliar (Niinemets, 2001). Após o Ψ_{PPT} , a redução na taxa de dessecação foi governada pela maior C_{PPT} em conjunto com os menores valores de g_{min} , já que a maior C_{PPT} faz com que a folha apresente maior tamponamento do Ψ_w em relação a variação do conteúdo de água e a menor g_{min} é responsável por menores perdas de água pela cutícula, constituindo-se em uma importante característica da tolerância à seca (Sinclair e Ludlow, 1986). Contudo, ao analisarem-se os valores de extravasamento de eletrólitos, fica bem claro que o CT apresenta perda de integridade mais pronunciada nas membranas celulares das folhas em grau de desidratação foliar mais elevado. Ou seja, a tolerância diferencial à seca estaria sendo governada mais por aspectos hidráulicos do que pela tolerância protoplasmática propriamente dita.

O declínio do PPCR em relação ao Ψ_w apresentou comportamento sigmoidal para todos os clones, sugerindo que a capacidade de reidratação das folhas não é afetada por leves reduções de Ψ_w . Espera-se que quando as folhas sejam expostas ao Ψ_w correspondente ao $PPCR_{12}$, já ocorra redução significativa do desempenho fotossintético em função do considerável fechamento estomático e disfunção hidráulicas também associados a este ponto (Oppenheimer e Leshem, 1966; Kramer e Boyer, 1995; John *et al.*, 2018). Reduções consideráveis do PPCR e do F_v/F_m ocorrem em Ψ_w mais negativos que aqueles responsáveis por 100% de embolismo foliar, demonstrando que essas variáveis não são interessantes como preditores da tolerância à seca. Por outro lado, o $PPCR_{12}$ parece o parâmetro mais promissor como bioindicador de tolerância à seca devido a sua fácil obtenção e sua associação direta com o P_{50} e P_{88} . Portanto, espera-se que clones que apresentem o $PPCR_{12}$ em Ψ_w mais negativos também apresentarão menor vulnerabilidade à cavitação. Futuros testes com mais genótipos devem ser conduzidos para se avaliar a variabilidade em $PPCR_{12}$ e se de fato tal parâmetro é correlacionado com o P_{50} e P_{88} , o que seria extremamente interessante para programas de melhoramento genético.

Dentro do gênero *Eucalyptus* podem ser encontradas espécies hipoestomáticas e anfiestomáticas. O CT é o único que possui estômatos em ambas as faces da epiderme, e possui DV 25% superior à do CS (Tabela 4). Espécies de eucalipto anfiestomáticas são geralmente encontradas em zonas áridas (Wood, 1934; de Boer *et al.*, 2016) e essa característica é responsável por reduzir o gradiente de temperatura ao longo do mesófilo foliar e impedir a condensação da água que poderia limitar a difusão de CO_2 (Drake *et al.*, 2019). Essa característica, no entanto, incorre na necessidade de investimentos adicionais em venação para equilibrar a perda de água através da superfície adaxial e manter uma hidratação homogênea da lâmina foliar (Boyce, 2005).

Aumentos na resistência à cavitação são frequentemente associados a diâmetros reduzidos dos elementos de vaso, bem como maior NV para uma determinada área de condução (Blackman *et al.*, 2010; Lens *et al.*, 2011). Contudo, encontramos valores maiores de Dh_{Sperry} , $Dh_{\text{Médio}}$ e $Dh_{\text{Máximo}}$ para o CT, enquanto o NV não variou entre os materiais. Estudo recente com *E. globulus*, *E. viminalis* e *E. camaldulensis* demonstraram que elementos de vaso de maiores diâmetros também possuem pontuações de tamanho reduzido (Fernandes *et al.*, 2019). Essa característica se correlaciona com aumentos na resistência à cavitação, já que essas pontuações conectam condutos adjacentes para permitir o fluxo de água e também atuam como válvulas de segurança para bloquear a propagação de ar de condutos embolizados (Hacke *et al.*, 2006). Menores pontuações entre condutos do xilema podem reduzir as chances de entrada de bolhas de ar, podendo ser responsáveis por explicar a menor vulnerabilidade à cavitação (Zhang *et al.*, 2016) apresentada pelo CT.

O CT apresentou paredes celulares mais espessas nos condutos do xilema da nervura central da folha e, portanto maior $(t/b)^3$ (Tabela 4). Maiores valores de $(t/b)^3$ são fortemente correlacionados com menores valores de P_{50} foliar segundo estudo realizado com 20 espécies lenhosas, incluindo *E. coccifera* (Blackman *et al.*, 2010). Esse reforço dos condutos do xilema fornecem um maior grau de segurança contra o colapso da parede dos vasos durante a seca, sugerindo que um nível semelhante de coordenação entre o reforço do xilema e resistência a embolia pode estar presente nas folhas. O nível de reforço dos vasos do xilema é maior em vasos menores, o que sugere que vasos maiores talvez exijam menos reforço do que vasos menores (Blackman *et al.*, 2018). Consistente com os achados de que veias menores são as mais resistentes à embolia dentro da rede de veias foliares (Brodrribb *et al.*, 2016; Scoffoni *et al.*, 2017). Características foliares associadas à resistência à seca podem demandar investimento extra no reforço do xilema e resultar em taxa de crescimento reduzida (Hacke *et al.*, 2001; Poorter *et al.*, 2010).

Este trabalho fornece uma sequência coerente de eventos fisiológicos que ocorrem ao longo do declínio das funções foliares, demonstrando que o fechamento estomático atua na proteção hidráulica das folhas. Posteriormente, o embolismo é moderadamente propagado no xilema das folhas. O início da perda da capacidade de reidratação é então seguido da falha catastrófica do xilema (88% embolismo) e somente depois ocorrem dano fotoquímico leve, elevada perda da capacidade de reidratação e danos fotoquímicos severos F_v/F_{m50} . Além disso, também foram encontradas diferentes características responsáveis por conferir tolerância à seca no CT, sendo algumas delas possivelmente relacionadas ao ambiente de seleção de um dos

parentais, como menores valores de P_{50} , P_{88} e g_{min} e maiores ε , C_{PPT} , e $(t/b)^3$, além de o CT ser o único anfiestomático. Além disso, a consistência da relação entre os parâmetros nos diferentes clones sugere que o $PPCR_{12}$ possa ser um importante bioindicador e, mais importante, de fácil obtenção e amplo uso em programas de melhoramento genético.

5. REFERÊNCIAS

- Adams, H. D., Zeppel, M. J., Anderegg, W. R., Hartmann, H., Landhäusser, S. M., Tissue, D. T., ... & Anderegg, L. D. (2017). A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology & Evolution*, 1(9), 1285.
- Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Venetier, M., ... & Gonzalez, P. (2010). A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management*, 259(4), 660-684.
- Anderegg, W. R., Schwalm, C., Biondi, F., Camarero, J. J., Koch, G., Litvak, M., ... & Wolf, A. (2015). Pervasive drought legacies in forest ecosystems and their implications for carbon cycle models. *Science*, 349(6247), 528-532.
- Baas, P., Ewers, F. W., Davis, S. D., & Wheeler, E. A. (2004). Evolution of xylem physiology. In *The evolution of plant physiology* (pp. 273-295). Academic Press.
- Bartlett, M. K., Scoffoni, C., & Sack, L. (2012). The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology letters*, 15(5), 393-405.
- Bartlett, M. K., Klein, T., Jansen, S., Choat, B., & Sack, L. (2016). The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(46), 13098-13103.
- Beech, E., Rivers, M., Oldfield, S., & Smith, P. P. (2017). GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. *Journal of Sustainable Forestry*, 36(5), 454-489.
- Blackman, C. J., Brodribb, T. J., & Jordan, G. J. (2010). Leaf hydraulic vulnerability is related to conduit dimensions and drought resistance across a diverse range of woody angiosperms. *New Phytologist*, 188(4), 1113-1123.
- Blackman, C. J., Gleason, S. M., Cook, A. M., Chang, Y., Laws, C. A., & Westoby, M. (2018). The links between leaf hydraulic vulnerability to drought and key aspects of leaf venation and xylem anatomy among 26 Australian woody angiosperms from contrasting climates. *Annals of botany*, 122(1), 59-67.
- Blackman, C. J., Creek, D., Maier, C., Aspinwall, M. J., Drake, J. E., Pfautsch, S., ... & Choat, B. (2019). Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology*, 39(6), 910-924.

- Bouche, P. S., Delzon, S., Choat, B., Badel, E., Brodribb, T. J., Burrett, R., ... & Mayr, S. (2016). Are needles of *Pinus pinaster* more vulnerable to xylem embolism than branches? New insights from X-ray computed tomography. *Plant, cell & environment*, 39(4), 860-870.
- Boyce, C. K. (2005). Patterns of segregation and convergence in the evolution of fern and seed plant leaf morphologies. *Paleobiology*, 31(1), 117-140.
- Brodribb, T. J., & Cochard, H. (2009). Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology*, 149(1), 575-584.
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2003). Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology*, 132(4), 2166-2173.
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2004). Stomatal protection against hydraulic failure: a comparison of coexisting ferns and angiosperms. *New Phytologist*, 162(3), 663-670.
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2006). Declining hydraulic efficiency as transpiring leaves desiccate: two types of response. *Plant, Cell & Environment*, 29(12), 2205-2215.
- Brodribb, T. J., & McAdam, S. A. (2017). Evolution of the stomatal regulation of plant water content. *Plant Physiology*, 174(2), 639-649.
- Brodribb, T. J., McAdam, S. A., Jordan, G. J., & Martins, S. C. (2014). Conifer species adapt to low-rainfall climates by following one of two divergent pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(40), 14489-14493.
- Brodribb, T. J., Skelton, R. P., McAdam, S. A., Bienaimé, D., Lucani, C. J., & Marmottant, P. (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist*, 209(4), 1403-1409.
- Campos, P. S., & Thi, A. T. P. (1997). Effects of an abscisic acid pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subjected to osmotic stress. *Plant Science*, 130(1), 11-18.
- Cardoso, A. A., Brodribb, T. J., Lucani, C. J., DaMatta, F. M., & McAdam, S. A. (2018). Coordinated plasticity maintains hydraulic safety in sunflower leaves. *Plant, Cell & Environment*, 41(11), 2567-2576.
- Cardoso, A. A., Batz, T. A., & McAdam, S. A. (2020). Xylem embolism resistance determines leaf mortality during drought in *Persea americana*. *Plant Physiology*, pp-00585.
- Carnicer, J., Coll, M., Ninyerola, M., Pons, X., Sanchez, G., & Penuelas, J. (2011). Widespread crown condition decline, food web disruption, and amplified tree mortality with increased climate change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 108(4), 1474-1478.
- Charrier, G., Torres-Ruiz, J. M., Badel, E., Burrett, R., Choat, B., Cochard, H., ... & Lenoir, N. (2016). Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*, 172(3), 1657-1668.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to

- drought—from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3), 239-264.
- Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., ... & Jacobsen, A. L. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426), 752.
- Choat, B., Brodribb, T. J., Brodersen, C. R., Duursma, R. A., Lopez, R., & Medlyn, B. E. (2018). Triggers of tree mortality under drought. *Nature*, 558(7711), 531-539.
- Christoffersen, B. O., Gloor, M., Fauset, S., Fyllas, N. M., Galbraith, D. R., Baker, T. R., ... & Sevanto, S. (2016). Linking hydraulic traits to tropical forest function in a size-structured and trait-driven model (TFS v. 1-Hydro).
- Ciais, P., Reichstein, M., Viovy, N., Granier, A., Ogee, J., Allard, V., ... & Chevallier, F. (2005). Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, 437(7058), 529-533.
- Creek, D., Lamarque, L. J., Torres-Ruiz, J. M., Parise, C., Burlett, R., Tissue, D. T., & Delzon, S. (2019). Xylem embolism in leaves does not occur with open stomata: evidence from direct observations using the optical visualisation technique. *Journal of Experimental Botany*.
- de Boer, H. J., Drake, P. L., Wendt, E., Price, C. A., Schulze, E. D., Turner, N. C., ... & Veneklaas, E. J. (2016). Apparent overinvestment in leaf venation relaxes leaf morphological constraints on photosynthesis in arid habitats. *Plant Physiology*, 172(4), 2286-2299.
- Drake, P. L., de Boer, H. J., Schymanski, S. J., & Veneklaas, E. J. (2019). Two sides to every leaf: water and CO₂ transport in hypostomatous and amphistomatous leaves. *New Phytologist*, 222(3), 1179-1187.
- Duursma, R. A., Blackman, C. J., Lopez, R., Martin-StPaul, N. K., Cochard, H., & Medlyn, B. E. (2019). On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. *New Phytologist*, 221(2), 693-705.
- Fernández, M. E., Barotto, A. J., Meier, A. M., Gyenge, J. E., Tesón, N., Martorello, A. Q., ... & Monteoliva, S. (2019). New insights into wood anatomy and function relationships: How *Eucalyptus* challenges what we already know. *Forest Ecology and Management*, 454, 117638.
- Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2), 97-115.
- Hacke, U. G., Sperry, J. S., Wheeler, J. K., & Castro, L. (2006). Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree physiology*, 26(6), 689-701.
- Hochberg, U., Windt, C. W., Ponomarenko, A., Zhang, Y. J., Gersony, J., Rockwell, F. E., & Holbrook, N. M. (2017). Stomatal closure, basal leaf embolism, and shedding protect the hydraulic integrity of grape stems. *Plant Physiology*, 174(2), 764-775.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc: London;

530p.

- John, G. P., Henry, C., & Sack, L. (2018). Leaf rehydration capacity: Associations with other indices of drought tolerance and environment. *Plant, Cell & Environment*, 41(11), 2638-2653.
- Klepsch, M., Zhang, Y., Kotowska, M. M., Lamarque, L. J., Nolf, M., Schuldt, B., ... & Scoffoni, C. (2018). Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? Insights from microCT, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany*, 69(22), 5611-5623.
- Kramer, P. J., & Boyer, J. S. (1995). *Water relations of plants and soils*. Academic Press.
- Lamarque, L. J., Corso, D., Torres-Ruiz, J. M., Badel, E., Brodribb, T. J., Burrett, R., ... & Jansen, S. (2018). An inconvenient truth about xylem resistance to embolism in the model species for refilling *Laurus nobilis* L. *Annals of Forest Science*, 75(3), 88.
- Lens, F., Sperry, J. S., Christman, M. A., Choat, B., Rabaey, D., & Jansen, S. (2011). Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist*, 190(3), 709-723.
- Li, X., Blackman, C. J., Choat, B., Duursma, R. A., Rymer, P. D., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2018). Tree hydraulic traits are coordinated and strongly linked to climate-of-origin across a rainfall gradient. *Plant, Cell & Environment*, 41(3), 646-660.
- Li, X., Blackman, C. J., Peters, J. M., Choat, B., Rymer, P. D., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2019). More than iso/anisohydry: Hydroscares integrate plant water use and drought tolerance traits in 10 eucalypt species from contrasting climates. *Functional Ecology*, 33(6), 1035-1049.
- Lucani, C. J., Brodribb, T. J., Jordan, G., & Mitchell, P. J. (2018). Intraspecific variation in drought susceptibility in *Eucalyptus globulus* is linked to differences in leaf vulnerability. *Functional Plant Biology*, 46(3), 286-293.
- Lucani, C. J., Brodribb, T. J., Jordan, G. J., & Mitchell, P. J. (2019). Juvenile and adult leaves of heteroblastic *Eucalyptus globulus* vary in xylem vulnerability. *Trees*, 33(4), 1167-1178.
- Manzoni, S., Katul, G., & Porporato, A. (2014). A dynamical system perspective on plant hydraulic failure. *Water Resources Research*, 50(6), 5170-5183.
- Martins, S. C., Galmes, J., Cavatte, P. C., Pereira, L. F., Ventrella, M. C., & DaMatta, F. M. (2014). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *PLoS One*, 9(4), e95571.
- Martin-StPaul, N., Delzon, S., & Cochard, H. (2017). Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters*, 20(11), 1437-1447.
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., ... & Yezzer, E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. *New Phytologist*, 178(4), 719-739.

- Mcdowell, N. G., Williams, A. P., Xu, C., Pockman, W. T., Dickman, L. T., Sevanto, S., ... & Ogee, J. (2016). Multi-scale predictions of massive conifer mortality due to chronic temperature rise. *Nature Climate Change*, 6(3), 295.
- Mitchell, P. J., O'Grady, A. P., Tissue, D. T., White, D. A., Ottenschlaeger, M. L., & Pinkard, E. A. (2013). Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. *New Phytologist*, 197(3), 862-872.
- Myburg, A. A., Grattapaglia, D., Tuskan, G. A., Hellsten, U., Hayes, R. D., Grimwood, J., ... & Goodstein, D. M. (2014). The genome of *Eucalyptus grandis*. *Nature*, 510(7505), 356.
- Niinemets, Ü. (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology*, 82(2), 453-469.
- O'Brien, T., Feder, N., & McCully, M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59(2), 368-373.
- Oppenheimer, H. R., & Leshem, B. (1966). Critical thresholds of dehydration in leaves of *Nerium oleander* L. *Protoplasma*, 61(3), 302-321.
- Pfautsch, S., Harbusch, M., Wesolowski, A., Smith, R., Macfarlane, C., Tjoelker, M. G., ... & Adams, M. A. (2016). Climate determines vascular traits in the ecologically diverse genus *Eucalyptus*. *Ecology Letters*, 19(3), 240-248.
- Pierce, M., & Raschke, K. (1980). Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves. *Planta*, 148(2), 174-182.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J. C., Peña-Claros, M., ... & Sass-Klaassen, U. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist*, 185(2), 481-492.
- Rodriguez-Dominguez, C. M., Carins Murphy, M. R., Lucani, C., & Brodribb, T. J. (2018). Mapping xylem failure in disparate organs of whole plants reveals extreme resistance in olive roots. *New Phytologist*, 218(3), 1025-1035.
- Saadaoui, E., Yahia, K. B., Dhahri, S., Jamaa, M. L. B., & Khouja, M. L. (2017). An overview of adaptative responses to drought stress in *Eucalyptus spp.* *Forestry Studies*, 67(1), 86-96.
- Sack, L., Melcher, P. J., Zwieniecki, M. A., & Holbrook, N. M. (2002). The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany*, 53(378), 2177-2184.
- Scoffoni, C., Sack, L., & Ort, D. (2017). The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany*, 68(16), 4479-4496.
- Sinclair, T. R., & Ludlow, M. M. (1986). Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Functional Plant Biology*, 13(3), 329-341.

- Skelton, R. P., Dawson, T. E., Thompson, S. E., Shen, Y., Weitz, A. P., & Ackerly, D. (2018). Low vulnerability to xylem embolism in leaves and stems of North American oaks. *Plant Physiology*, 177(3), 1066-1077.
- Sperry, J. S., & Tyree, M. T. (1988). Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology*, 88(3), 581-587.
- Strittmatter, C. D. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 15(1), 126-129.
- Trenberth, K. E., Dai, A., Van Der Schrier, G., Jones, P. D., Barichivich, J., Briffa, K. R., & Sheffield, J. (2014). Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*, 4(1), 17-22.
- Trueba, S., Pan, R., Scoffoni, C., John, G. P., Davis, S. D., & Sack, L. (2019). Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry. *New Phytologist*, 223(1), 134-149.
- Tyree, M. T., & Ewers, F. W. (1991). The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*, 119(3), 345-360.
- Tyree, M. T., & Hammel, H. T. (1972). The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of experimental Botany*, 23(1), 267-282.
- Urli, M., Porté, A. J., Cochard, H., Guengant, Y., Burrett, R., & Delzon, S. (2013). Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology*, 33(7), 672-683.
- Venturas, M. D., MacKinnon, E. D., Dario, H. L., Jacobsen, A. L., Pratt, R. B., & Davis, S. D. (2016). Chaparral shrub hydraulic traits, size, and life history types relate to species mortality during California's historic drought of 2014. *PloS One*, 11(7), e0159145.
- Wood, J. G. (1934). The physiology of xerophytism in Australian plants: the stomatal frequencies, transpiration and osmotic pressures of sclerophyll and tomentose-succulent leaved plants. *The Journal of Ecology*, 69-87.
- Xu, X., Medvigy, D., Powers, J. S., Becknell, J. M., & Guan, K. (2016). Diversity in plant hydraulic traits explains seasonal and inter-annual variations of vegetation dynamics in seasonally dry tropical forests. *New Phytologist*, 212(1), 80-95.
- Zhang, Y. J., Rockwell, F. E., Graham, A. C., Alexander, T., & Holbrook, N. M. (2016). Reversible leaf xylem collapse: a potential "circuit breaker" against cavitation. *Plant Physiology*, 172(4), 2261-2274.

6. TABELAS

Tabela 1. Médias dos potenciais hídricos (P ; MPa) para 12, 50 e 88% de área cumulativa de embolismo, para o fechamento estomático completo (P_{gs} ; MPa) e a diferença (MPa) entre o P_{gs} e o P_{50} (MSH_{50}) e entre o P_{gs} fechamento e o P_{88} (MSH_{88}) em folhas de três clones de eucalipto com

tolerâncias contrastantes à seca. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 4 \pm EP$.

	CT	CI	CS
P₁₂	-3.58 ± 0.10 B	-3.05 ± 0.14 A	-3.24 ± 0.04 A
P₅₀	-4.02 ± 0.23 B	-3.35 ± 0.11 A	-3.50 ± 0.05 A
P₈₈	-4.66 ± 0.28 B	-4.02 ± 0.13 A	-4.01 ± 0.08 A
P_{gs} fechamento	-2.79 ± 0.19 A	-2.42 ± 0.31 A	-2.64 ± 0.08 A
MSH₅₀	1.23 ± 0.20 A	0.93 ± 0.373 A	0.86 ± 0.15 A
MSH₈₈	1.87 ± 0.16 A	1.59 ± 0.38 A	1.37 ± 0.25 A

Tabela 2. Médias do potencial osmótico em turgescência plena (Ψ_{100} ; MPa), potencial hídrico no ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT} ; MPa), teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_{PPT}; %), módulo de elasticidade (ϵ ; MPa) e capacitância pré- (C_{PP}; mol m⁻² MPa⁻¹) e pós-perda de turgor (C_{PPT}; mol m⁻² MPa⁻¹) de folhas (retiradas de plantas em processo de desidratação) de três clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 3 \pm DP$.

	CT	CI	CS
Ψ_{100} (MPa)	-2.43 ± 0.071 B	-2.28 ± 0.079 AB	-2.16 ± 0.103 A
Ψ_{PPT} (MPa)	-2.77 ± 0.18 A	-2.77 ± 0.11 A	-2.78 ± 0.27 A
TRA_{PPT} (%)	86.5 ± 3.73 A	83.1 ± 2.05 AB	80.2 ± 3.97 B
ϵ (MPa)	21.1 ± 4.01 A	17.5 ± 1.86 AB	14.4 ± 1.05 B
C_{PP}* (mol m⁻² MPa⁻¹)	0.334 ± 0.01 B	0.328 ± 0.04 B	0.363 ± 0.020 A
C_{PPT}* (mol m⁻² MPa⁻¹)	1.33 ± 0.01 A	0.88 ± 0.10 B	0.83 ± 0.08 B

Tabela 3. Médias do potencial hídrico (MPa) responsável pelo percentual de perda da capacidade de reidratação de 12 e 50% (PPCR₁₂ e PPCR₅₀) e de redução de 12 e 50% dos valores de F_v/F_m (F_v/F_{m12} e F_v/F_{m50}) de folhas retiradas de plantas em processo de desidratação de três clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 5 \pm EP$.

	CT	CI	CS
PPCR₁₂	-4.22 ± -0.15 B	-3.77 ± 0.10 A	-4.00 ± 0.06 AB
PPCR₅₀	-5.44 ± 0.18 A	-6.55 ± 0.02 C	-6.14 ± 0.10 B
F_v/F_{m12}	-3.94 ± 0.29 A	-7.11 ± 1.18 B	-3.99 ± 0.19 A
F_v/F_{m50}	-5.17 ± 0.30 A	-9.67 ± 0.35 B	-6.01 ± 0.22 A

Tabela 4. Médias da área foliar unitária (AF), área foliar específica (AFE), densidade de venação (DV), densidade estomática da face abaxial (DE_{Ab}), densidade estomática da face adaxial (DE_{Ad}), diâmetro polar abaxial (DP_{Ab}), diâmetro polar adaxial (DP_{Ad}), densidade estomática total (DE_T), Dh Sperry de vasos do pecíolo (Dh_{Sperry}), Dh Máximo de vasos do pecíolo (Dh_{Máximo}), Dh Médio de vasos do pecíolo (Dh_{Médio}), número de vasos do xilema do pecíolo (NV), condutância hidráulica teórica do pecíolo (K_t), razão entre a espessura da parede do xilema (t) e diâmetro do lúmen do xilema (b) (t/b)³ do pecíolo, condutância hidráulica foliar (K_{folha}) e condutância cuticular mínima (g_{min}). Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 5 \pm EP$.

	CT	CI	CS
AF (cm²)	46.46 ± 0.56 A	38.44 ± 0.43 B	30.66 ± 1.37 C
AFE (cm² g⁻¹)	217.90 ± 2.02 AB	235.97 ± 2,52 A	203.24 ± 5,43 B
DV (mm mm⁻²)	12.41 ± 0,62 A	10.70 ± 0,32 AB	9.25 ± 0,29 B
DE_{Ab} (n° mm²)	446 ± 19 B	606 ± 8 A	425 ± 25 B
DE_{Ad} (n° mm²)	85.1 ± 9.6	-	-
DE_T (n° mm²)	527 ± 18 B	606 ± 8 A	425 ± 25 C
DP_{Ab} (µm)	21.43 ± 0,56 A	21.13 ± 0.32 A	21.55 ± 0.63 A
DP_{Ad} (µm)	21.90 ± 0.22	-	-
Dh_{Sperry} (µm)	24.23 ± 0,47 A	22.51 ± 0.47 B	20.24 ± 0.96 C
Dh_{Medio} (µm)	12.63 ± 0.51 A	12.96 ± 0.46 A	10.38 ± 0,55 B
Dh_{Maxima} (µm)	34.73 ± 1.09 A	32.19 ± 1.35 AB	29.54 ± 1.42 B
NV	437 ± 31 A	348 ± 47 A	395 ± 67 A
K_t (mmol MPa⁻¹ s⁻¹ m⁻¹)	11.76 ± 0.75 A	8.93 ± 0.26 B	6.24 ± 0.84 C
(t/b)³ x 10⁻³	13.33 ± 1.53 A	4.52 ± 0.43 B	8.65 ± 1.06 B
K_{folha} (mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹)	10.60 ± 0.80 A	10.44 ± 0.67 A	9.57 ± 0.75 A
g_{min} (mmol H₂O m⁻² s⁻¹)	1.8 ± 0.23 B	5.5 ± 0.98 A	5.1 ± 0.64 A

7. LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1. Área cumulativa de embolismo (%) em folhas em processo de desidratação de três clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca. $n = 4$. A linha vertical tracejada representa o potencial hídrico foliar para o fechamento estomático completo.

Figura 2. Perda percentual da capacidade de reidratação (PPCR) em resposta à redução do potencial hídrico de folhas em processo de desidratação de três clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca. Os pontos pretos representam dados obtidos a partir de folhas individuais. A linha preta representa o melhor modelo ajustado. As linhas tracejadas indicam os potenciais hídricos associados à 12% (azul) e 50% (vermelho) do valor mínimo da PPCR.

Figura 3. Extravasamento de eletrólitos em resposta à redução do potencial hídrico (Ψ_w) de folhas em processo de desidratação de três clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 5 \pm EP$.

Figura 4. Potenciais hídricos (MPa) associados a diferentes eventos fisiológicos para folhas de três clones de eucalipto. As caixas mostram os percentis 25 e 75, e pontos indicam mínimo e máximo valores. Linhas vermelhas são valores médios para cada característica. As cores ilustram os diferentes eventos: potencial hídrico de fechamento estomático (Ψ_{gs} fechamento; laranja), potencial hídrico do ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT} ; azul), potenciais hídricos para 12% e 50% do percentual de perda da capacidade de reidratação (PPCR; branco), potenciais hídricos para 12% e 50% de área cumulativa de embolismo (P; amarelo) e redução do rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m ; verde).

Figura 5. Potenciais hídricos (MPa) associados a diferentes eventos fisiológicos para folhas de eucalipto. As caixas mostram os percentis 25 e 75, e pontos indicam mínimo e máximo valores. Linhas vermelhas são valores médios para cada característica. As cores ilustram os diferentes eventos: potencial hídrico de fechamento estomático (Ψ_{gs} fechamento; laranja), potencial hídrico do ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT} ; azul), potenciais hídricos para 12% e 50% do percentual de perda da capacidade de reidratação (PPCR; branco), potenciais hídricos para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo (P; amarelo) e redução do rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m ; verde).

8. FIGURAS

Figura 1

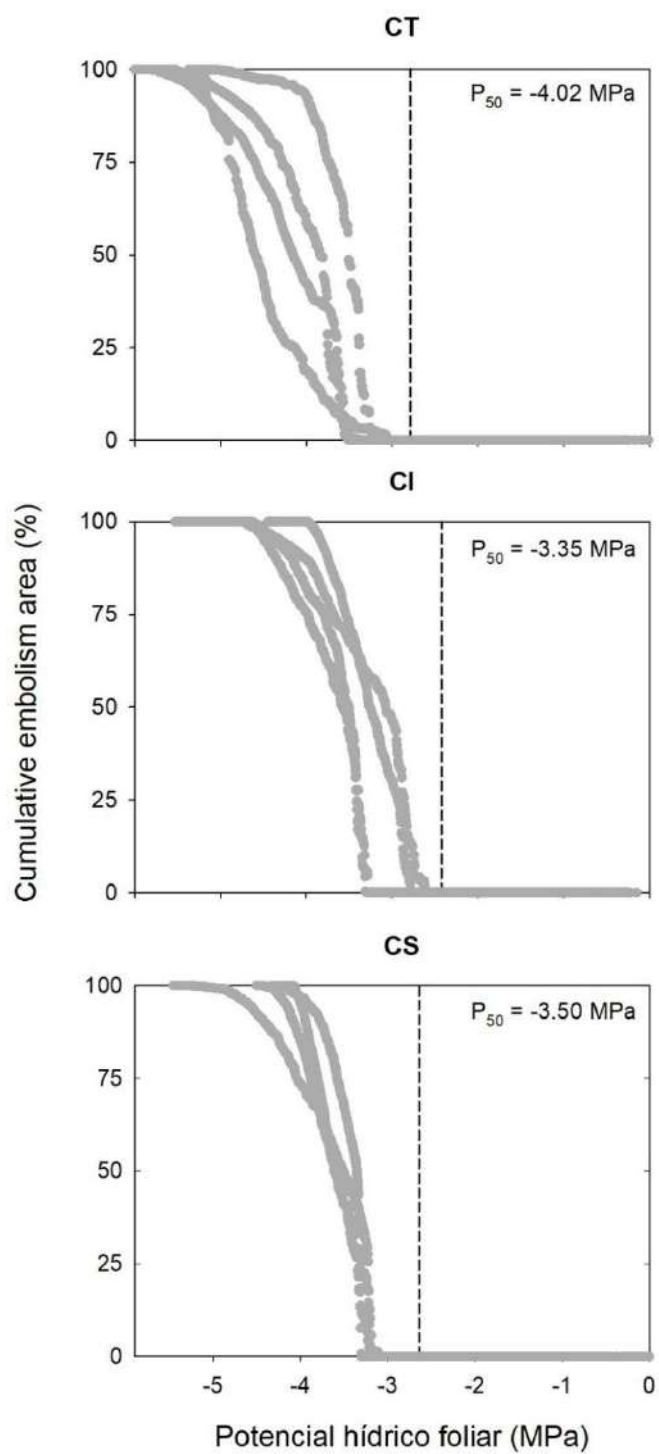


Figura 2

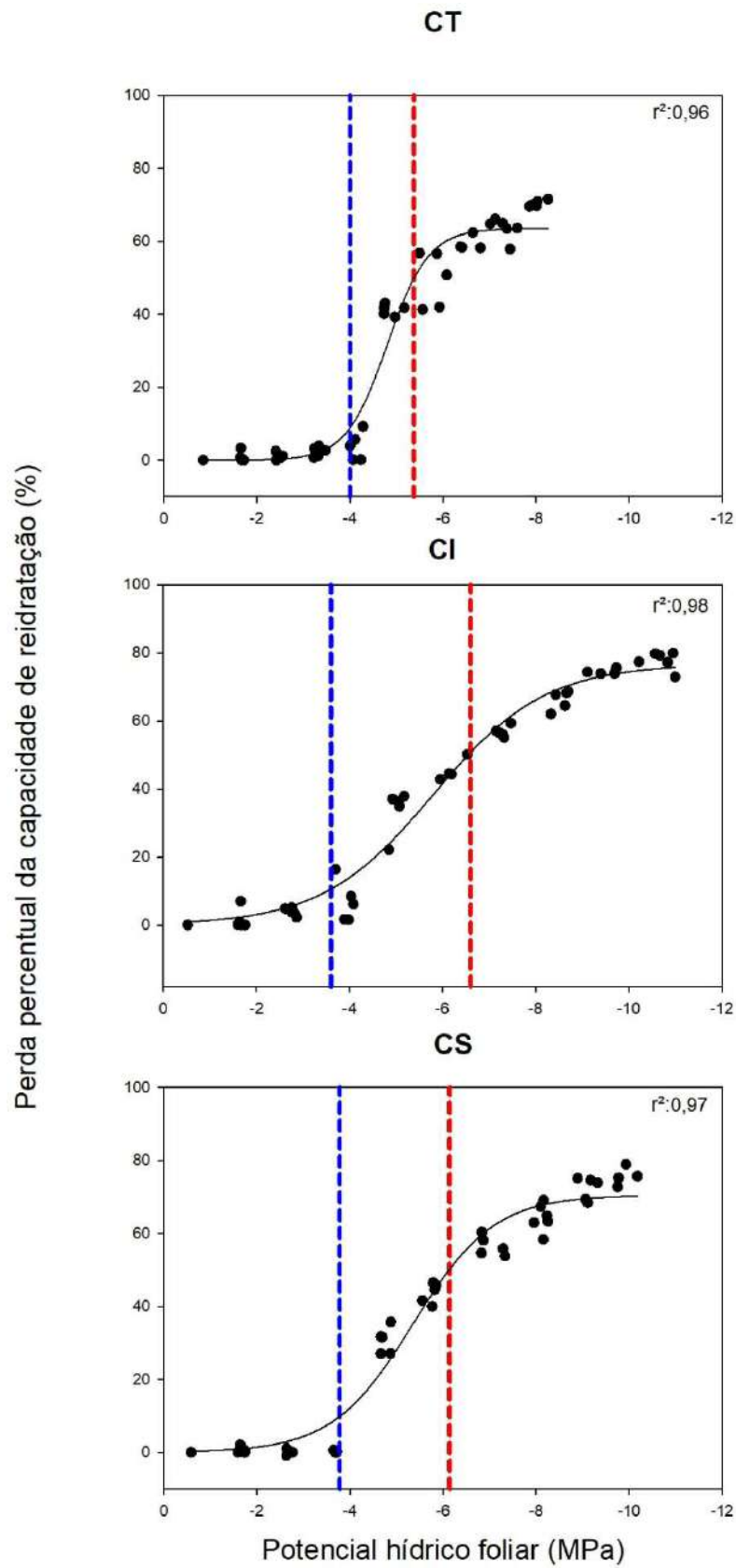


Figura 3

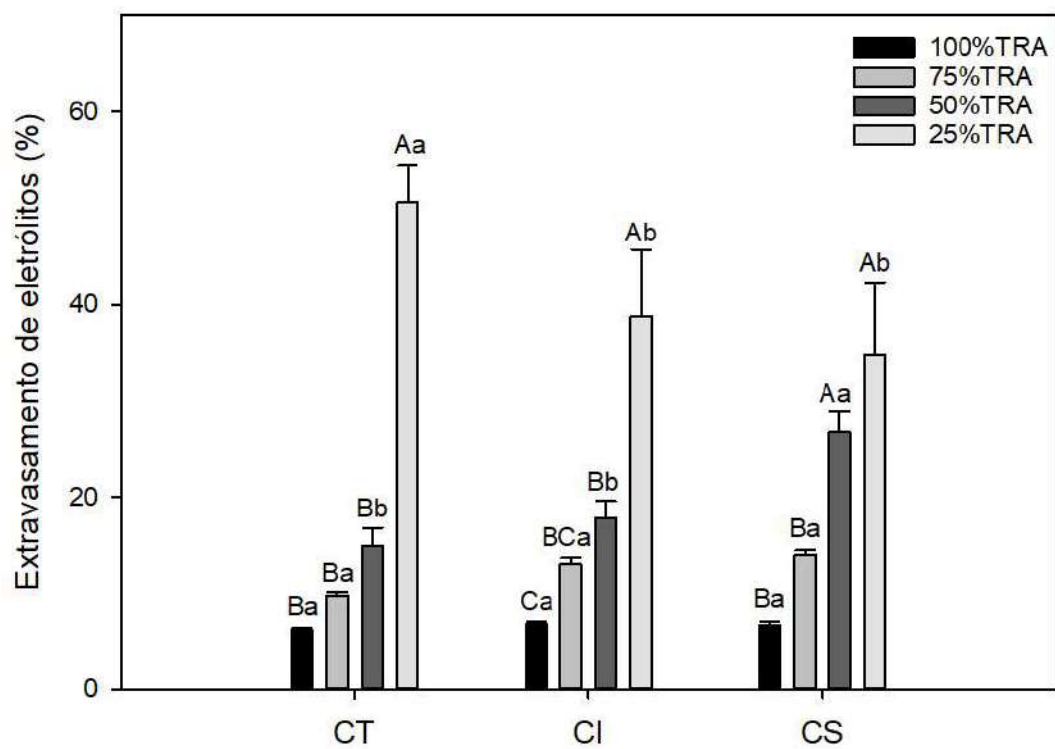


Figura 4

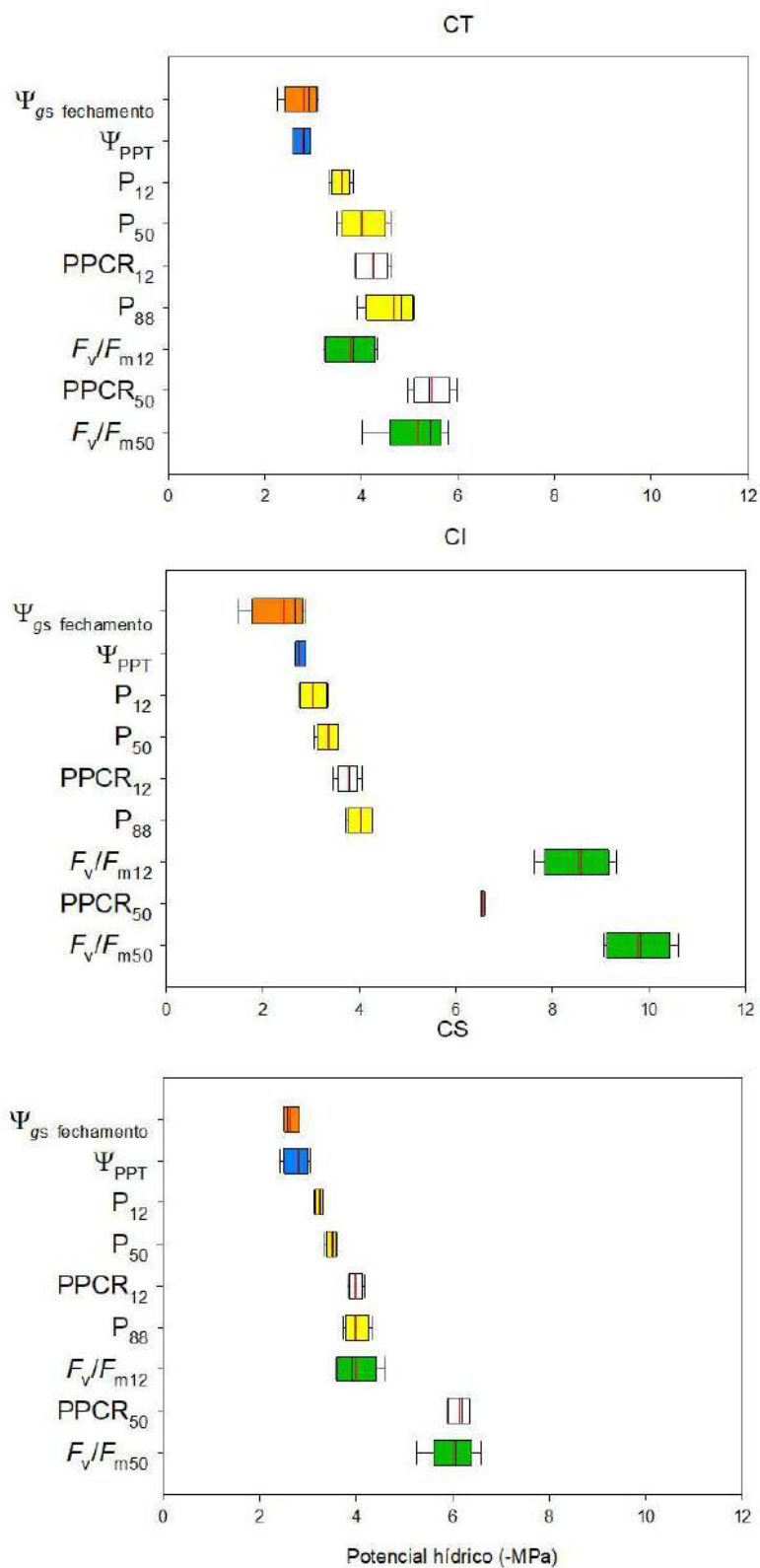
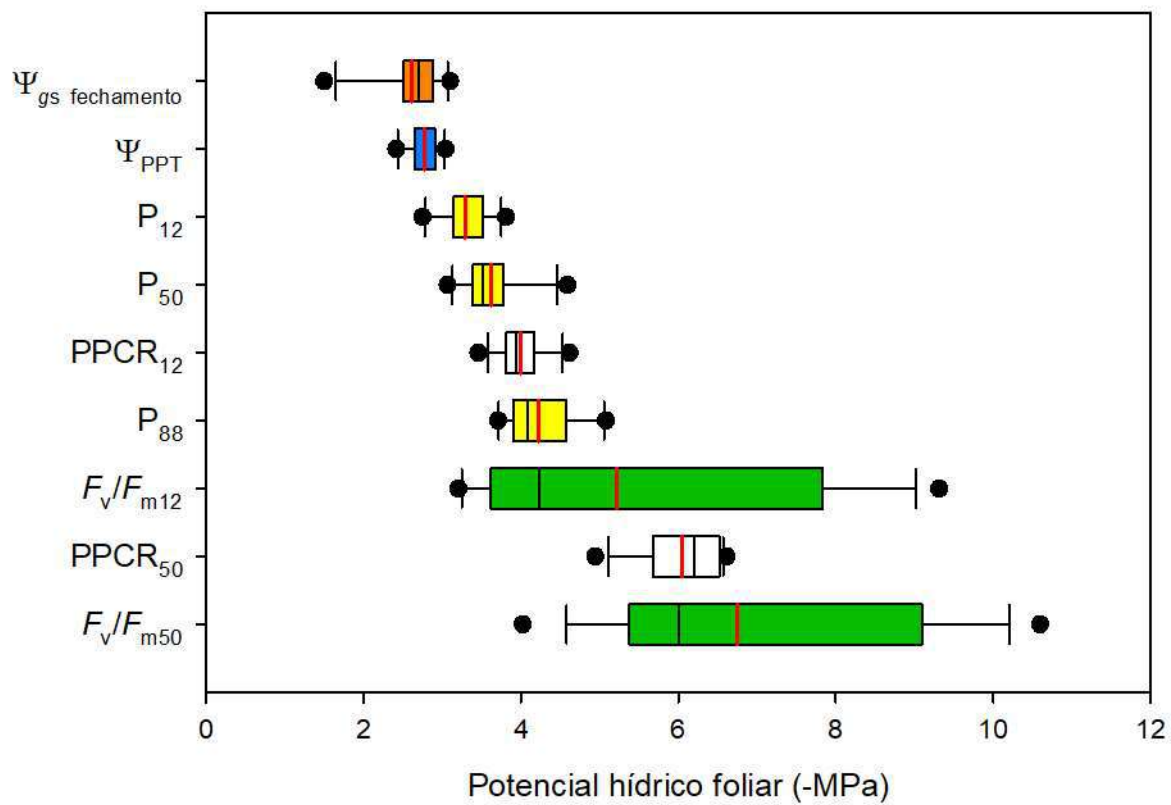


Figura 5



9. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1. Médias dos teores relativos de água (TRA; %) para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo em folhas de três clones de eucalipto com tolerância à seca contrastantes. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 4 \pm EP$.

	CT	CI	CS
TRA₁₂	65.8 ± 2.4 B	74.2 ± 3.2 A	73.9 ± 0.9 A
TRA₅₀	60.56 ± 5.5 B	70.9 ± 2.5 A	71.4 ± 1.0 A
TRA₈₈	53.0 ± 6.4 B	63.6 ± 2.8 A	66.6 ± 2.5 A

Tabela S2. Médias do teor relativo de água responsável pelo percentual de perda da capacidade de reidratação de 12 e 50% (PPCR₁₂ e PPCR₅₀) e de redução de 12 e 50% dos valores de F_v/F_m (F_v/F_{m12} e F_v/F_{m50}) de folhas retiradas de plantas em processo de desidratação de três clones de eucalipto com tolerância à seca contrastantes. Letras diferentes entre os clones representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD. $n = 5 \pm EP$.

	CT	CI	CS
PPCR₁₂	57.0 ± 1.9 C	71.5 ± 0.9 A	66.0 ± 0.6 B
PPCR₅₀	41.4 ± 2.3 B	47.1 ± 0.2 A	44.6 ± 1.0 AB
F_v/F_{m12}	60.6 ± 3.8 A	29.7 ± 2.8 B	60.0 ± 1.9 A
F_v/F_{m50}	44.9 ± 3.9 A	17.1 ± 2.4 B	45.9 ± 2.2 A

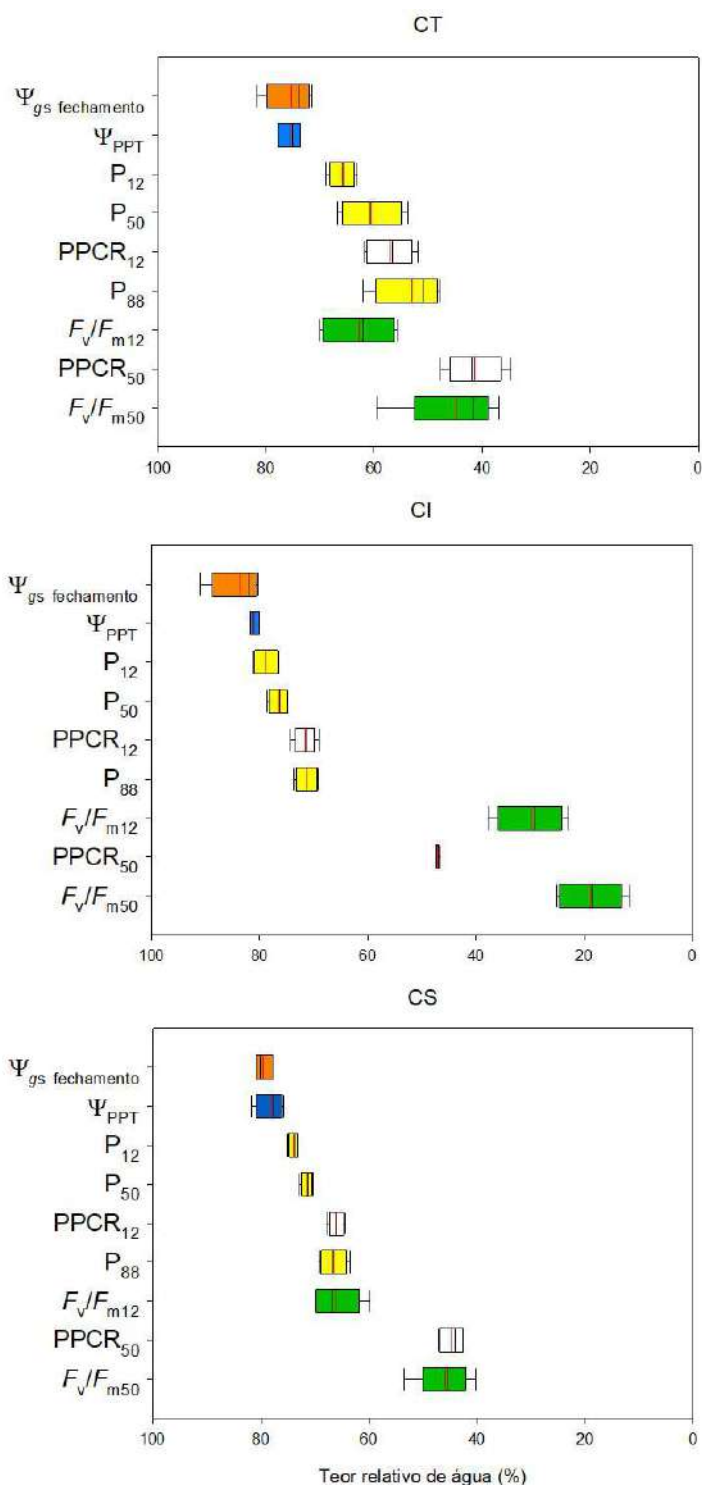


Figura S1. Teores relativos de água associados a diferentes eventos fisiológicos para folhas de três clones de eucalipto. As caixas mostram os percentis 25 e 75, e pontos indicam mínimo e máximo valores. Linhas vermelhas são valores médios para cada característica. As cores ilustram os diferentes eventos: teor relativo de água de fechamento estomático (Ψ_{gs} fechamento; laranja), teor relativo de água do ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT} ; azul), teor relativo de água para 12% e 50% da percentual de perda da capacidade de reidratação (PPCR; branco), teor relativo de água para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo (P; amarelo) e redução do rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m ; verde).

**CAPÍTULO 2 - PLASTICIDADE FENOTÍPICA DE FOLHAS DE EUCALIPTO SOB
DÉFICIT HÍDRICO**

RESUMO

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Plasticidade fenotípica de folhas de eucalipto sob déficit hídrico leve.** Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Coorientadores: Amanda Ávila Cardoso e Genaina Aparecida de Souza.

As previsões futuras de escassez de água tornam cada vez mais necessária a compreensão dos mecanismos de tolerância à seca nas plantas. Dentre estes, espécies que possuem elevada plasticidade fenotípica podem ser mais aptas a otimizar suas características morfofisiológicas frente à situações de estresse. No entanto, em eucalipto, pouco se sabe sobre a importância da plasticidade fenotípica na tolerância à seca. Assim, neste trabalho, foram selecionados quatro clones de eucalipto contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico. A seleção foi feita utilizando-se um ranking baseado em parâmetros de crescimento e sobrevivência de plantas durante um período de seca severa no campo. Após o período de aclimação em casa de vegetação, as plantas foram submetidas à redução de 40% da água disponível, visando explorar como a plasticidade das características de relações hídricas, trocas gasosas e anatomia foliar influenciariam na tolerância à seca. Além disso, plantas cultivadas na condição controle foram expostas a potenciais hídricos responsáveis por causar até 88% de embolismo no xilema das folhas (P_{88}), quando, então, a recuperação após a reidratação foi observada. O cultivo dos diferentes clones sob déficit hídrico foi suficiente para induzir mudanças morfológicas, anatômicas e fisiológicas nas folhas, tendo as características fisiológicas apresentado maior plasticidade fenotípica, enquanto as características morfológicas e anatômicas do mesófilo foliar se mantiveram estáveis. No entanto, todos os clones responderam ao crescimento sob déficit hídrico de forma semelhante, não sendo possível replicar a tolerância à seca observada no ranking de campo nas condições deste estudo. Após a reidratação das plantas submetidas ao P_{88} , foi observado uma mortalidade diferencial de folhas dentro do dossel: as plantas sensíveis apresentaram mortalidade generalizada, inclusive do ápice caulinar, enquanto as tolerantes perderam principalmente as folhas mais velhas e foram capazes de proteger seus meristemas, facilitando o reestabelecimento de um novo dossel após a reidratação.

Palavras-chave: anatomia foliar, estresse hídrico, hidráulica de folhas, mortalidade de folhas, plasticidade fenotípica de folhas.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Leonardo Araujo, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Phenotypic plasticity of eucalyptus leaves under water deficit.** Adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Co-advisers: Amanda Ávila Cardoso e Genaina Aparecida de Souza.

Soil water content is amongst the main limiting factors for plant productivity, survival and distribution. A better understanding of the plant traits impacting drought tolerance is of critical importance given the predicted scenario of future soil water scarcity. In this study, eucalyptus clones with contrasting drought tolerance were exposed to 60% soil water capacity in order to explore which leaf hydraulic traits, leaf gas exchange, and leaf anatomy impact the plant drought tolerance. In addition, plants were exposed to water potential triggering 88% embolism in the leaf xylem (P_{88}) and their recovery upon rehydration was observed. Cultivating plants under water deficit was enough to induce morphological, anatomical and physiological changes. However, all clones responded in a similar fashion, and it was not possible to differentiate them according to their presumed drought tolerance. After exposure to the P_{88} and subsequent rehydration, a considerable variation in the leaf mortality pattern across the canopies was observed. The most tolerant plants presented lower levels of leaf mortality, losing only the older leaves and kept the apical meristem functional. Such maintenance of younger leaves and meristems is likely to allow a rapid reestablishment of the canopy following the drought event.

Key words: leaf anatomy, drought stress, leaf hydraulics, leaf mortality, foliar phenotypic plasticity

1. INTRODUÇÃO

A água é um dos fatores mais limitantes para a produtividade, sobrevivência e distribuição geográfica das plantas. Durante eventos de seca, o declínio na umidade do solo é geralmente acompanhado por elevação das temperaturas e demanda evaporativa da atmosfera (Choat *et al.*, 2018). Conseqüentemente, a redução no fornecimento e aumento na demanda por água pela planta levam às progressivas reduções do potencial hídrico foliar (Ψ_w), condutância estomática (g_s) e taxa fotossintética líquida (A) (Flexas *et al.*, 2006). Quando a folha chega ao Ψ_w do ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT}), a taxa de crescimento da planta cessa, e, caso a seca persista, a mortalidade da planta pode ocorrer por fatores como a falha hidráulica e/ou fome de carbono, por exemplo. Estudos mostram que a falha hidráulica tanto em angiospermas, quanto em gimnospermas, ocorre quando 88% dos condutos do xilema do caule sofrem embolismo (P_{88}) (Urli *et al.*, 2013; Hammond *et al.*, 2019). A fome de carbono, por sua vez, ocorre devido às intensas reduções em A , resultante do fechamento estomático, que acaba levando à morte do indivíduo após um período de tempo longo o suficiente para que ocorra depleção total das reservas de carboidratos da planta (McDowell *et al.*, 2008).

Quando os eventos de seca são moderados e longos, a taxa de crescimento é reduzida e o crescimento dos órgãos de plantas cultivadas nessa condição acarreta várias alterações nas folhas, incluindo alteração morfoanatômicas, que visam ao aumento de seu desempenho na nova condição. Um exemplo dessas alterações é a formação de elementos de vaso de menores diâmetros, que em geral são associados à menor susceptibilidade ao embolismo e colapso (Tyre e Dixon 1986; Davis *et al.*, 1999, Lovisolo *et al.*, 2010; Hochberg 2015; Brodribb *et al.*, 2016b). Além disso, é esperado um aumento do número de elementos de vaso, aumentando a redundância do sistema vascular, para que mesmo com a perda de parte do sistema condutor, a função hidráulica seja mantida através de rotas de transporte alternativas quando alguns elementos de vaso se tornam inoperantes devido ao embolismo (Ewers *et al.*, 2007; Scoffoni 2011). Durante eventos de seca, também se faz necessário aumentar a eficiência do transporte de água nas folhas, o que é determinado em grande parte pela densidade de venação (DV) e o tamanho e distribuição dos estômatos que são de grande importância para as folhas por garantirem um equilíbrio entre a taxa de abastecimento de água em superfícies evaporativas próximas aos estômatos e a demanda transpiracional (de Boer *et al.*, 2016). Esses estômatos se fecham quando o Ψ_w atinge o Ψ_{PPT} , reduzindo a tensão no xilema e evitando a rápida propagação de eventos de embolismo (Hochberg, *et al.*, 2017; Martin-StPaul *et al.*, 2017; Li *et*

al., 2018). Além disso, também são esperadas modificações no parênquima paliçádico, esponjoso e espaço intercelular em plantas que vivem em condições de escassez de água (Chartzoulakis *et al.*, 2002).

A capacidade de um indivíduo exibir diferentes fenótipos a depender das condições ambientais de crescimento é denominada plasticidade fenotípica (PF). A PF é um importante mecanismo das plantas, devido a sua natureza sésstil, para lidar com a variabilidade das condições ambientais (Gratani, 2014). Nesse contexto, compreender quais características estão sob controle genético e/ou apresentam plasticidade é essencial para compreender como as árvores responderão às mudanças rápidas no clima (Matesanz *et al.*, 2010; Nicotra *et al.*, 2011; Richter *et al.*, 2012; Pritzkow *et al.*, 2019). As angiospermas são conhecidas por possuírem considerável PF e variação adaptativa (Schuldt *et al.*, 2016; Choat *et al.*, 2018) e plantas de eucalipto são ideais para investigar a adaptação climática em características vasculares por apresentarem uma longa história evolutiva e alta diversidade de ambientes onde podem ser encontradas (Pfsaustch *et al.*, 2016). Dessa forma, essa espécie se caracteriza como um ótimo modelo para aumentar a compreensão de como a plasticidade de características foliares durante eventos de seca podem influenciar na tolerância à seca das plantas. Apesar de sua importância para a sobrevivência e a distribuição das espécies sob mudanças climáticas, pouco se sabe sobre a contribuição individual de diferenças genéticas adaptativas e da PF para a tolerância à seca (Drake *et al.*, 2015; Benomar *et al.*, 2016). Por exemplo, acredita-se que ambientes muito variáveis tendem a maximizar a PF das plantas ao passo que ambientes mais estáveis favoreceriam maior especialização (baixa PF), uma vez que existem custos inerentes à alta plasticidade (Pigliucci 2001). Nesse contexto, plantas mais tolerantes à seca seriam aquelas provenientes de ambientes mais áridos, mas que apresentariam PF limitada para se beneficiar de uma maior variabilidade na disponibilidade de água. Dentro do conceito de *trade-off* entre eficiência e segurança hidráulica, a presumida baixa PF de espécies tolerantes seria problemática; no entanto, parece haver cada vez mais suporte para a possibilidade de que alta eficiência hidráulica e baixa vulnerabilidade à cavitação coexistam (Gleason *et al.*, 2016; Pritzkow *et al.*, 2019).

A resposta à seca varia significativamente entre espécies, genótipos, híbridos e clones de eucalipto e evidências sugerem que a plasticidade em características hidráulicas foliares podem ser significativas (Anderegg, 2014; Saadaoui *et al.*, 2017). Compreender os efeitos da PF é importante na perspectiva de prever respostas das plantas a ambientes em mudança, bem como aproveitar todo o seu potencial produtivo por meio de programas de melhoramento (Vivas

et al., 2019). Ainda, a identificação de quais características estão sobre forte controle genético são fundamentais na sua aptidão como critério de seleção. Portanto, neste trabalho, utilizamos clones com tolerância diferencial ao déficit hídrico e avaliamos características anatômicas e de trocas gasosas com o objetivo de identificar características contrastantes entre os clones tolerantes e sensível à seca. As hipóteses testadas foram de que a tolerância diferencial à seca observada nos clones de eucalipto pode ser explicada por diferenças na plasticidade fisiológica e morfoanatômica em resposta a disponibilidade hídrica dessas plantas, e que ocorre mortalidade diferencial de folhas no dossel destas plantas ao serem submetidas ao seus respectivos P₅₀ e P₈₈.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal e aplicação dos tratamentos

Foram utilizadas mudas de clones de eucalipto com diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico: clone tolerante (CT, *E. urophylla* x *E. camaldulensis*), clone tolerante 2 (CT2, *E. grandis* x *E. camaldulensis*), clone intermediário (CI, *E. urophylla* x *E. grandis*) e clone sensível (CS, híbrido espontâneo de *E. urophylla*). As plantas foram cultivadas em vasos de 20 L (uma planta por vaso), contendo solo:areia lavada (1:1) e adubadas conforme recomendações para a cultura. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, por um período de aclimatação de 70 dias. Posteriormente foram submetidas a regimes hídricos diferenciais: déficit hídrico, onde os vasos foram irrigados para que seu substrato atingisse 60% de sua capacidade de campo (déficit) e o tratamento controle que foi irrigado diariamente até a capacidade de campo (controle). O controle da umidade do solo foi feito diariamente através da utilização de um sensor de umidade (modelo HH2 Moisture Meter, Delta-T Devices Ltd, Cambridge, UK) com o auxílio de uma curva de calibração obtida através da correlação entre o teor de umidade aferida pelo sensor e a obtida por um método gravimétrico, possibilitando o cálculo da quantidade de água a ser repostas. As plantas foram cultivadas de julho de 2017 a fevereiro de 2018, neste período a irradiância média interceptada na altura da copa das plantas às 12 horas foi de 700 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Posteriormente, a irrigação das plantas sob déficit foi completamente suspensa até observação de sinais de murcha ou dano foliar. Isto aconteceu aos oito dias de suspensão da irrigação, quando as plantas foram reidratadas e mantidas sob irrigação diária por quatro dias adicionais. Nesse experimento, o potencial hídrico foliar (Ψ_w ;

MPa) foi medido diariamente às 06:00 e 12:00 horas utilizando uma bomba de Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA).

Crescimento vegetativo

Aos cinco meses após início do experimento foram feitas a contagem do número de ramos (NR) e, com o auxílio de fita métrica e paquímetro digital, as medições de altura (AL) e diâmetro (D) do caule das plantas (realizadas a quatro centímetros do solo).

Relações hídricas, trocas gasosas e condutância hidráulica foliar

O Ψ_w foi medido com uma bomba de pressão tipo Scholander, utilizando uma folha completamente expandida do quarto ou quinto par de folhas a partir do ápice de ramos localizados no terço médio da planta. As folhas foram coletadas às 6:00 e 12:00 h em dias com baixa nebulosidade. Após coletadas, as folhas foram encerradas em sacos zip lock com atmosfera saturada de vapor d'água e colocadas em uma caixa de isopor com gelo por cerca de 20 minutos até medição do Ψ_w .

Os dados de A , g_s e C_i foram obtidos utilizando-se folhas completamente expandidas do terço médio da planta, que tiveram seu pecíolo cortado embaixo d'água e seu limbo posicionado em uma câmara de coníferas (LI-6400-40, LICOR, Lincoln, NE, EUA), conectada a um sistema aberto portátil de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-Cor Lincoln, EUA). As medições foram realizadas sob RFA de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em nível de folha e $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$. Todas as medidas foram realizadas a 25°C e o déficit de pressão de vapor foi mantido em torno de 1,0 kPa. Para determinação da condutância hidráulica foliar (K_{folha}) por meio do método de fluxo evaporativo (Sack *et al.*, 2002; Brodribb e Holbrook, 2006), as folhas permaneceram na câmara sob essas condições até atingirem um estado estacionário de transpiração (variação inferior a 10% ao longo de 180 s). A folha foi então coletada para obtenção do Ψ_w utilizando-se de uma bomba de pressão tipo Scholander. K_{folha} foi então calculada usando-se a seguinte equação:

$$K_{\text{folha}} = -E / \Psi_w$$

em que E é o fluxo de transpiração na condição estável normalizado pela área foliar, que foi medida utilizando um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA).

Estimativa do V_{cmax} a partir do método de um único ponto

Para estimar a velocidade máxima de carboxilação (V_{cmax}) pelo método do único ponto foram utilizados os dados de A e C_i obtidos como descrito na sessão anterior. Além de valores de respiração no escuro (R_d), cujas medições foram realizadas com auxílio de um sistema aberto portátil de trocas gasosas, em folhas previamente aclimatadas por 30 minutos no escuro antes das medições. Posteriormente os cálculos do V_{cmax} foram feitos de acordo com o descrito por De Kauwe *et al.*, (2015).

Características morfológicas

Folhas completamente expandidas do terço médio da planta tiveram sua área foliar unitária (AF) medida utilizando um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus. Posteriormente foram secas em estufa a 70°C até massa constante para determinação da matéria seca e a área foliar específica (AFE, em $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) foi calculado da seguinte forma:

$$AFE = \frac{\text{Área foliar}}{\text{Massa seca}}$$

Características anatômicas

As folhas utilizadas para a medição do K_{folha} foram fixadas em FAA₅₀ (Johansen, 1940) durante 48 h, sendo posteriormente armazenadas em etanol aquoso 70% (v v⁻¹). Uma subamostra do pecíolo e uma da parte mediana das folhas contendo uma porção da nervura central e do limbo foliar foram embebidas em metacrilato (Histoiresina - Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Alemanha) de acordo com as recomendações do fabricante, cortados com 5 μm de espessura utilizando-se um micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2155, Leica Microsystems Inc., Derfeld, USA), corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1964) e montados em resina sintética (Permout®). Os cortes anatômicos foram utilizados para medir a espessura dos tecidos foliares e as características da nervura central e do pecíolo. Para avaliar a distribuição de nervuras e características estomáticas, uma amostra de 200 mm^2 da porção mediana de cada folha, evitando veias principais, foi diafanizada empregando o método de Strittmatter (1973).

As lâminas foram fotografadas em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) acoplado a câmera fotográfica digital (Zeis AxioCan HRc, Göttinger, Alemanha) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axio Vision. As imagens foram obtidas com ampliação de 4 x para as medições da densidade de venação (DV),

10 x para as espessuras dos tecidos que constituem o limbo foliar, características da nervura central e densidade estomática (DE) e de 20 x para o índice estomático (IE) e diâmetro polar estomático (DP). Foram obtidas imagens de cinco campos de visão para as medições de DV, DE, IE e DP, três para as espessuras dos tecidos foliar e um para as características hidráulicas da nervura central.

Todas as medições foram feitas utilizando o programa de análise de imagem Image Pro-Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). Espessuras dos parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL), epiderme superior (ES), epiderme inferior (EI) e espessura do limbo foliar (LF) foram medidas em μm . A DV, DE e as análises de diâmetro e número dos condutos do xilema da nervura central e do pecíolo foram feitas como descrito em Martins *et al* (2014) e o $(t/b)^3$ conforme descrito por Cardoso *et al.*, (2018).

Transpiração de planta inteira

Para caracterização da transpiração da planta inteira durante a suspensão da irrigação, o peso dos vasos foi aferido com o auxílio de uma balança durante a antemanhã e ao final da tarde, sendo a diferença entre os pesos utilizada para o cálculo de transpiração:

$$\text{Transpiração da planta} = \text{Peso dos vasos na antemanhã} - \text{Peso dos vasos ao final da tarde}$$

Em adição, os potenciais hídricos foram medidos todos os dias na antemanhã e ao meio dia com o auxílio de uma bomba de pressão tipo Scholander, para acompanhar o status hídrico destas plantas durante este período.

Índice de plasticidade

O índice de plasticidade associado às características foliares, variando de 0 (sem plasticidade) a 1 (plasticidade máxima), foi calculado como a diferença entre os valores médios máximo e mínimo entre as disponibilidades hídricas, divididos pelo valor médio máximo (Valladares *et al.*, 2006).

Curva de vulnerabilidade óptica foliar

Para a construção das curvas de vulnerabilidade à cavitação, a propagação de embolismos foi avaliada pelo método da vulnerabilidade óptica proposto por Brodribb *et al.*, (2016). Nesse método, os embolismos são detectados monitorando-se as mudanças na transmissão da luz através do xilema, onde vasos embolizados e funcionais diferem quanto às

suas propriedades ópticas. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação sob irrigação abundante durante sete meses. Foram coletadas no início da manhã e tiveram suas raízes lavadas até a retirada completa do solo aderido a elas, tendo sido colocadas em um balde de 20L com água, onde ficaram por duas horas para que estivessem completamente hidratadas no início das avaliações. Uma folha completamente expandida do terceiro ou quarto par de folha de um ramo localizado na parte mediana da planta foi acoplada a um scanner (Epson perfection V800; Epson America) e digitalizadas com lado adaxial voltado para a superfície, fixadas com o auxílio de fita transparente e iluminadas por baixo para criar uma imagem da luz transmitida, permitindo assim que os embolismos fossem registrados durante a desidratação da planta a cada três minutos. A obtenção das imagens foi finalizada duas horas após a observação dos últimos eventos de embolismo. Para identificar e quantificar os embolismos, foi realizada análise de imagens usando método de subtração no ImageJ (National Institute of Health, New York, NY, USA) para destacar mudanças entre imagens sucessivas na sequência de imagens produzidas durante processo de secagem da planta. Nesta série de imagens subtraídas, os pixels pretos representam qualquer evento óptico: cavitação, instabilidade das condições de luz e movimentos da folha ou de suas estruturas. Para separar o sinal (evento de cavitação) do ruído, as imagens diferenciais foram processadas e posteriormente examinadas para remoção manual do ruído. O grau de embolia foi calculado como o número cumulativo de pixels embolizados normalizados pelo número total de pixels embolizados ao longo da desidratação. O Ψ_w , foi medido em folhas de outros ramos em regiões semelhantes às da folha acoplada ao scanner a cada hora, com o auxílio de uma bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA). Posteriormente foram obtidas equações lineares com estes dados, para que fosse possível estimar os potenciais hídricos associados a todos os eventos de área cumulativa de embolismo. Por fim, para visualizar a dinâmica da propagação de embolismos pela folha, foi plotado o Ψ_w pela percentagem de área cumulativa de embolismo, sendo uma curva de vulnerabilidade óptica produzida para cada planta. Os potenciais hídricos a 12, 50 e 88% da cavitação máxima da folha (P_{12} , P_{50} e P_{88}) foram calculados com base na curva de vulnerabilidade óptica. Adicionalmente, foi realizado o acompanhamento da condutância estomática (g_s) durante a desidratação da planta utilizando-se do sistema de trocas gasosas (LI-6400XT, LICOR, Lincoln, NE, EUA); as medições foram realizadas em condições ambientes de temperatura e déficit de pressão de vapor, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial, isto é, $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em nível das folhas, e $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$.

Análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um fatorial 2x4, onde os fatores foram constituídos por dois níveis de irrigação e quatro clones. As análises estatísticas de trocas gasosas e características anatômicas foram realizadas com o software SAS Learning Edition 4.1 (SAS Institute, 2006), ($P < 0,05$). Os dados foram submetidos à análise de variância e as diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste LSD. Os efeitos do clone e da deficiência hídrica nas distribuições da classe de tamanho dos elementos de vaso foram submetidos ao teste *t* de Student.

3. RESULTADOS

A redução de 40% da água disponível resultou em pequenas variações no Ψ_w (variação máxima média de -0,2 MPa entre os tratamentos controle e déficit). Dessa forma, foi possível a manutenção do crescimento, ainda que reduzido, das plantas sob déficit hídrico. Todos os clones na condição de seca apresentaram redução na AL de cerca de 50 cm e redução entre 7 e 20% do NR. Quanto ao D, na condição de seca foi observada redução somente no CT enquanto o CT2 apresentou o menor D em ambas as condições de crescimento (Tabela 1).

Todos os clones apresentaram *A*, g_s e concentração interna de CO_2 (C_i) semelhantes na condição controle (Figura 1). Com relação às quedas das trocas gasosas sob seca, todos os clones apresentaram reduções em g_s e C_i , embora apenas o CT tenha reduzido a *A*. O CT também apresentou redução de *A*, g_s e C_i em relação ao CT2 e CI, não diferindo do CS. Quanto aos valores de *E* na condição controle, só observamos diferenças entre o CT e CS, tendo o CT apresentado valores inferiores.

No déficit hídrico, o CT2 não apresentou redução de *E* em relação ao controle, sendo que o CT apresentou taxa transpiratória inferior ao CT2 e o CI, que não diferiram do clone CS (Figura 1). A eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) de todos os clones sob déficit hídrico aumentou em relação à condição controle, sendo que o CT e o CS apresentaram os maiores valores. Com relação ao V_{cmax} , houve aumento em CT2, CI e CS quando submetidos ao déficit hídrico. Entretanto, não houve diferenças em V_{cmax} quando comparando os clones dentro de uma mesma condição hídrica. Não foram observadas quaisquer variações nos valores de K_{folha} entre tratamentos ou clones.

Sob déficit hídrico, o CT2 apresentou aumento AF em relação à condição controle; nos demais clones, a AF não diferiu entre controle e seca (Tabela 2). Em relação à AFE, não foi

encontrada diferença significativa em resposta à seca tendo sido encontradas apenas algumas diferenças entre clones quando comparados na mesma condição hídrica. Similar à AFE, as densidades estomáticas abaxial (DE_{Ab}), adaxial (DE_{Ad}) e total (DE_T) também não diferiram entre as condições de irrigação. Apenas CT e CT2 apresentaram estômatos na face adaxial.

O CT foi o único a apresentar redução da DV sob déficit hídrico (Tabela 2). Na condição controle, os CT e CT2 apresentaram maiores valores de DV que o CS, enquanto sob déficit hídrico foram encontradas diferenças apenas entre o CT2 e o CS. Sob déficit hídrico, houve aumento nos valores de ELF para os CT2 e CS. Não foram encontradas diferenças na razão entre a espessura do parênquima paliçádico e a espessura do parênquima lacunoso (EPP/EPPL) entre os clones ou em resposta ao déficit hídrico.

A nervura central e pecíolo diferiram principalmente quanto ao número de vasos (NV) e distribuição de diâmetro hidráulicos (Dh) (Figura 2 e 4). O NV na nervura central variou entre 120 a 329, ao passo que no pecíolo, o NV variou entre 305 a 622. A distribuição de vasos apresentou grande sobreposição de Dh entre a nervura central e pecíolo (Figura 3 e 5), mas em média o pecíolo apresentou maior Dh. As alterações mais consistentes em resposta ao déficit hídrico foram as reduções no Dh_{Sperry} e $Dh_{Máximo}$ que ocorreram em todos os clones e na nervura central e pecíolo. No entanto, as alterações no diâmetro hidráulico na nervura central reduziram o K_t apenas no CT; por outro lado, no pecíolo, todos os clones tiveram o K_t reduzido em resposta ao déficit hídrico. Na nervura central, o déficit hídrico reduziu a frequência de condutos na faixa de 20-25 μm em todos os clones; no pecíolo, com exceção do CS, essa redução ocorreu na faixa de 25-30 μm . Não foi possível associar as diferenças encontradas entre os clones com o seu presumido grau de tolerância à seca; mas, notoriamente, os menores valores de diâmetro hidráulico e K_t foram apresentados pelo CS tanto no pecíolo quanto na nervura central.

No geral, a PF das variáveis medidas foi considerada baixa, com poucos valores de PF superiores a 0,5 [os valores variam de 0 (sem plasticidade) a 1 (plasticidade máxima)], como g_s e A/g_s (Tabela 3). As características mais plásticas foram as fisiológicas e aquelas relacionadas à anatomia das nervuras e do pecíolo. As variáveis relacionadas à morfologia foliar e anatomia do mesófilo apresentaram os menores valores de PF. O CT e o CS apresentaram índices de PF semelhantes, como fica evidente pelas médias de ambos os clones dentro de cada um dos grupos de variáveis, excluindo alguma associação entre a PF e o grau de tolerância à seca.

Todos os clones independentemente de estarem na condição controle ou sob déficit hídrico apresentaram valores semelhantes de Ψ_w na antemanhã durante os dois primeiros dias de suspensão da irrigação (Figura 6). As plantas sob déficit hídrico, foram atingindo Ψ_w cada

vez menores em ambos os horários devido à redução na disponibilidade hídrica dos vasos. Aos oito dias de suspensão de irrigação, os CT2, CI e CS atingiram o Ψ_w responsável pela perda de 88% da condutividade hidráulica do xilema das folhas (P_{88}). Paralelamente, o CT atingiu P_{50} . Todos os clones apresentaram mortalidade de folhas em diferentes partes de sua copa. Entretanto as folhas que permaneceram vivas de todos os clones apresentaram Ψ_w semelhante ao do controle um dia após a reidratação tanto na antemanhã quanto ao meio dia (Figura 6). As plantas que apresentaram Ψ_w maiores do que -0,5 MPa na antemanhã conseguiram manter valores variáveis de transpirações até atingirem -2,2 MPa ao meio dia, tendo sua transpiração fortemente limitadas a partir deste potencial (Figura 7).

Um mês após a reidratação das plantas e sua manutenção em condição de boa disponibilidade hídrica, observamos que ocorreu mortalidade de folhas em diferentes partes de suas copas. Os CT e CT2 protegeram suas zonas de crescimento, tanto do ápice caulinar quanto dos ramos, apresentando mortalidade de folhas apenas nas partes baixas constituídas de folhas velhas. Já o CI apresentou mortalidade de folhas do meio até a base da planta, perdendo metade de sua área foliar responsável pela manutenção de A . Por fim, o clone S apresentou morte indiscriminada de folhas distribuídas em todas as partes da planta, inclusive do ápice caulinar (Figura 8).

4. DISCUSSÃO

Embora o déficit hídrico imposto às plantas foi considerado leve em termos de tensão no xilema, ainda foi de magnitude suficiente para acarretar reduções em g_s e na taxa de crescimento das plantas (altura e número de ramos das plantas). No entanto, não foi possível replicar o ranking de tolerância à seca que foi obtido a partir de eventos de mortalidade no campo. Em plantas jovens, a eficácia de dados de crescimento com finalidade de discriminação de materiais contrastantes é dependente da manifestação da tolerância ainda neste estágio (Thomas e Winner, 2002). Embora Corrêa *et al.*, (2017) terem encontrado correlação positiva entre tolerância à seca em plantas jovens e adultas de eucalipto usando parâmetros de crescimento, tal observação não se repetiu nas condições do nosso experimento.

As primeiras alterações fisiológicas observadas em todos os clones após restrição hídrica, foram relacionadas às trocas gasosas: plantas sob déficit apresentaram menores g_s , porém sem alterações em A , resultando em maior A/g_s , característica de importância crucial para a produção das plantas sob seca. No entanto, não houve diferenças quanto à A/g_s entre os

clones tolerante e sensível, sugerindo que o mecanismo de tolerância apresentado pelos CT e CT2 não envolvam mudanças nesta característica. A tolerância destes materiais talvez possa ser explicada por características que promovam a máxima absorção de umidade do solo para transpiração, permitindo que estas plantas tenham suprimento de água por mais tempo (Blum 2009). Com relação à A , a sua manutenção em folhas de plantas cultivadas sob déficit hídrico, concomitantemente com menores valores de C_i , sugere que houve ajustes na maquinaria fotossintética, como pode ser evidenciado pelos maiores valores de V_{cmax} apresentados pelos CT2, CI e CS. No entanto, o CT apresentou comportamento semelhante ao observado em trabalho avaliando plantas de eucalipto de diferentes origens climáticas, em que não foram observadas alterações em V_{cmax} entre plantas irrigadas e sob déficit hídrico (Cano *et al.*, 2014). Por outro lado, os mesmos autores observaram que a condutância mesofílica (g_m) variou entre as duas espécies de eucalipto, e que o aumento de g_m sob déficit hídrico contribuiu para uma maior A/g_s .

Com relação à distribuição dos estômatos nas folhas, observamos que os CT e CT2 apresentaram estômatos em ambas as faces, o que tem relação com a presença de *E. camaldulensis* (uma espécie encontrada em zonas áridas) como um de seus parentais. Essa característica é fortemente associada a ambientes com alta irradiância e/ou período seco (Wood, 1934; Jordan *et al.*, 2014; Muir 2015; de Boer *et al.*, 2016). A anfiestomatia é observada em várias espécies de culturas domesticadas historicamente sob seleção para maiores A e A/g_s (Milla *et al.*, 2013, Fanourakis *et al.*, 2015). Além disso, ela eleva a eficiência de investimento em tecidos vasculares devido à capacidade destes de fornecer água simultaneamente para ambas as superfícies foliares (Brodribb *et al.*, 2013, Buckley *et al.*, 2015). Em trabalho com *E. globulus*, Richardson *et al.*, (2017) encontraram pronunciado isolamento hidráulico entre superfícies de folhas anfiestomáticas e isobilaterais que permitiu respostas independentes dos estômatos das diferentes faces. Essa independência das respostas é importante por permitir que os estômatos respondam especificamente às condições ambientes atuantes em cada superfície, otimizando a eficiência do uso da água em nível de folha inteira.

Ao observar a distribuição dos condutos do xilema por classes de diâmetro, percebe-se que todos os clones tenderam a aumentar a proporção de vasos com menor diâmetro. A redução no diâmetro dos vasos geralmente é associada com a maior resistência do xilema contra eventos de embolismo (Blackman *et al.*, 2010, Brodribb *et al.*, 2016b) e, portanto, a sua ocorrência pode ser associada com a tolerância à seca. No entanto, a correlação entre o diâmetro dos condutos do xilema da nervura e a vulnerabilidade hidráulica do xilema não é sempre encontrada, uma

vez que as espécies podem obter maior resistência ao declínio hidráulico através de outros mecanismos, como alterações nas propriedades das membranas de pontuação (Scoffoni e Sack., 2017). Inclusive alguns estudos mostram que espécies com vasos mais estreitos exibem maior amplitude de P_{50} do que espécies com alta condutividade e vasos mais largos (Gleason *et al.*, 2016; Hacke *et al.*, 2016). No entanto, reduções no diâmetro dos condutos do xilema levam a condutividades hidráulicas consideravelmente menores (Zwieniecki *et al.*, 2001), o que pode resultar em condutâncias menores em nível de órgãos e planta inteira. Contudo, neste trabalho, observamos que embora as folhas formadas sob déficit tenham apresentado vasos com menor calibre, o K_{folha} não foi alterado.

Em adição, sob déficit hídrico, o CT apresentou paredes celulares mais espessas nos condutos do xilema da nervura central da folha e, portanto maior $(t/b)^3$. Possibilitando assim, em teoria, que este resista a maiores pressões negativas antes de colabar e se tornar não condutor durante o estresse hídrico, devido a sua menor vulnerabilidade à cavitação (Blackman *et al.*, 2010). Aumento na espessura de paredes celulares de elementos de vaso é uma adaptação comum sobre limitação hídrica (Rodríguez-Zaccaro e Groover, 2019), acabando por aumentar sua tolerância a eventos de seca.

A maior plasticidade encontrada nas características fisiológicas é um resultado esperado, já que essas características são as primeiras a serem alteradas no início da restrição hídrica. Por outro lado, a menor plasticidade observada nas características morfológicas e da anatomia do mesófilo foliar, quando comparada aos valores das características do xilema, demonstram que a planta direcionou maiores investimentos para priorizar o aumento da segurança hidráulica do sistema vascular a curto prazo, reduzindo o risco de eventos de cavitação no tecido condutor (Poorter *et al.*, 2009). Uma maior PF geralmente é encontrada em plantas sujeitas à maior frequência de perturbações (Pritzkow *et al.*, 2019), por permitir a aclimação às novas condições em um curto período de tempo. Os CT e CS apresentaram valores semelhantes de PF para várias características, porém, o CT se sobressaiu aos demais nos índices de plasticidade responsáveis pela promoção de maior reforço do xilema como o $(t/b)^3$ e redução do fluxo de água na folha, como menores valores de K_t , K_{folha} , DE_{Ab} e DV , de maneira coordenada. Em todo caso, os resultados aqui apresentados diferem daqueles de Pritzkow *et al.*, (2019) que sugerem que as plasticidades morfológica e fisiológica compensariam o forte controle genético sobre características associadas à segurança hidráulica. Nos híbridos deste estudo, a maior PF se manifestou justamente nos componentes anatômicos do sistema vascular, indicando que o controle genético sobre a PF pode diferir em nível

intraespecífico em eucalipto. Outro ponto importante é que a PF não parece ser intrinsecamente associada à tolerância, já que genótipos contrastantes apresentaram valores semelhantes de PF; da mesma forma, parece não ser dependente do material genético, já que os clones CT e CT2 são híbridos da mesmas espécies, e, entretanto, divergiram nos índices de PF em algumas características.

O comportamento do Ψ_w de todas as plantas sob déficit hídrico foi semelhante. Ao final do experimento, os clones CT2, CI e CS atingiram potenciais referentes ao P₈₈, enquanto o CT chegou ao P₅₀, o que foi responsável pela mortalidade foliar diferencial nestas plantas, demonstrando que os valores de P₅₀ e P₈₈ obtidos em laboratório são indicadores confiáveis da ocorrência de dano em plantas inteiras. O embolismo do xilema das folhas é um fator determinante da mortalidade foliar durante eventos de seca (Cardoso *et al.*, 2020). Inclusive, a heterogeneidade na mortalidade foliar induzida pela seca parece ser causada pela alta variabilidade em P₅₀ entre folhas no dossel, o que aliviaria as variações de Ψ_w , evitando assim a mortalidade do indivíduo durante uma seca prolongada (Cardoso *et al.*, 2020). Outra possível explicação pode ser o estresse oxidativo, já que durante o déficit hídrico o influxo de CO₂ diminui devido a redução da g_s (Tourneux e Peltier 1995). Como consequência, uma fração da energia luminosa interceptada pelos fotossistemas não é usada pela fotossíntese (Comic e Briantais 1991), podendo reagir com o oxigênio e formar superóxido, altamente tóxico para lipídios e proteínas. Em alguns casos pode ocorrer a senescência foliar (Tardieu 1996) quando a capacidade de dissipar o excesso de energia e atividade das enzimas antioxidantes presentes nestes tecidos não são suficientes para eliminar estes superóxidos (Hormann *et al.*, 1993). A maior proporção de folhas mortas ao longo da copa do CS, incluindo o ápice caulinar, pode gerar grandes prejuízos para este material após o período de estresse. Isso ocorre porque a área fotossinteticamente ativa é reduzida drasticamente, além da perda do ápice caulinar reduzir a dominância apical, fazendo com que a planta deixe de crescer retilinearmente e perca valor comercial. Enquanto isso, os demais clones apresentaram mortalidade foliar em partes baixas que normalmente são constituídas por folhas mais velhas e com menores taxas metabólicas. Embora seja desconhecido o motivo da variação no padrão de mortalidade foliar ao longo da copa entre os diferentes clones, é possível inferir que o padrão de mortalidade associado ao CS resultaria em maior dificuldade para as plantas retomarem seu crescimento após o período de seca.

Ainda durante a suspensão da irrigação, as plantas que apresentavam Ψ_w menores que -0,5 e -2,2 MPa na antemanhã e ao meio dia, respectivamente, tiveram suas taxas transpiratórias

fortemente reduzidas (Figura 7). Isto pode ser explicado devido aos Ψ_w do meio dia serem próximos aos valores do Ψ_{PPT} (apresentados no capítulo 1). O ponto de perda de turgor coincide fortemente com o Ψ_w no qual ocorre a produção de ABA foliar resultando no fechamento estomático (Pierce e Raschke 1980; McAdam e Brodribb, 2016). Após dois dias de reidratação, o Ψ_w das folhas saudáveis das plantas com a irrigação suspensa foram capazes de retornar a valores semelhantes aos do controle, como também foi observado por Warren *et al.*, (2012) em déficit hídrico severo para duas espécies de eucalipto. A persistência das folhas mais resistentes no dossel, embora com alguma redução de sua função hidráulica devido à embolia, garantem certa atividade fotossintética e, ao término da seca, facilitam o restabelecimento de um novo dossel (Cardoso *et al.*, 2020).

O cultivo dos diferentes clones sob redução de 40% da água disponível foi suficiente para induzir mudanças morfológicas, anatômicas e fisiológicas nas folhas das plantas. No entanto, todos os clones responderam ao crescimento sob déficit de forma semelhante, não sendo possível, observar características de folhas individuais por trás da tolerância à seca diferencial entre eles. Por outro lado, após a suspensão da irrigação e posterior reidratação, foi possível observar variações muito grandes no padrão de mortalidade foliar dentro da copa destas plantas, tendo as plantas tolerantes perdido apenas folhas mais velhas e protegido suas zonas de crescimento, facilitando o reestabelecimento de um novo dossel após eventos de seca.

5. REFERÊNCIAS

- Anderegg, W. R. (2014). Spatial and temporal variation in plant hydraulic traits and their relevance for climate change impacts on vegetation. *New Phytologist*, 205(3), 1008-1014.
- Benomar, L., Lamhamedi, M. S., Rainville, A., Beaulieu, J., Bousquet, J., & Margolis, H. A. (2016). Genetic adaptation vs. ecophysiological plasticity of photosynthetic-related traits in young *Picea glauca* trees along a regional climatic gradient. *Frontiers in plant science*, 7, 48.
- Blackman, C. J., Brodribb, T. J., & Jordan, G. J. (2010). Leaf hydraulic vulnerability is related to conduit dimensions and drought resistance across a diverse range of woody angiosperms. *New Phytologist*, 188(4), 1113-1123.
- Blum, A. (2009). Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, 112(2-3), 119-123.
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2006). Declining hydraulic efficiency as transpiring leaves desiccate: two types of response. *Plant, Cell & Environment*, 29(12), 2205-2215.
- Brodribb, T. J., Jordan, G. J., & Carpenter, R. J. (2013). Unified changes in cell size permit

- coordinated leaf evolution. *New Phytologist*, 199(2), 559-570.
- Brodribb, T. J., Skelton, R. P., McAdam, S. A., Bienaimé, D., Lucani, C. J., & Marmottant, P. (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist*, 209(4), 1403-1409.
- Brodribb, T. J., Bienaimé, D., & Marmottant, P. (2016b). Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(17), 4865-4869.
- Buckley, T. N., John, G. P., Scoffoni, C., & Sack, L. (2015). How does leaf anatomy influence water transport outside the xylem?. *Plant Physiology*, 168(4), 1616-1635.
- Cano, F. J., López, R., & Warren, C. R. (2014). Implications of the mesophyll conductance to CO₂ for photosynthesis and water-use efficiency during long-term water stress and recovery in two contrasting *Eucalyptus* species. *Plant, Cell & Environment*, 37(11), 2470-2490.
- Cardoso, A. A., Brodribb, T. J., Lucani, C. J., DaMatta, F. M., & McAdam, S. A. (2018). Coordinated plasticity maintains hydraulic safety in sunflower leaves. *Plant, Cell & Environment*, 41(11), 2567-2576.
- Cardoso, A. A., Batz, T. A., & McAdam, S. A. (2020). Xylem embolism resistance determines leaf mortality during drought in *Persea americana*. *Plant Physiology*, 182(1), 547-554.
- Chartzoulakis, K., Patakas, A., Kofidis, G., Bosabalidis, A., & Nastou, A. (2002). Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia horticultrae*, 95(1-2), 39-50.
- Choat, B., Brodribb, T. J., Brodersen, C. R., Duursma, R. A., López, R., & Medlyn, B. E. (2018). Triggers of tree mortality under drought. *Nature*, 558(7711), 531-539.
- Cornic, G., & Briantais, J. M. (1991). Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta*, 183(2), 178-184.
- Corrêa, T. R., de Toledo Picoli, E. A., de Souza, G. A., Condé, S. A., Silva, N. M., Lopes-Mattos, K. L. B., ... & Oda, S. (2017). Phenotypic markers in early selection for tolerance to dieback in *Eucalyptus*. *Industrial Crops and Products*, 107, 130-138.
- Davis, S. D., Sperry, J. S., & Hacke, U. G. (1999). The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *American Journal of Botany*, 86(10), 1367-1372.
- de Boer, H. J., Drake, P. L., Wendt, E., Price, C. A., Schulze, E. D., Turner, N. C., ... & Veneklaas, E. J. (2016). Apparent overinvestment in leaf venation relaxes leaf morphological constraints on photosynthesis in arid habitats. *Plant Physiology*, 172(4), 2286-2299.
- De Kauwe, M. G., Lin, Y. S., Wright, I. J., Medlyn, B. E., Crous, K. Y., Ellsworth, D. S., ... & Niinemets, Ü. (2016). A test of the 'one-point method' for estimating maximum

- carboxylation capacity from field-measured, light-saturated photosynthesis. *New Phytologist*, 210(3), 1130-1144.
- Drake, J. E., Aspinwall, M. J., Pfautsch, S., Rymer, P. D., Reich, P. B., Smith, R. A., ... & Tjoelker, M. G. (2015). The capacity to cope with climate warming declines from temperate to tropical latitudes in two widely distributed *Eucalyptus* species. *Global Change Biology*, 21(1), 459-472.
- Ewers, F. W., Ewers, J. M., Jacobsen, A. L., & López-Portillo, J. (2007). Vessel redundancy: modeling safety in numbers. *Iawa Journal*, 28(4), 373-388.
- Fanourakis, D., Giday, H., Milla, R., Pieruschka, R., Kjaer, K. H., Bolger, M., ... & Ottosen, C. O. (2015). Pore size regulates operating stomatal conductance, while stomatal densities drive the partitioning of conductance between leaf sides. *Annals of Botany*, 115(4), 555-565.
- Flexas, J., Bota, J., Galmes, J., Medrano, H., & Ribas-Carbó, M. (2006). Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*, 127(3), 343-352.
- Gleason, S. M., Westoby, M., Jansen, S., Choat, B., Hacke, U. G., Pratt, R. B., ... & Cochard, H. (2016). Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist*, 209(1), 123-136.
- Hacke, U. G., Spicer, R., Schreiber, S. G., & Plavcová, L. (2016). An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant, Cell & Environment*, 40(6), 831-845.
- Hammond, W. M., Yu, K., Wilson, L. A., Will, R. E., Anderegg, W. R., & Adams, H. D. (2019). Dead or dying? Quantifying the point of no return from hydraulic failure in drought-induced tree mortality. *New Phytologist*, 223(4), 1834-1843.
- Hochberg, U., Degu, A., Gendler, T., Fait, A., & Rachmilevitch, S. (2015). The variability in the xylem architecture of grapevine petiole and its contribution to hydraulic differences. *Functional Plant Biology*, 42(4), 357-365.
- Hochberg, U., Windt, C. W., Ponomarenko, A., Zhang, Y. J., Gersony, J., Rockwell, F. E., & Holbrook, N. M. (2017). Stomatal closure, basal leaf embolism, and shedding protect the hydraulic integrity of grape stems. *Plant Physiology*, 174(2), 764-775.
- Hormann, H., Neubauer, C., Asada, K., & Schreiber, U. (1993). Intact chloroplasts display pH 5 optimum of O₂-reduction in the absence of methyl viologen: Indirect evidence for a regulatory role of superoxide protonation. *Photosynthesis research*, 37(1), 69-80.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p.
- Jordan, G. J., Carpenter, R. J., & Brodribb, T. J. (2014). Using fossil leaves as evidence for open vegetation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 395, 168-175.
- Li, X., Blackman, C. J., Choat, B., Duursma, R. A., Rymer, P. D., Medlyn, B. E., & Tissue, D.

- T. (2018). Tree hydraulic traits are coordinated and strongly linked to climate-of-origin across a rainfall gradient. *Plant, Cell & Environment*, 41(3), 646-660.
- Lovisolò, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., & Schubert, A. (2010). Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional Plant Biology*, 37(2), 98-116.
- Martins, S. C., Galmes, J., Cavatte, P. C., Pereira, L. F., Ventrella, M. C., & DaMatta, F. M. (2014). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *PLoS One*, 9(4), e95571.
- Martin-StPaul, N., Delzon, S., & Cochard, H. (2017). Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters*, 20(11), 1437-1447.
- Matesanz, S., Gianoli, E., & Valladares, F. (2010). Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1206(1), 35-55.
- McAdam, S. A., & Brodribb, T. J. (2016). Linking turgor with ABA biosynthesis: implications for stomatal responses to vapor pressure deficit across land plants. *Plant Physiology*, 171(3), 2008-2016.
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., ... & Yezzer, E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. *New Phytologist*, 178(4), 719-739.
- Milla, R., de Diego-Vico, N., & Martín-Robles, N. (2013). Shifts in stomatal traits following the domestication of plant species. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3137-3146.
- Muir, C. D. (2015). Making pore choices: repeated regime shifts in stomatal ratio. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1813), 20151498.
- Nicotra, A. B., Leigh, A., Boyce, C. K., Jones, C. S., Niklas, K. J., Royer, D. L., & Tsukaya, H. (2011). The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Functional Plant Biology*, 38(7), 535-552.
- O'brien, T. P., Feder, N., & McCully, M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59(2), 368-373.
- Pfautsch, S., Aspinwall, M. J., Drake, J. E., Chacon-Doria, L., Langelan, R. J., Tissue, D. T., ... & Lens, F. (2018). Traits and trade-offs in whole-tree hydraulic architecture along the vertical axis of *Eucalyptus grandis*. *Annals of Botany*, 121(1), 129-141.
- Pierce, M., & Raschke, K. (1980). Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves. *Planta*, 148(2), 174-182.
- Pigliucci, M., & Tollrian, R. (2002). Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. *Nature*, 416(6881), 584-584.

- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I. J., & Villar, R. (2009). Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, 182(3), 565-588.
- Pritzkow, C., Williamson, V., Szota, C., Trouvé, R., & Arndt, S. K. (2020). Phenotypic plasticity and genetic adaptation of functional traits influences intra-specific variation in hydraulic efficiency and safety. *Tree Physiology*, 40(2), 215-229.
- Richardson, F., Brodribb, T. J., & Jordan, G. J. (2017). Amphistomatic leaf surfaces independently regulate gas exchange in response to variations in evaporative demand. *Tree Physiology*, 37(7), 869-878.
- Richter, S., Kipfer, T., Wohlgemuth, T., Guerrero, C. C., Ghazoul, J., & Moser, B. (2012). Phenotypic plasticity facilitates resistance to climate change in a highly variable environment. *Oecologia*, 169(1), 269-279.
- Rodriguez-Zaccaro, F. D., & Groover, A. (2019). Wood and water: How trees modify wood development to cope with drought. *Plants, People, Planet*, 1(4), 346-355.
- Saadaoui, E., Yahia, K. B., Dhahri, S., Jamaa, M. L. B., & Khouja, M. L. (2017). An overview of adaptative responses to drought stress in *Eucalyptus* spp. *Forestry Studies*, 67(1), 86-96.
- Sack, L., Melcher, P. J., Zwieniecki, M. A., & Holbrook, N. M. (2002). The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany*, 53(378), 2177-2184.
- Schuldt, B., Knutzen, F., Delzon, S., Jansen, S., Müller-Haubold, H., Burlett, R., ... & Leuschner, C. (2016). How adaptable is the hydraulic system of European beech in the face of climate change-related precipitation reduction?. *New Phytologist*, 210(2), 443-458.
- Scoffoni, C., & Sack, L. (2017). The causes and consequences of leaf hydraulic decline with dehydration. *Journal of Experimental Botany*, 68, 4479-4496. Scoffoni, C., Rawls, M., McKown, A., Cochard, H., & Sack, L. (2011). Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*, 156(2), 832-843.
- Strittmatter, C. D. (1973). Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 15(1), 126-129.
- Tardieu, F. (1996). Drought perception by plants do cells of droughted plants experience water stress?. *Plant growth regulation*, 20(2), 93-104.
- Thomas, S. C., & Winner, W. E. (2002). Photosynthetic differences between saplings and adult trees: an integration of field results by meta-analysis. *Tree Physiology*, 22(2-3), 117-127.
- Tourneux, C., & Peltier, G. (1995). Effect of water deficit on photosynthetic oxygen exchange measured using $^{18}\text{O}_2$ and mass spectrometry in *Solanum tuberosum* L. leaf discs. *Planta*, 195(4), 570-577.

- Tyree, M. T., & Dixon, M. A. (1986). Water stress induced cavitation and embolism in some woody plants. *Physiologia Plantarum*, 66(3), 397-405.
- Urli, M., Porté, A. J., Cochard, H., Guengant, Y., Burrett, R., & Delzon, S. (2013). Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology*, 33(7), 672-683.
- Valladares, F., SANCHEZ-GOMEZ, D. A. V. I. D., & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of ecology*, 94(6), 1103-1116.
- Vivas, M., Rolo, V., Wingfield, M. J., & Slippers, B. (2019). Maternal environment regulates morphological and physiological traits in *Eucalyptus grandis*. *Forest ecology and management*, 432, 631-636.
- Warren, C. R., Aranda, I., & Cano, F. J. (2012). Metabolomics demonstrates divergent responses of two *Eucalyptus* species to water stress. *Metabolomics*, 8(2), 186-200.
- Wood, J. G. (1934). The physiology of xerophytism in Australian plants: the stomatal frequencies, transpiration and osmotic pressures of sclerophyll and tomentose-succulent leaved plants. *The Journal of Ecology*, 69-87.
- Zwieniecki, M. A., Melcher, P. J., & Holbrook, N. M. (2001). Hydraulic properties of individual xylem vessels of *Fraxinus americana*. *Journal of Experimental Botany*, 52(355), 257-264.

6. TABELAS

Tabela 1. Altura, diâmetro e número de ramos de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle (100% da capacidade de campo) e em redução de 40% da disponibilidade de água (60% da capacidade de campo). Letra maiúsculas: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro do mesmo clone. Letra minúscula: diferença significativa entre clones sob a mesma condição hídrica. Média \pm EP; n = 5.

	CT		CT2		CI		CS	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
Altura (cm)	256 \pm 8.7 Aa	206 \pm 13.3 Ba	251 \pm 7.3 Aa	195 \pm 5.8 Ba	239 \pm 4.9 Aa	202 \pm 7.9 Ba	258 \pm 10.3 Aa	198 \pm 8.3 Ba
Diâmetro (mm)	25 \pm 0.4 Aa	21 \pm 0.7 Ba	15 \pm 1.6 Ab	15 \pm 1.6 Ab	23 \pm 0.5 Aa	22 \pm 0.5 Aa	22 \pm 0.6 Aa	20 \pm 0.5 Ba
Número de ramos	45 \pm 1.2 Aa	37 \pm 1.9 Ba	34 \pm 3.9 Aa	27 \pm 0.6 Ba	31 \pm 0.7 Aa	29 \pm 1.3 Ba	48 \pm 1.9 Aa	42 \pm 1.5 Ba

Tabela 2. Área foliar unitária (AF), área foliar específica (AFE), densidade estomática da face abaxial (DE_{Ab}), densidade estomática da face adaxial (DE_{Ad}), densidade estomática total (DE_T), densidade de venação (DV), espessura do limbo foliar (ELF) e razão entre o parênquima paliádico e o parênquima lacunoso de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle (100% da capacidade de campo) e em redução de 40% da disponibilidade de água (60% da capacidade de campo). Letra maiúsculas: diferença significativa entre controle e déficit hídrico dentro do mesmo clone. Letra minúscula: diferença significativa entre clones sob a mesma condição hídrica. Média ± EP; n = 5.

	CT		CT2		CI		CS	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
AF (cm²)	46.5 ± 0.6 Aa	50.1 ± 0.6 Ab	48.86 ± 2.29 Ba	55.5 ± 1.89 Aa	38.5 ± 0.45 Ab	40.72 ± 0.42 Ac	30.7 ± 1.37 Ac	34.0 ± 1.23 Ad
AFE (cm² g⁻¹)	217.9 ± 2 Aab	210.8 ± 2 Aab	210.0 ± 5 Ab	192.0 ± 3 Ab	236.0 ± 3 Aa	225.9 ± 3 Aa	203.3 ± 5 Ab	211.7 ± 6 Aab
DE_{Ab} (ne mm⁻²)	446.3 ± 19 Ac	401.0 ± 13 Ac	503.6 ± 7 Ab	532.9 ± 28 Ab	605.9 ± 8 Aa	587.9 ± 26 Aa	425.3 ± 25 Ac	432.3 ± 19 Ac
DE_{Ad} (ne mm⁻²)	80.8 ± 8.1 Ab	89.1 ± 9.17 Ab	159.3 ± 5.18 Aa	171.0 ± 17.27 Aa				
DE_T (ne mm⁻²)	527.1 ± 18 Ab	490.0 ± 17 Ac	662.9 ± 11 Aa	703.9 ± 44 Aa	605.9 ± 8 Aa	587.9 ± 26 Ab	425.3 ± 25 Ac	432.3 ± 19 Ac
DV (mm mm⁻²)	12.4 ± 0.6 Aa	10.4 ± 0.5 Bab	12.0 ± 1.3 Aa	11.6 ± 1.3 Aa	10.7 ± 0.3 Aab	10.2 ± 0.34 Aab	9.3 ± 0.3 Ab	8.7 ± 0.4 Ab
ELF (µm)	216.3 ± 3.3 Aab	214.8 ± 5.6 Ab	210.1 ± 10.3 Bab	235.3 ± 9.0 Aa	221.8 ± 4.8 Aa	219.6 ± 7.2 Aab	200.3 ± 3.4 Bb	222.0 ± 6.1 Aab
EPP/EPL	0.45 ± 0.0 Aa	0.44 ± 0.03 Aa	0.59 ± 0.03 Aa	0.66 ± 0.06 Aa	0.49 ± 0.05 Aa	0.44 ± 0.03 Aa	0.44 ± 0.04 Aa	0.48 ± 0.02 Aa

Tabela 3. Plasticidade fenotípica da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i), eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), condutância hidráulica foliar (K_{folha}), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{cmax}), área foliar unitária (AF), área foliar específica (AFE), espessura do limbo foliar (ELF), razão entre o parênquima plaiçádico e o parênquima lacunoso (PP/PL), densidade estomática da face abaxial (DE_{Ab}), densidade estomática da face adaxial (DE_{Ad}), densidade estomática total (DE_T), densidade de venação (DV), número de vasos do xilema (NV), condutância hidráulica teórica (K_t), diâmetro hidráulico de Sperry (Dh_{Sperry}), diâmetro hidráulico máximo ($Dh_{Máximo}$), diâmetro hidráulico médio ($Dh_{Médio}$) e razões entre a espessura da parede celular (t) e o diâmetro do lúmen (b) das veias xilemáticas do pecíolo ($(t/b)^3$) de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle (100% da capacidade de campo) e em redução de 40% da disponibilidade de água (60% da capacidade de campo).

	Variáveis	CT	CT2	CI	CS
Trocias gasosas	A	0,171	0,074	0,090	0,056
	g_s	0,510	0,355	0,342	0,515
	C_i	0,220	0,156	0,135	0,232
	A/g_s	0,413	0,447	0,369	0,571
	K_{folha}	0,180	0,045	0,019	0,024
	V_{cmax}	0,0829	0,210	0,208	0,263
	Média	0,263	0,215	0,194	0,277
Características morfológicas	AF	0,073	0,120	0,056	0,099
	AFE	0,032	0,086	0,043	0,040
	Média	0,053	0,103	0,050	0,070
Anatomia do mesofilo foliar	ELF	0,007	0,107	0,010	0,097
	PP/PL	0,018	0,112	0,107	0,075
	DE_{Ab}	0,102	0,055	0,030	0,016
	DE_{Ad}	0,093	0,068	-	-
	DE_T	0,070	0,058	0,030	0,016
	DV	0,161	0,038	0,044	0,063
	Média	0,075	0,073	0,044	0,053
Anatomia da nervura central	NV	0,241	0,452	0,103	0,265
	K_t	0,434	0,059	0,199	0,377
	Dh_{Sperry}	0,169	0,104	0,111	0,186
	$Dh_{Máximo}$	0,192	0,091	0,125	0,145
	$Dh_{Médio}$	0,192	0,172	0,069	0,213
	$(t/b)^3$	0,519	0,041	0,217	0,042
	Média	0,291	0,153	0,137	0,205
Anatomia do pecíolo	NV	0,223	0,257	0,088	0,349
	K_t	0,412	0,296	0,344	0,222
	Dh_{Sperry}	0,198	0,110	0,122	0,152
	$Dh_{Máximo}$	0,151	0,091	0,120	0,150
	$Dh_{Médio}$	0,148	0,119	0,117	0,201
	$(t/b)^3$	0,299	0,281	0,082	0,250
Média	0,239	0,192	0,146	0,221	

7. LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i), velocidade máxima de carboxilação (V_{cmax}), eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) e condutância hidráulica foliar (K_{folha}) de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Letra maiúsculas: diferença significativa entre controle e déficit dentro do mesmo clone. Letra minúscula: diferença significativa entre clones sob a mesma condição hídrica. Média \pm EP; $n=5$.

Figura 2. Condutância hidráulica teórica da nervura central (K_t), número de elementos de vaso (NV), diâmetro hidráulico médio ($Dh_{médio}$), diâmetro hidráulico máximo ($Dh_{máximo}$), diâmetro hidráulico de Sperry (Dh_{Sperry}) e razões entre a espessura da parede celular (t) e o diâmetro do lúmen (b) das veias xilemáticas da nervura central $[(t/b)^3]$ de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Letra maiúsculas: diferença significativa entre controle e déficit dentro do mesmo clone. Letra minúscula: diferença significativa entre clones sob a mesma condição hídrica. Média \pm EP; $n=5$.

Figura 3. Frequência de distribuição de diâmetros hidráulicos de vasos do xilema da nervura central em quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Média \pm EP; $n=5$. *: Diferença significativa entre tratamentos pelo teste t .

Figura 4. Condutância hidráulica teórica do pecíolo (K_t), número de elementos de vaso (NV), diâmetro hidráulico médio ($Dh_{Médio}$), diâmetro hidráulico máximo ($Dh_{Máximo}$), diâmetro hidráulico de Sperry (Dh_{Sperry}) e razões entre a espessura da parede celular (t) e o diâmetro do lúmen (b) das veias xilemáticas do pecíolo $[(t/b)^3]$ de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Letra maiúsculas: diferença significativa entre controle e déficit dentro do mesmo clone. Letra minúscula: diferença significativa entre clones sob a mesma condição hídrica. Média \pm EP; $n=5$.

Figura 5. Frequência de distribuição de diâmetros hidráulicos de vasos do xilema do pecíolo em quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Média \pm EP; $n=5$. *: Diferença significativa entre tratamentos pelo teste t .

Figura 6. Potencial hídrico (Ψ_w) na antemanhã e ao meio-dia em função dos dias após suspensão da irrigação em quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados em condição hídrica controle e déficit. Área branca: período de déficit hídrico; área cinza: período de reidratação. Linha pontilhada em azul: P_{50} . Linha pontilhada em vermelho: P_{88} . Barras representam o EP.

Figura 7. Transpiração em função do potencial hídrico (Ψ_w) na antemanhã e ao meio-dia durante três dias. A linha vermelha indica o Ψ_w de transição em que a transpiração das plantas é fortemente reduzida.

Figura 8. Imagens de quatro clones de eucalipto com tolerâncias contrastantes à seca (CT – tolerante; CT2 – tolerante 2; CI – intermediário; CS – sensível) cultivados sob déficit hídrico e posterior suspensão de irrigação por um período de oito dias e posterior reidratação e manutenção em condição controle por um mês.

8. FIGURAS

Figura 1

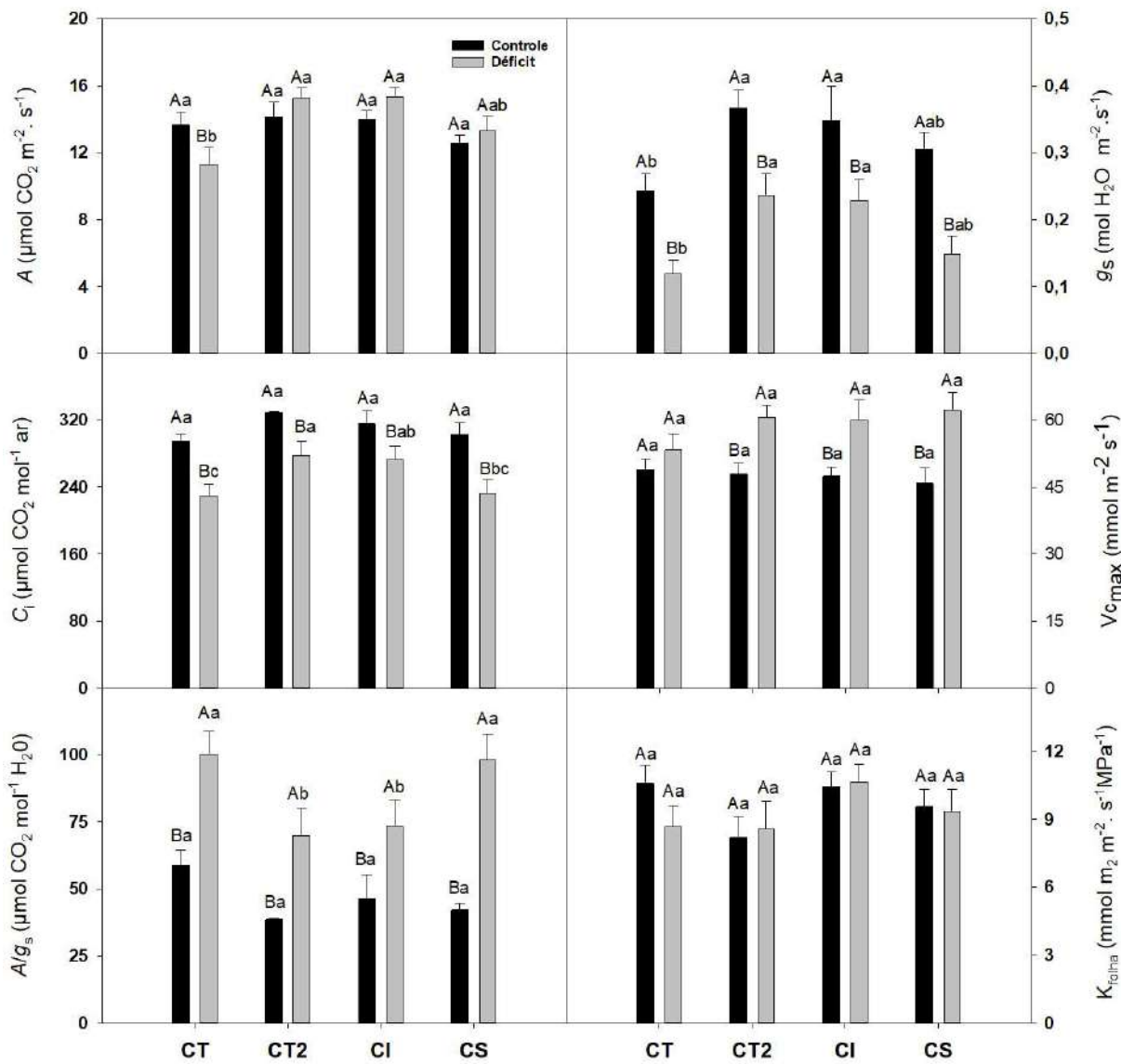


Figura 2

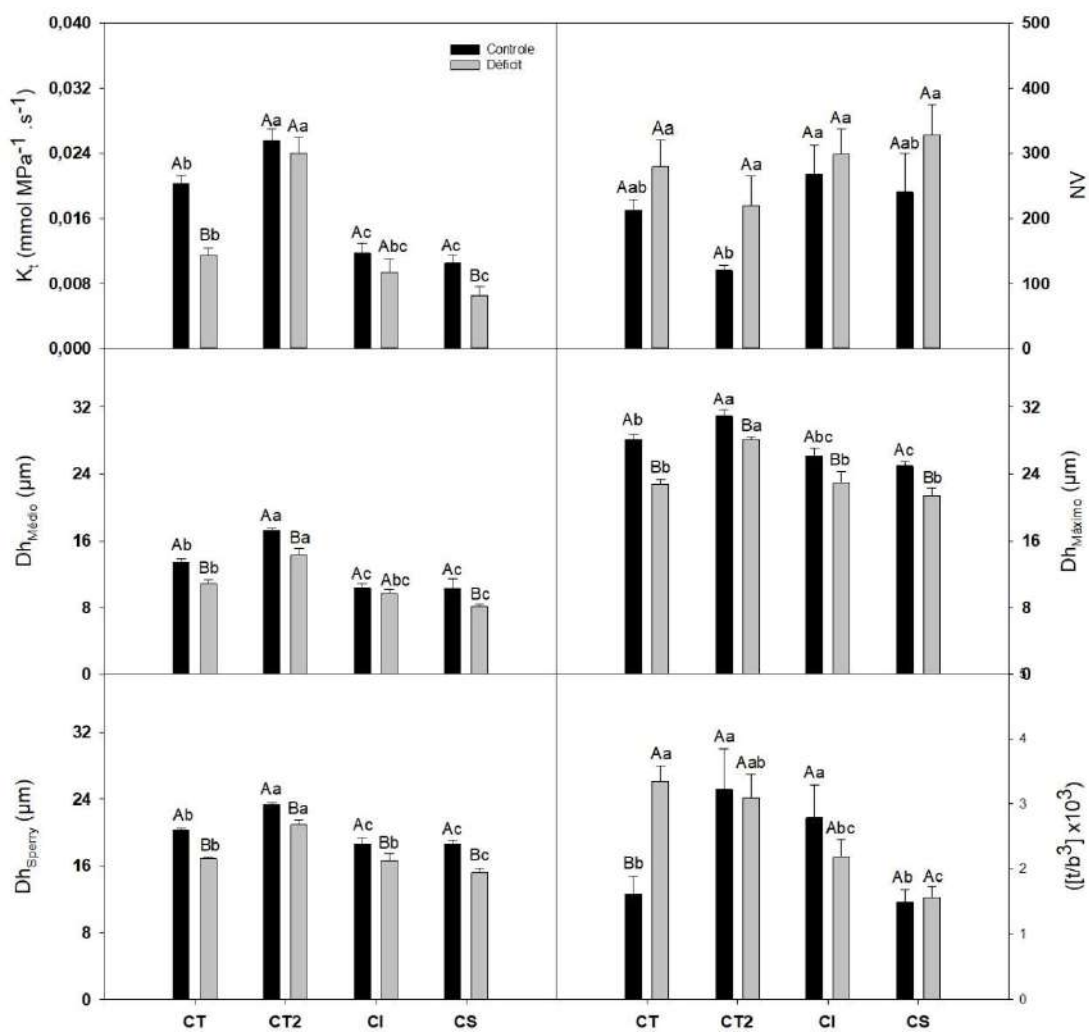


Figura 3

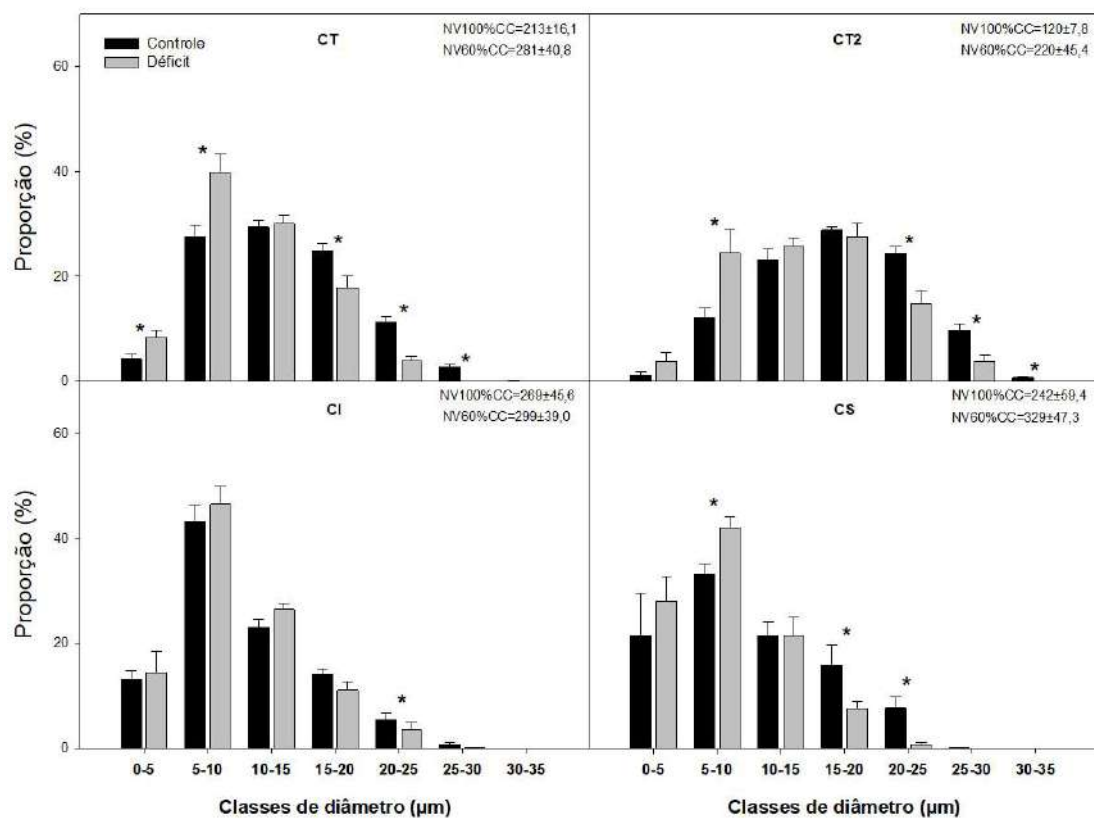


Figura 4

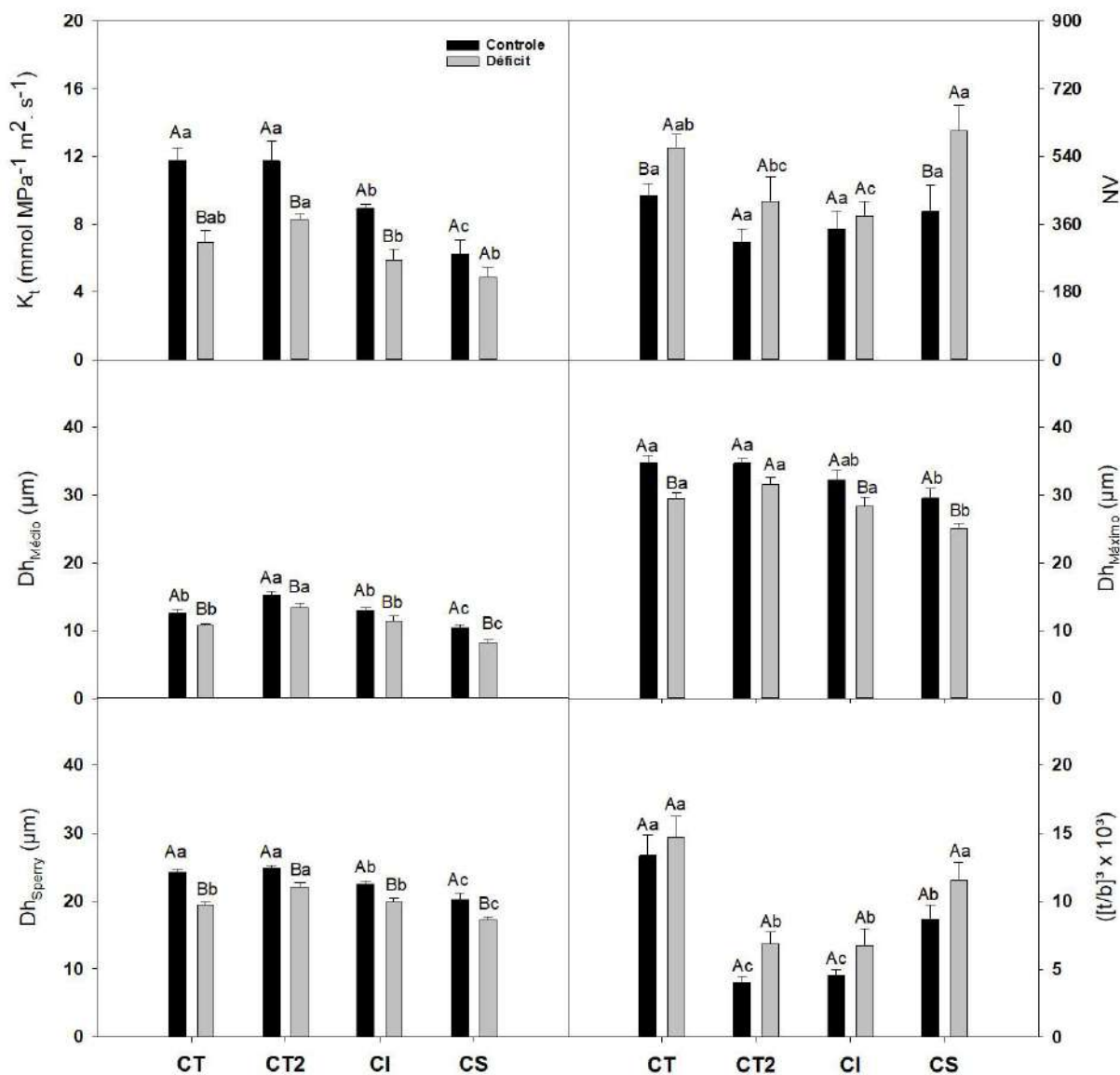


Figura 5

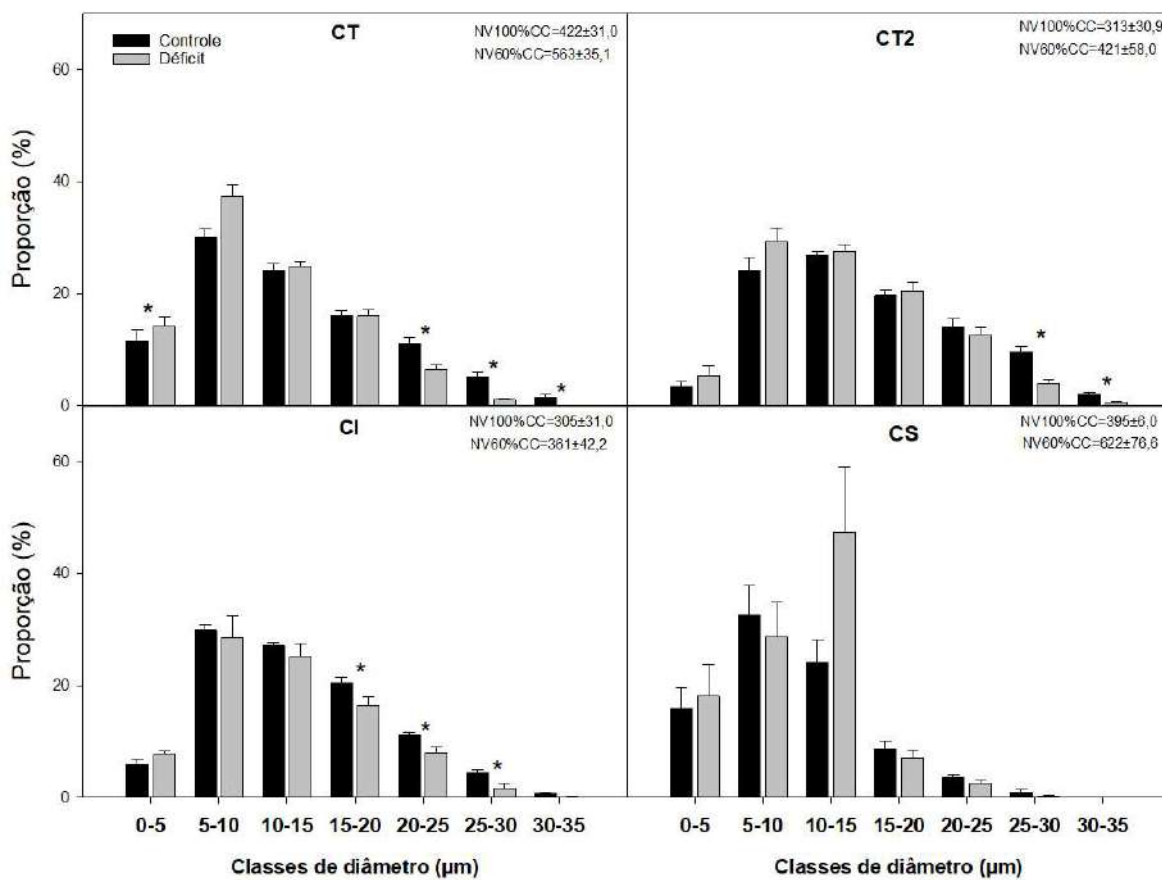


Figura 6

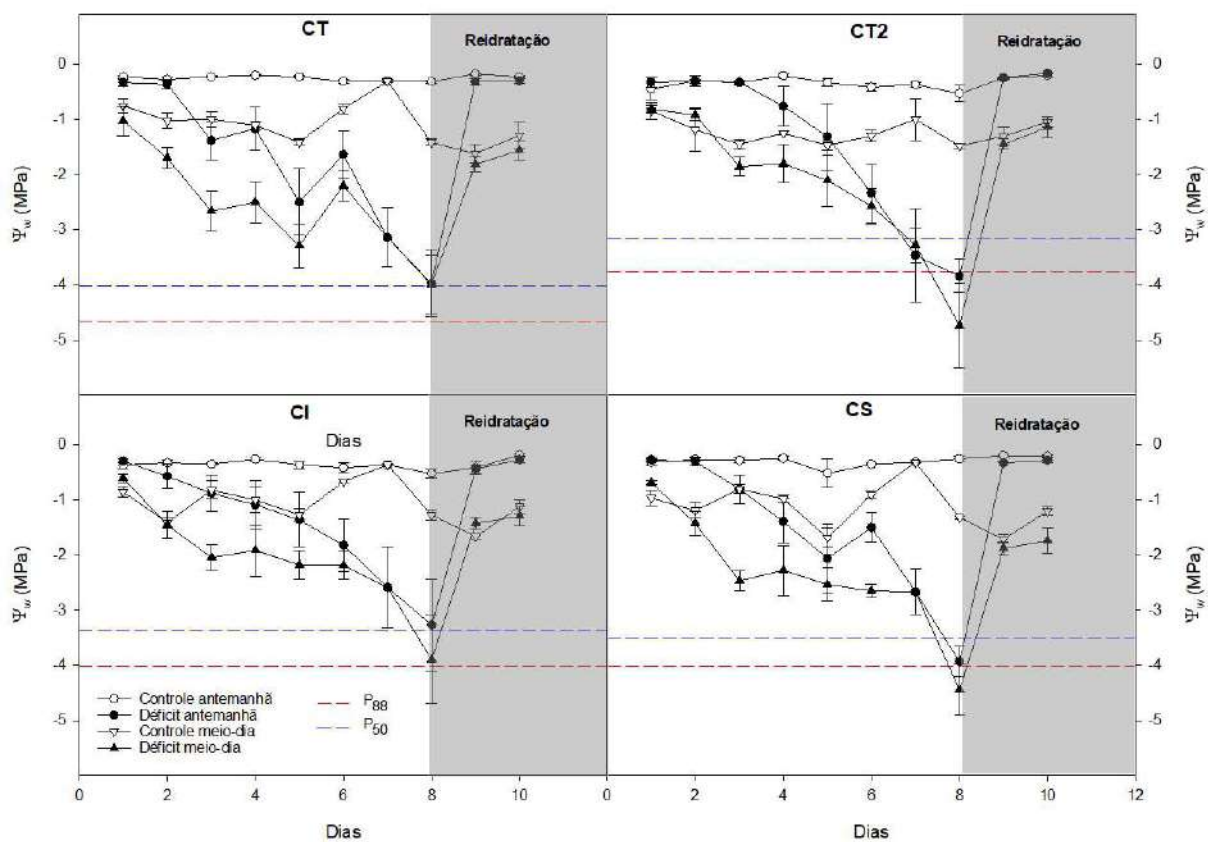


Figura 7

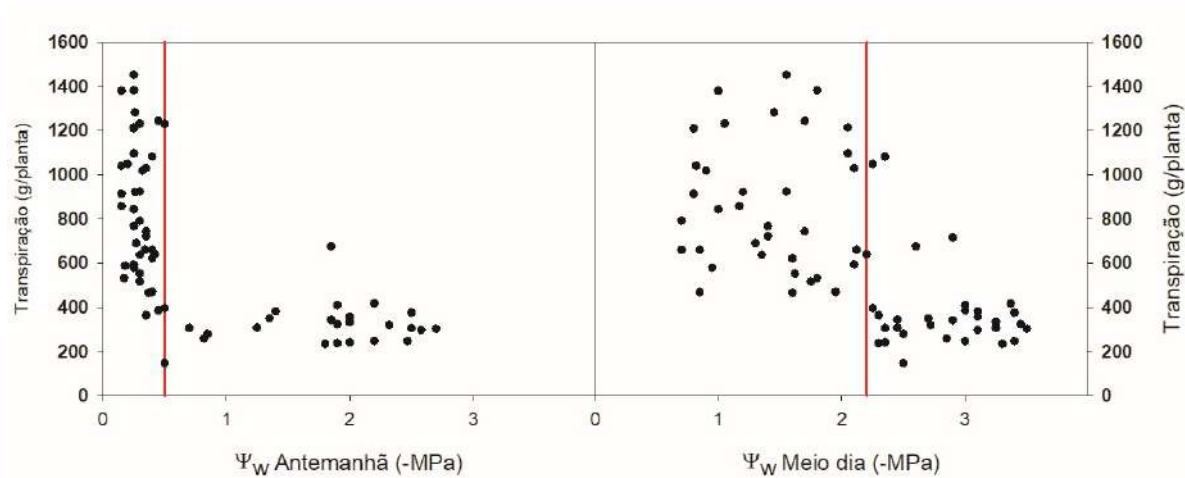


Figura 8

