

DÉBORA DURSO NEVES CAETANO

**Prospecção de marcadores visando a seleção precoce quanto a
tolerância à seca de ponteiros em *Eucalyptus***

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

C127p
2016

Caetano, Débora Durso Neves, 1992-

Prospecção de marcadores visando a seleção precoce
quanto a tolerância à seca de ponteiros em *Eucalyptus* / Débora
Durso Neves Caetano. - Viçosa, MG, 2016.
vi; 38f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Edgard Augusto de Toledo Picoli.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Melhoramento vegetal. 2. Eucalipto - Aspecto
fisiológico. 3. Eucalipto - Aspecto morfológico. 4. Déficit
hídrico. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Vegetal. Programa de Pós-graduação em Genética e
Melhoramento. II. Título.

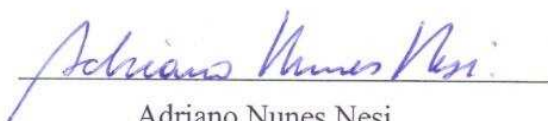
CDD 22 ed. 631.52

DÉBORA DURSO NEVES CAETANO

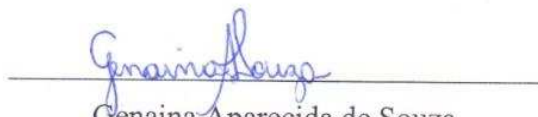
Prospecção de marcadores visando a seleção precoce quanto a tolerância à seca de ponteiros em *Eucalyptus*

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

APROVADA: 8 de julho de 2016.



Adriano Nunes Nesi
(Coorientador)



Genaina Aparecida de Souza
(Coorientadora)



Thaís Roseli Corrêa



Edgard Augusto de Toledo Picoli
(Orientador)

Aos meus pais, Fernando e Denise,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo e de todos, pela maravilhosa graça a mim dispensada.

Aos meus pais, por todo suporte e amor incondicional.

À minha grande família, em especial meus irmãos Fernandinho, Lucas, Matheus e Hanna, por me incentivarem e me acompanharem de perto em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa pela infraestrutura e acolhimento.

Ao CNPq, Fapemig e Suzano Papel e Celulose pelo apoio financeiro.

Ao Professor Edgard, pela orientação, dedicação e acompanhamento.

Aos co-orientadores Adriano, Genaína e Thaís pelos conselhos e sugestões para melhoria desse trabalho.

À equipe EUCAFÉ, pelos momentos compartilhados.

À família IPV, por me acolher em Viçosa.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	4
Potencial hídrico	5
Variáveis morfológicas	5
Variáveis nutricionais	5
Variáveis de crescimento	6
Variáveis fisiológicas	6
Determinação de metabólitos	6
Análise estatística	7
RESULTADOS	7
Potencial hídrico da solução do substrato	7
Variáveis morfológicas, nutricionais e de crescimento discriminam genótipos	8
Análise de perfil metabólico permite discriminar genótipos	11
Metabólitos discriminam genótipos tolerante e suscetível à seca de ponteiros	14
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÕES	22
BIBLIOGRAFIA	23
ANEXO	28

RESUMO

CAETANO, Débora Durso Neves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Prospecção de marcadores visando a seleção precoce quanto a tolerância à seca de ponteiros em Eucalyptus.** Orientador: Edgard Augusto de Toledo Picoli. Coorientadores: Adriano Nunes Nesi e Genaina Aparecida de Souza.

A seca de ponteiros do eucalipto é um distúrbio fisiológico caracterizado pelo aparecimento de lesões no ápice dos ramos, comprometendo o crescimento da planta e podendo causar a morte prematura das árvores. O déficit hídrico é relatado como um potencial causador do distúrbio em regiões mais secas por afetar o metabolismo da planta como um todo. Contudo, dados empíricos sugerem que genótipos que apresentam maior tolerância à seca de ponteiros também têm apresentado tolerância ao déficit hídrico. Dessa forma, a identificação de genótipos tolerantes à falta de água pode ser usada como estratégia de seleção de genótipos tolerantes à seca de ponteiros. Diante disso, genótipos com distintos graus de tolerância à seca de ponteiros foram submetidos a tratamentos de déficit hídrico a fim de identificar características que possam ser utilizadas em programas de melhoramento para seleção precoce de genótipos de eucalipto tolerantes a este distúrbio. Para isso foram avaliadas características morfológicas, fisiológicas, nutricionais e metabólicas. Não foram observadas diferenças significativas entre as variáveis fisiológicas avaliadas, entretanto o genótipo tolerante apresentou maior área foliar e diâmetro do caule e níveis mais elevados de Ca em relação ao genótipo suscetível. Com relação às variáveis metabólicas avaliadas, os níveis de serina, asparagina, metionina, ornitina, ácido sinápico, fenilalanina e ácido fumárico permitiram distinguir o genótipo tolerante do suscetível. As variáveis que discriminaram o genótipo tolerante do suscetível estão associadas às diferentes taxas de crescimento, ao investimento em formação de parede celular e lignificação, à ciclagem de nitrogênio através do ciclo da ureia e à produção de compostos fenólicos, características que estão relacionadas à tolerância ao estresse hídrico.

ABSTRACT

CAETANO, Débora Durso Neves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Markers prospection for early selection of dieback tolerance in *Eucalyptus***. Adviser: Edgard Augusto de Toledo Picoli. Co-advisers: Adriano Nunes Nesi and Genaina Aparecida de Souza.

The eucalyptus dieback is a physiological disorder characterized by the appearance of lesions on the apex of the branches, compromising the plant growth and can cause premature death of the trees. The water deficit is reported as a possible cause for this disorder in drier regions because it affects plant metabolism as a whole. However, empirical data suggest that genotypes that have increased tolerance to tolerance to dieback also shown tolerance to drought. Accordingly, the identification of genotypes tolerant water deficit can be used as a selection strategy to obtain dieback tolerant genotypes. Thus, genotypes with distinct tolerance to eucalyptus dieback were submitted to water deficit treatments in order to identify characteristics that can be used in breeding programs to early selection of eucalyptus tolerant genotypes. In order to accomplish this we evaluated morphological, physiological, nutritional and metabolic characteristics. The physiological characteristics did not differed significantly, however, the tolerant genotype exhibited higher leaf area and stem diameter and more elevated levels of Ca in relation susceptible genotype. Regarding the metabolic variables evaluated, the levels of serine, asparagine, methionine, ornithine, sinapic acid, phenylalanine and fumaric acid allowed to distinguish the tolerant from susceptible genotype. The variables that discriminate the tolerant genotype from the susceptible one are associated with different rates of growth, investment on cell wall formation and lignification, the cycling of nitrogen through the cycle of urea and on production of phenolic compounds, characteristics that are related to tolerance to water stress.

INTRODUÇÃO

A seca de ponteiros do eucalipto é uma anomalia vegetal que vem sendo estudada desde seus primeiros relatos, em meados do século XX na Austrália (JURKIS, 2005). Ela é caracterizada pelo aparecimento de lesões amarronzadas na base de ramos e pecíolos, que podem evoluir para minicancros, levando à morte da parte apical dos ramos e comprometendo o crescimento da planta. Em situações mais extremas, pode haver abscisão foliar e até morte da planta (DIANESE et al., 1984; LEITE, et al., 2014).

Apesar dos sintomas serem bem caracterizados, os fatores causadores da seca de ponteiros do eucalipto ainda não são totalmente esclarecidos, sendo considerada uma anomalia vegetal de etiologia complexa, que pode ser induzida por fatores bióticos e abióticos (JURSKIS 2005).

Dentre os fatores que têm sido citados como possíveis causadores da seca de ponteiros do eucalipto estão variáveis climáticas como precipitação pluviométrica e temperatura, variáveis nutricionais, ataque de insetos, fungos patogênicos e poluição agrícola e urbana (DIANESE et al., 1984; WHITE, 1986; JURKIS, 2005; BROUWERS et al., 2013).

Em situações de alagamento, causadas por chuvas intensas em regiões em que os solos possuem problemas de drenagem ou pelo aumento do nível do lençol freático, ocorrem condições de hipoxia e alterações nas características químicas do solo, como pH e potencial redox, aumentando-se assim a disponibilidade de íons como Mn, Fe e Cu (HAUCK et al., 2003; DAT et al., 2004; SHENKER et al., 2004). A absorção diferenciada desses nutrientes pela planta pode atrapalhar a absorção de outros elementos, além de poder atingir níveis tóxicos, afetando assim o metabolismo da planta e gerando um desequilíbrio fisiológico que pode levar à seca de ponteiros (LEITE, et al., 2014).

O déficit hídrico também têm sido relatado como causador da seca de ponteiros (FENSHAM, HOLMAN, 1999; WORRALL et al., 2008; ALLEN et al., 2010; CARNICER et al., 2011; PENG et al., 2011) uma vez que afeta o metabolismo das plantas (NOGUEIRA et al., 2001), incluindo a abertura e fechamento estomático, taxas transpiratórias e fotossintéticas (FLEXAS et al., 2002; CHAVES et al., 2003; WRIGHT et al., 2004), além de poder afetar o conteúdo nutricional, o metabolismo do nitrogênio e do carbono e o ajuste osmótico (BRAY, 1997; CALLISTER et al., 2006). Com o déficit hídrico, a absorção de boro, que ocorre preferencialmente por fluxo de massa, também é

prejudicada. Com isso o desenvolvimento da planta é afetado, uma vez que o boro tem importante papel no crescimento, podendo levar também ao aparecimento da seca de ponteiros (AHMAD et al., 2009; MIWA, FUJIWARA, 2010).

Assim, a seca de ponteiros pode ser caracterizada como um distúrbio fisiológico desencadeado como respostas das plantas a estresses fisiológicos sofridos (WHITE, 1986). Nesse contexto, os insetos e organismos fitopatogênicos têm sido tratados não como causadores da seca de ponteiros, mas como oportunistas, atacando aquelas plantas que já se encontram estressadas (WHITE, 1986; JURKIS, 2005).

No Brasil, os primeiros relatos de seca de ponteiros do eucalipto datam do ano de 1974, afetando mais de 30 mil hectares de plantações de eucalipto na região do Vale do Rio Doce, no estado de Minas Gerais (DIANESE et al., 1984). A seca de ponteiros nessa região foi chamada de Seca de Ponteiros do Eucalipto do Vale do Rio Doce (SPEVRD) e sua causa tem sido associada a situações de elevada precipitação associadas ao acúmulo de manganês na planta, sendo observada em plantas de 12 a 24 meses (LEITE, et al., 2014). Em seguida, nos anos de 1988 e 1992 foram efetuados os primeiros registros do distúrbio em árvores na região de Arapoti, Paraná. O distúrbio foi chamado de Seca de Ponteiros da Região de Arapoti (SPEA), sendo considerado semelhante à SPEVRD, com a diferença de se manifestar em plantas com idade entre 6 meses a pouco mais de um ano (MASCHIO et al., 2000).

Com a expansão das áreas de florestas plantadas de eucalipto para regiões mais secas, como o cerrado, o distúrbio tem se manifestado, mas sua causa tem sido associada a situações de déficit hídrico, devido às baixas precipitações que ocorrem nesses ambientes (MATTIELLO et al., 2009). Em áreas plantadas de eucalipto da empresa Suzano Papel e Celulose nos estados da Bahia, Maranhão e Piauí, tem sido observado que genótipos que apresentam maior tolerância a seca de ponteiros também têm apresentado tolerância ao déficit hídrico. Dessa forma, sabendo que a seca de ponteiros é um distúrbio fisiológico desencadeado pelo déficit hídrico nessas regiões, a identificação de genótipos tolerantes à falta de água pode ser usada como estratégia de seleção de genótipos tolerantes à seca de ponteiros.

Quando submetidos ao déficit hídrico, genótipos de eucalipto que são tolerantes à seca apresentam mudanças morfo-fisiológicas e metabólicas que os permitem suportar a situação estressante (SILVA et al., 2004; SHANKER et al., 2014). As principais modificações morfo-fisiológicas observadas são na condutância estomática, eficiência do uso da água, desenvolvimento de parte aérea, radicular e área foliar (SILVA et al., 2004;

PITA et al., 2005). Em estudos com *Eucalyptus globulus* suscetível ao déficit hídrico foi observado redução de crescimento, de condutância estomática, de trocas gasosas, de área foliar e de potencial hídrico (SILVA et al., 2004; CORREIA et al. 2014a, b), enquanto que genótipos tolerantes mantiveram elevada taxa de crescimento, com expansão de área foliar, crescimento radicular e acúmulo de conteúdo endógeno de ABA e de proteínas envolvidas no processo de tolerância a estresses abióticos (SILVA et al., 2004; VALDÉS et al., 2013).

Com relação às alterações metabólicas, foram observadas diferenças nos metabólitos foliares de diferentes espécies de eucalipto, sendo que o estresse hídrico afetou 30-40% dos metabólitos mensurados em *Eucalyptus dumosa* e 10-15% em *Eucalyptus pauciflora*. Essas mudanças incluem aumento em cinco álcoois de açúcar acíclicos e quatro carboidratos de baixa abundância em *Eucalyptus dumosa* (WARREN et al. 2012). Correia et al. (2016) utilizaram GC-MS para analisar os metabólitos de dois genótipos de *Eucalyptus globulus* que exibiam diferenças fisiológicas em sua capacidade de tolerar o estresse hídrico como níveis de MDA, ABA, transpiração, condutância estomática e pigmentos. McKiernan et al. (2014) investigaram a influência da disponibilidade de água em uma gama de metabólitos foliares secundários em *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus viminalis* em fase juvenil e observaram redução na concentração de fenólicos totais nas duas espécies quando submetidas a déficit hídrico e redução da concentração de dois terpenos em estágios foliares específicos. Apesar de considerar diferentes espécies de eucalipto, são observadas alterações morfológicas e metabólicas que podem refletir estratégias dos genótipos que contribuam para a tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros.

Dado o exposto, o objetivo desse trabalho foi identificar variáveis morfológicas, fisiológicas, nutricionais e metabólicas que possam ser utilizadas como marcadores para a tolerância à seca de ponteiros do eucalipto em fase juvenil através da análise de genótipos de eucalipto com distintos graus de tolerância à seca de ponteiros submetidos ao déficit hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Três genótipos comerciais distintos e um genótipo em fase de teste, híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, disponibilizados pela empresa Suzano Papel e Celulose foram utilizados na realização do experimento. Informações sobre o grau de tolerância à seca de ponteiros de cada genótipo foram disponibilizadas pela empresa, sendo esses classificados como: Suzano 1 – tolerante; Suzano 2 – medianamente tolerante; Suzano 3 – em teste; Suzano 4 – suscetível à seca de ponteiros. Estas informações têm por base o histórico destes clones nas áreas de produção da empresa mais propensas à ocorrência desse distúrbio, sendo estes clones utilizados como ideótipos para tolerância e suscetibilidade para seca de ponteiros.

As mudas foram produzidas pela empresa e, com 110 dias, foram enviadas para as instalações da CLONAR – Resistência a Doenças de Plantas, Cajuri, MG, onde o experimento foi realizado. As mudas foram transplantadas para sacos plásticos de volume de 2 litros contendo substrato de casca de arroz carbonizada e adubo. Elas foram aclimatadas em casa de vegetação numa temperatura média de 25°C, umidade relativa média de 70%, com iluminação natural e irrigação diária. O experimento foi montado após um período de aclimação de aproximadamente 30 dias.

Os tratos culturais foram realizados de acordo com procedimento padrão do viveiro, incluindo adubação inicial e durante a manutenção das mudas, irrigação diária e controle fitossanitário quando e se necessário.

O experimento foi realizado em casa de vegetação com os quatro genótipos e quatro tratamentos, a citar: controle – mudas conduzidas de acordo com o manejo padrão do viveiro; 100 PEG – mudas conduzidas de acordo com manejo padrão e aplicação de 100 mL de solução 100 g L⁻¹ de polietileno glicol 6000 (PEG); 300 PEG - mudas conduzidas de acordo com o manejo padrão e aplicação de 100 mL de solução 300 g L⁻¹ de PEG; Bandeja - mudas conduzidas de acordo com manejo padrão e mantidas em bandejas com lâmina d'água constante de 3 cm.

A aplicação inicial de PEG foi realizada em intervalos decrescentes de 6, 5, 4, 3, 2 e 1 dia, quando foram constatados sintomas atribuídos à fitotoxidez ou estresse hídrico, sendo adotado o intervalo de aplicação de PEG de 2 em 2 dias.

O potencial hídrico da solução do substrato (MPa) de cada recipiente onde foram conduzidas as plantas foi estimado ao final do experimento para registro e comprovação do estresse hídrico aplicado às plantas. O substrato foi seco em estufa a 60°C por 3-4 dias.

Do substrato seco foi retirada uma amostra de 10 g a qual foi transferida para funil com papel filtro e adicionado um volume de 15 ml de água destilada. O filtrado foi coletado e utilizado para medição do potencial osmótico da solução

O experimento foi montado em um delineamento em blocos casualizados, em um esquema fatorial 4x4, onde cada bloco, delimitado por uma bancada, apresentou a combinação dos quatro tratamentos e dos quatro genótipos. Todas as dezesseis combinações de genótipo e tratamento foram constituídas por parcelas de três plantas e distribuídas em cinco blocos.

O experimento teve duração de aproximadamente 60 dias, quando foram quando foram coletados os dados morfológicos, fisiológicos, nutricionais, as amostras para perfil metabólico e determinado o potencial osmótico do substrato.

Potencial hídrico

O potencial hídrico da solução do substrato, de cada recipiente onde foram conduzidas as plantas, foi estimado com base na medida direta da solução do substrato em osmômetro.

Variáveis morfológicas

As variáveis avaliadas foram o diâmetro do caule (D) medido a 5 cm acima da região do coleto; número total de ramos (NR); número de nós (NN) contados a partir de uma marcação realizada na montagem do experimento (nó apresentando folhas completamente expandidas, aproximadamente o terceiro nó, contado a partir da gema apical); área foliar (AF) calculada a partir de 10 folhas retiradas do terceiro ou quarto nó com folhas totalmente expandidas tomados do ápice para a base de cada planta e altura das plantas (AL). Esses dados foram coletados em todas as plantas ao final do experimento.

Variáveis nutricionais

Para a análise das variáveis nutricionais foram coletadas vinte folhas sadias e totalmente expandidas do terço médio de cada planta. As folhas foram secas em estufa a 60°C por 3 dias e enviadas para o Laboratório de Solos Florestais do Departamento de Solos da UFV, onde as análises de macro e micronutrientes foram realizadas. Para a determinação dos níveis de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn e Fe as folhas foram submetidas à digestão Nítrico-Perclórica como descrito por Sarruge & Haag (1974). A determinação

dos níveis de P foi feita por colorimetria pelo método do ácido ascórbico (BRAGA, DEFELIPO, 1974), a de K foi feita por fotometria de chama, a de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica, os níveis de S foram determinados por turbidimetria (ALVAREZ et al, 2001) e os de N pelo método Kjeldahl.

Variáveis de crescimento

As variáveis de matéria fresca (MF) e seca (MS) totais ou subdivididas em folhas, caules e raízes foram avaliadas (MFF – matéria fresca de folha; MFC - matéria fresca de caule; MFR - matéria fresca de raiz; MFT – matéria fresca total; MSF – matéria seca de folha; MSC - matéria seca de caule; MSR - matéria seca de raiz; MST - matéria seca total). Foi avaliada também a proporção de folhas, caules e raízes em relação à matéria fresca (F/MFT; C/MFT; R/MFT) e seca total (F/MST; C/MST; R/MST) e o incremento diferencial de matéria seca em reação ao início do experimento (IMSF – incremento de matéria seca de folha; IMSC - incremento de matéria seca de caule; IMSR - incremento de matéria seca de raiz; IMST - incremento de matéria seca total).

Variáveis fisiológicas

As variáveis de transpiração (E), condutância estomática (gs), fotossíntese (A), eficiência instantânea do uso da água (A/E), eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), concentração intercelular de carbono (C_i) e relação carbono interno/carbono externo (C_i/C_a) foram mensuradas com auxílio do aparelho IRGA (LCpro-SD, ADC BiocientificLtd.). As medições foram realizadas em uma planta por parcela no período de 9:00 às 11:30 h. A avaliação foi realizada sob irradiação constante de 1.000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, utilizando-se as folhas expandidas do terço médio das plantas. Foram analisadas as médias e desvio padrão de cada variável por genótipo e tratamento.

Determinação de metabólitos

Amostras foliares foram coletadas de uma planta por parcela. A amostragem foi feita durante o dia, após 6 horas de iluminação. Após coletadas, as folhas foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e em seguida armazenadas a -80°C até o uso.

As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido e 50 mg de cada amostra foram utilizados para realização das análises. Em seguida sucedeu-se as etapas de extração e derivatização, que foram realizadas segundo o protocolo estabelecido por Lisec et al.

(2006). A quantificação dos metabólitos foi feita por GC-MS no Núcleo de Biomoléculas da UFV, segundo Roessner et al. (2001). Os espectros de massa e cromatogramas foram analisados utilizando o Chroma TOF 1,0 (Leco, <http://www.leco.com/>) e software Target Search (CUADROS-INOSTROZA et al., 2009). A identificação dos metabólitos foi assessorada manualmente usando a coleção de índice de massa espectral e retenção da base de dados Golm Metabolome (KOPKA et al., 2005).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análises uni e multivariadas com testes de homogeneidade de variâncias, distribuição normal, análise de variância, teste de médias Tukey e análises de agrupamento utilizando o programa GENES (CRUZ, 2013). Os heatmaps foram montados com auxílio do Excel e do programa MEV. Para fins de análise, o tratamento bandeja foi desconsiderado e será abordado isoladamente em outro trabalho.

RESULTADOS

Potencial hídrico da solução do substrato

O potencial hídrico da solução do substrato, no qual cada combinação de genótipo e tratamento foi conduzida, foi mensurado e constatou-se, como esperado, que houve redução significativa do potencial hídrico (Tabela 1).

Tabela 1. Teste de médias para o potencial hídrico (Mpa) da solução do substrato amostrado em cada tratamento.

Tratamento	Potencial osmótico
Controle	-0.084a
100 PEG	-0.348b
300 PEG	-0.476c

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Variáveis morfológicas, nutricionais e de crescimento discriminam os genótipos tolerantes dos suscetíveis

As variáveis morfológicas estudadas apresentaram variação apenas entre genótipos (Tabela 2). Dentre elas destacam-se as variáveis diâmetro do caule (D) e área foliar (AF) que permitiram a distinção entre os genótipos tolerante e suscetível. Observa-se que o genótipo suscetível apresentou D menor que os demais e que o genótipos tolerante apresentou maior AF que os demais.

As variáveis altura, número de nós (NN) e número de ramos (NR) não diferiram de forma significativa entre os genótipos, impossibilitando a distinção entre os genótipos tolerante e o suscetível.

Tabela 2. Teste de médias das variáveis morfológicas que apresentaram variação entre genótipos.

Genótipo	D	NR	NN	AL	AF
Suzano 1	9.69 a	22.29 a	6.50 ab	95.70 a	30.40 a
Suzano 2	9.47 a	19.52 b	5.83 b	93.43 a	22.78 b
Suzano 3	9.32 a	22.67 a	7.36 a	106.04 a	22.52 b
Suzano 4	7.85 b	21.03 a	7.23 a	99.57 a	22.19 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. D = diâmetro; NR = número de ramos; NN = número de nós; AL = altura e AF = área foliar.

As análises nutricionais permitiram a formação de dois grupos de variáveis: em um grupo estão os nutrientes S e Cu, que apresentaram interação entre genótipo e tratamento (dados não apresentados) e no outro os demais nutrientes, os quais apresentaram variação apenas entre genótipos (Tabela 3). Apesar de apresentar interação significativa, os níveis de Cu e S foram similares entre os genótipos tolerante e suscetível.

Dos nutrientes que apresentaram diferença significativa considerando os genótipos, o Ca e B se destacam por permitirem discriminar o genótipo tolerante do suscetível. O genótipo tolerante apresentou maiores níveis de Ca e menores níveis de B em comparação com o suscetível.

Tabela 3. Teste de médias das variáveis nutricionais que apresentaram diferença significativa entre genótipos.

Genótipo	N	P	K	Ca	Mg
Suzano 1	1.22 ab	0.23 a	1.07 ab	1.07 a	0.39 a
Suzano 2	1.13 b	0.24 a	0.83 b	0.88 ab	0.31 b
Suzano 3	1.14 b	0.29 a	0.98 ab	0.95 ab	0.39 a
Suzano 4	1.50 a	0.24 a	1.13 a	0.84 b	0.35 ab
	Zn	Fe	Mn	B	
Suzano 1	22.90 b	173.28 a	242.52 a	20.84 b	
Suzano 2	21.92 b	95.39 a	172.01 a	19.17 b	
Suzano 3	33.55 a	177.22 a	204.50 a	24.27 ab	
Suzano 4	19.81 b	118.07 a	193.81 a	26.61 a	

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio expressos em dag kg⁻¹, e zinco, ferro, manganês e boro em mg kg⁻¹.

Dentre as variáveis referentes aos dados de crescimento, apenas matéria fresca total (MFT) e matéria fresca de caule (MFC) apresentaram diferença significativa. Com as análises de crescimento observou-se que, com a redução da disponibilidade de água, todos os genótipos sofreram redução de MFT (Tabela 4). A variável MFC apresentou variação entre genótipos sendo que houve tendência de redução da MFC do genótipo suscetível em relação aos demais (Tabela 5).

Tabela 4. Teste de médias da variável de crescimento MFT.

Tratamento	MFT
1	242.61 a
2	224.37 ab
3	189.21 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. MFT = matéria fresca total.

Tabela 5. Teste de médias da variável de crescimento MFC.

Genótipo	MFC
Suzano 1	72.60 ab
Suzano 2	67.01 ab
Suzano 3	77.70 a
Suzano 4	50.33 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. MFC = matéria fresca de caule.

Os genótipos tanto quanto os tratamentos foram semelhantes entre si quando as variáveis fisiológicas foram avaliadas (dados não apresentados).

As 12 combinações dos 4 genótipos com os 3 tratamentos foram submetidas à análise multivariada de variáveis canônicas e análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher baseado em seis variáveis. A escolha destas variáveis foi devido à discriminação entre os genótipos proporcionada por MFC, D, AF, Ca e B, e entre tratamentos proporcionada por MFT. Pela análise de variáveis canônicas 81,46% da variabilidade entre as combinações genótipo x tratamento foi representada nas duas primeiras variáveis canônicas e por isso os dados foram representados em uma projeção 2D (Figura 1).

O agrupamento pelo método de otimização de Tocher permitiu a formação de 5 grupos, sendo o grupo A composto pelo genótipo médio tolerante nos três tratamentos e pelo genótipo em teste nos tratamentos de estresse hídrico (100 e 300 PEG), o grupo B constituído pelo genótipo tolerante nos três tratamentos (controle, 100 e 300 PEG), o grupo C pelo genótipo suscetível nos tratamentos controle e 100 PEG, o grupo D formado apenas pelo tratamento controle do genótipo indeterminado e o grupo E composto pelo genótipo suscetível no tratamento de maior estresse hídrico (300 PEG).

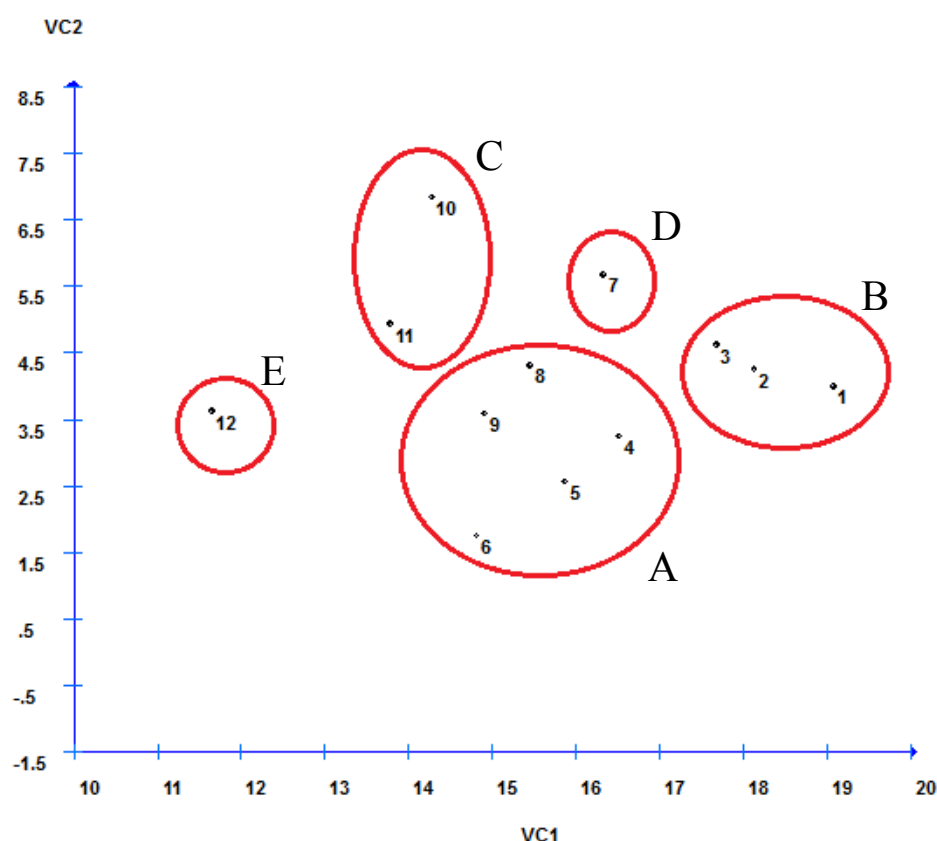


Figura 1. Dispersão das 12 combinações de genótipo x tratamento nas variáveis canônicas 1 e 2 baseado nas variáveis MFT, MFC, D, AF, Ca e B. Grupos formados pelo método de otimização de Tocher representados pelas linhas vermelhas. 1, 2, 3: genótipo tolerante nos tratamentos controle, 100 e 300 PEG respectivamente; 4, 5, 6: genótipo médio tolerante nos tratamentos controle, 100 e 300 PEG respectivamente; 7, 8, 9: genótipo em fase de teste nos tratamentos controle, 100 e 300 PEG respectivamente; 10, 11, 12: genótipo suscetível nos tratamentos controle, 100 e 300 PEG respectivamente.

Análise de perfil metabólico permite discriminar genótipos tolerante e suscetível

A análise de perfil metabólico de folhas de quatro genótipos de eucalipto segregantes quanto a tolerância à seca de ponteiros, submetidos a diferentes condições de estresse hídrico, permitiu a identificação de 69 metabólitos, sendo: 19 aminoácidos, 9 ácidos orgânicos, 13 açúcares, 2 poliaminas, 11 ácidos graxos e 15 caracterizados como “outros” (Figura 2).

A análise de agrupamento com base na distância euclidiana obtida a partir dos metabólitos identificados pelo perfil metabólico permitiu a formação de três grupos, sendo um deles formado pelo genótipo tolerante (A), outro pelo suscetível (B) e o terceiro grupo formado pelo genótipos médio tolerante e o genótipo em fase de teste (C) (Figura 3). Esse agrupamento permitiu verificar que, de forma independente dos tratamentos, os

metabólitos possuem um comportamento diferente para o genótipo tolerante e para o suscetível, permitindo separá-los em grupos distintos. Por outro lado, para os genótipos médio tolerante e em fase de teste, os metabólitos apresentam um comportamento semelhante, o que permitiu a formação do terceiro grupo.

O agrupamento hierárquico com base na distância euclidiana apresentado no mapa de cores permitiu estimar a distância entre cada combinação genótipo x tratamento a partir do comportamento dos metabólitos (Figura 2). De acordo com esse agrupamento a proximidade entre os tratamentos do genótipos médio tolerante e do genótipo em fase de teste é verificada, o que reforça o resultado apresentado na Figura 2, onde eles formam um único grupo.

Próximo a esse grupo aparece o genótipo tolerante no tratamento 100 PEG (Figura 2), o que indica que o genótipo tolerante, quando em situação de estresse moderado, possui um comportamento próximo ao apresentado pelo genótipo médio tolerante. Já em situação de maior estresse (300 PEG), o genótipo tolerante aparece de forma isolada (Figura 1), o que indica um comportamento característico e diferente dos demais genótipos. O mesmo ocorre com o genótipo suscetível em situação de estresse mais severo (tratamento 300 PEG), que também aparece isolado dos demais. O genótipo suscetível apresenta comportamento parecido nos tratamentos controle e 100 PEG, a julgar pela proximidade em que eles se encontram no gráfico. Próximo a eles está o genótipo tolerante no tratamento controle (Figura 2).

O resultado das análises de agrupamento com base na distância euclidiana a partir do comportamento dos metabólitos indica que o genótipo médio tolerante e o genótipo em fase de teste possuem um comportamento similar independente do tratamento ao qual são submetidos (Figura 2).

Com base nestes resultados podemos inferir que o genótipo em fase de teste apresenta um comportamento semelhante ao genótipo médio tolerante. Por outro lado, os genótipos tolerante e suscetível apresentam variação dos níveis dos metabólitos dependendo do tratamento a que estão submetidos. Os níveis destes metabólitos variaram para o genótipo suscetível somente em estresse mais severo, porém, de forma diferente do genótipo tolerante quando submetido a cada um dos tratamentos, o que indica alteração ou adaptação do seu metabolismo diferenciadas, de acordo com as condições de estresse ambientais em que estes indivíduos se encontram.

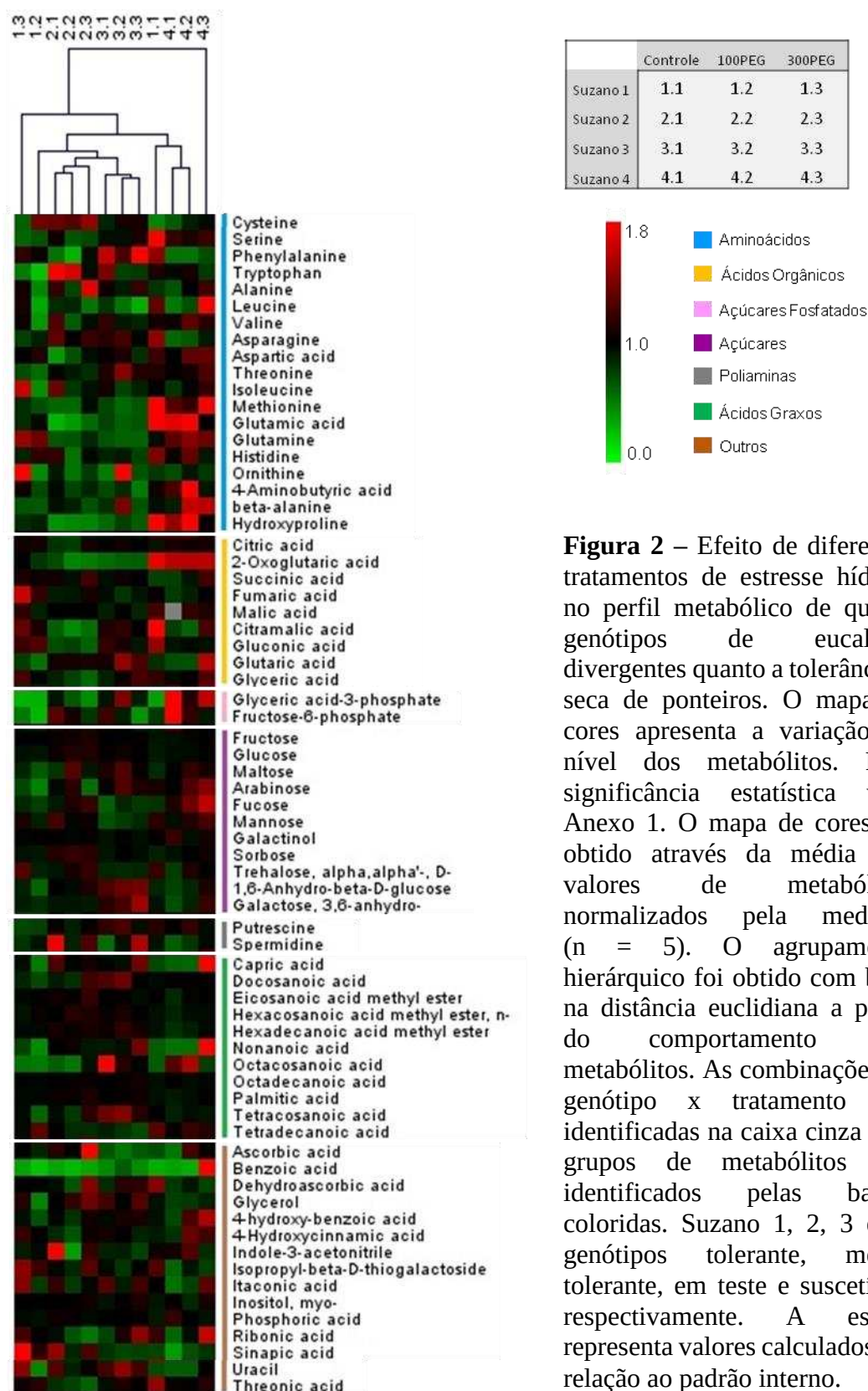


Figura 2 – Efeito de diferentes tratamentos de estresse hídrico no perfil metabólico de quatro genótipos de eucalipto divergentes quanto a tolerância à seca de ponteiros. O mapa de cores apresenta a variação do nível dos metabólitos. Para significância estatística vide Anexo 1. O mapa de cores foi obtido através da média dos valores de metabólitos normalizados pela mediana ($n = 5$). O agrupamento hierárquico foi obtido com base na distância euclidiana a partir do comportamento dos metabólitos. As combinações de genótipo x tratamento são identificadas na caixa cinza e os grupos de metabólitos são identificados pelas barras coloridas. Suzano 1, 2, 3 e 4: genótipos tolerante, médio tolerante, em teste e suscetível, respectivamente. A escala representa valores calculados em relação ao padrão interno.

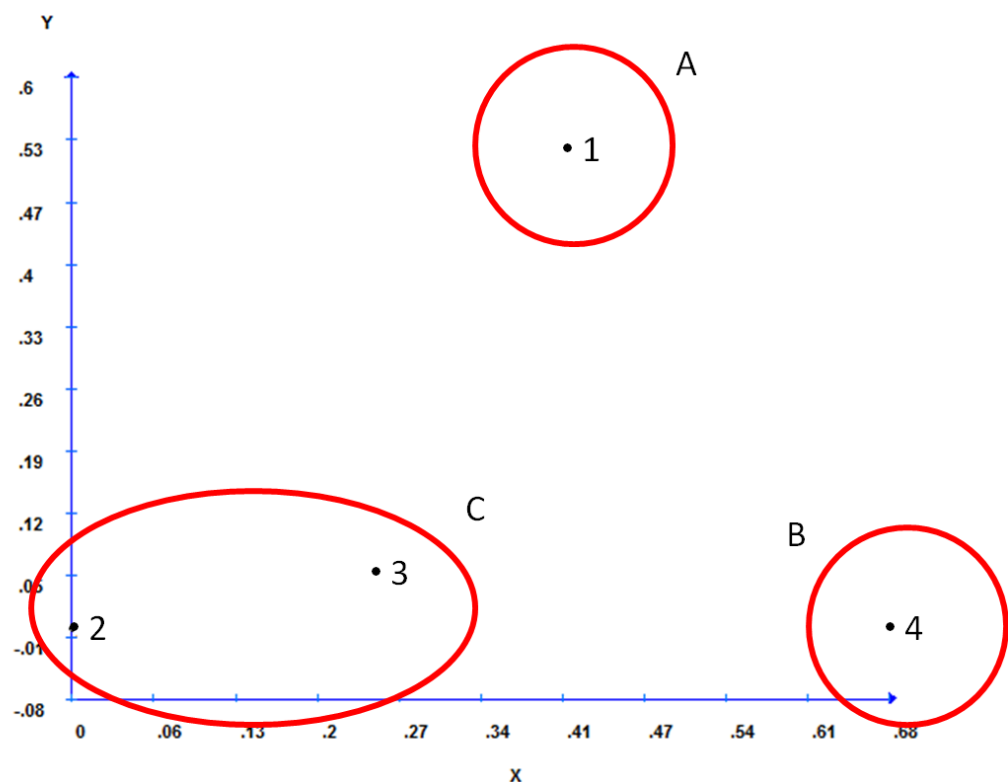


Figura 3 – Agrupamento de genótipos com diferentes graus de tolerância à seca de ponteiros com base em distância euclidiana obtido a partir de metabólitos medidos por análise de perfil metabólico. Os números 1, 2, 3 e 4 representam os genótipos Suzano 1 (tolerante), Suzano 2 (médio tolerante), Suzano 3 (em teste) e Suzano 4 (suscetível), respectivamente.

Metabólitos discriminam genótipos tolerante e suscetível à seca de ponteiros

A análise de perfil metabólico por GC-MS permitiu a identificação de 70 metabólitos que foram divididos em sete classes (Figura 2). Já através das análises estatísticas os metabólitos puderam ser divididos em cinco grupos: o grupo 1 formado pelos metabólitos que apresentaram interação entre genótipo e tratamento, o 2 formado pelos metabólitos que apresentaram variação significativa apenas entre genótipos, o grupo 3 formado pelos metabólitos que apresentaram variação significativa apenas entre tratamentos, o grupo 4 formado pelos metabólitos que apresentaram variação significativa entre genótipo e tratamento, e por fim o grupo 5 formado pelos metabólitos que não apresentaram variação significativa (Anexo 1).

Dos 70 metabólitos identificados, 20 pertencem ao grupo 5, não apresentando variação significativa (Tabela 5, Anexo 1). Os outros 50 metabólitos identificados apresentaram variação significativa e se distribuem entre os grupos 1 a 4 (Tabelas 1 a 4, Anexo 1). Dentre eles estão os metabólitos com potencial para serem utilizados como

marcadores de tolerância à seca de ponteiros, que são aqueles cuja variação permite discriminar o genótipo tolerante do suscetível.

No grupo 1 foram identificados quatro aminoácidos que permitiram a discriminação do genótipo tolerante do suscetível (serina, asparagina, metionina e ornitina). Dentro do genótipo tolerante a serina, que é um aminoácido derivado do 3-fosfoglicerato e a asparagina e metionina, que são derivadas do aspartato (Figura 4), apresentaram níveis mais elevadas no tratamento controle que no 100 e 300 PEG. Já a ornitina, que é um aminoácido derivado do glutamato (Figura 4), apresentou comportamento contrário, com nível mais elevado no tratamento 300 PEG dentro do genótipo tolerante. Ainda no grupo 1 pode-se citar o ácido sinápico que apresentou níveis mais altos no genótipo tolerante que no suscetível quando em situação de estresse hídrico mais severo (300 PEG).

No grupo 2 destaca-se a fenilalanina, aminoácido derivado do fosfoenolpiruvato (Figura 4), que discriminou o genótipo tolerante por apresentar níveis mais altos nesse genótipo do que no suscetível.

O ácido fumárico, ácido orgânico intermediário no ciclo de Krebs (Figura 4) pertencente ao grupo 4, também permitiu a discriminação do genótipo tolerante por estar em níveis mais elevados nesse genótipo que nos demais.

Os metabólitos que apresentaram variação apenas entre tratamentos ou cuja variação entre genótipos não permitiu a discriminação dos genótipos tolerante e suscetível não apresentam potencial para serem utilizados como marcadores para tolerância à seca de ponteiros e por isso foram descartados para fins de análise nesse trabalho.

Por outro lado, dentre os metabólitos identificados, os sete supracitados (serina, asparagina, metionina, ornitina, ácido sinápico, fenilalanina e ácido fumárico) apresentam potencial para serem utilizados como marcadores para a tolerância à seca de ponteiros por permitirem a discriminação do genótipo tolerante do suscetível.

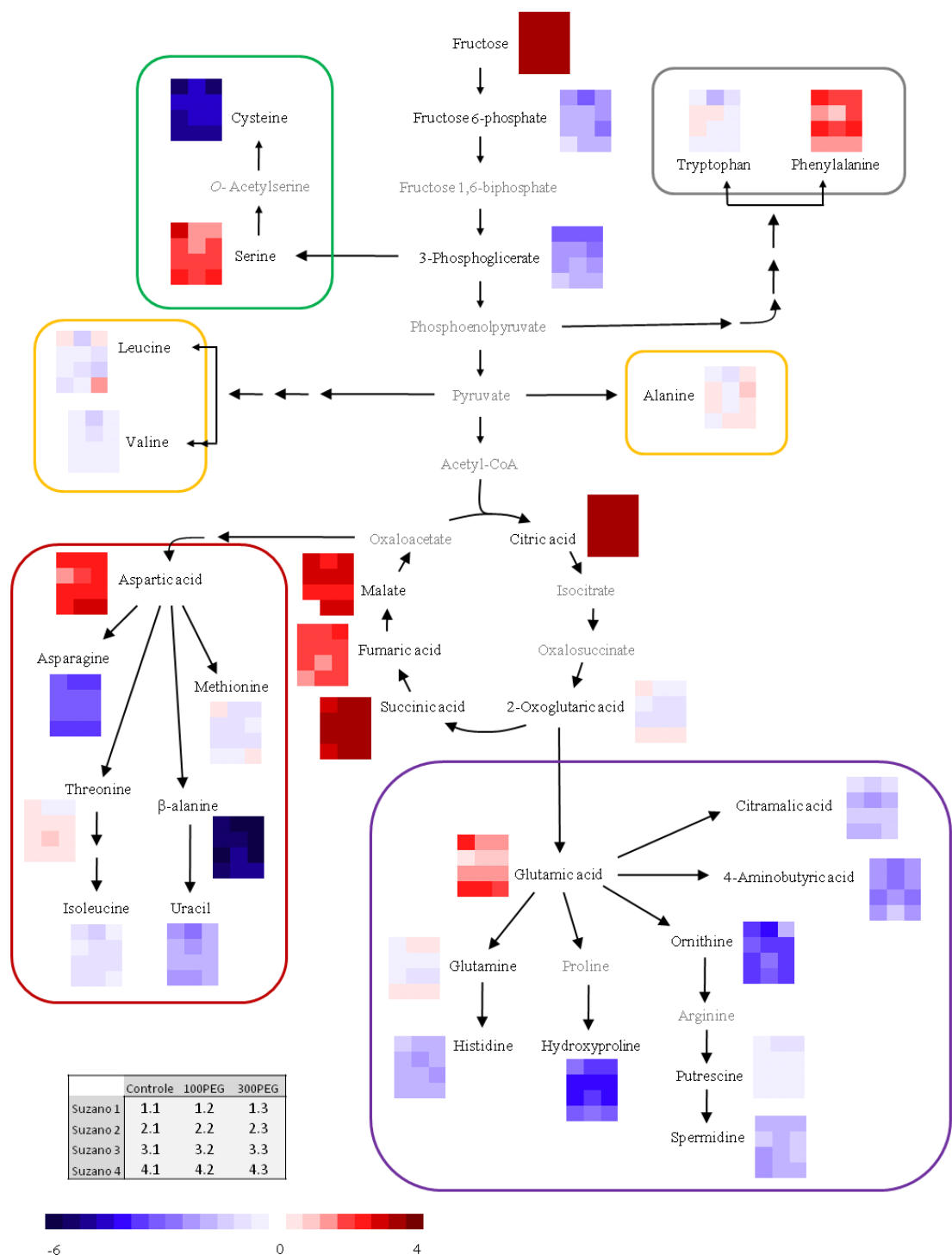


Figura 4 – Intermediários da glicólise e do ciclo de Krebs, aminoácidos e derivados identificados em folhas de genótipos de eucalipto contrastantes quanto a tolerância a seca de ponteiros submetidos a tratamentos de estresse hídrico. Nível de metabólitos obtida através da média normalizada por ln. Valores dos metabólitos correspondem às combinações de genótipos e tratamentos indicadas na caixa cinza. Metabólitos em cinza não foram identificados nesse estudo. Suzano 1, 2, 3 e 4: genótipos tolerante, médio tolerante, em teste e suscetível, respectivamente.

DISCUSSÃO

Com a redução da disponibilidade de água observou-se redução da matéria fresca total independentemente do genótipo. A redução do crescimento e da biomassa total é uma resposta comum apresentada pelas plantas em situação de déficit hídrico (LISAR et al., 2012), incluindo-se redução do desenvolvimento de parte aérea, radicular e área foliar (SILVA et al., 2004; PITA et al., 2005). Apesar de todos os genótipos terem apresentado redução no crescimento, o genótipo suscetível apresentou menor área foliar e menor diâmetro do caule que o genótipo tolerante. Em estudos com *Eucalyptus globulus* suscetíveis à seca foi observado redução de crescimento e de área foliar (SILVA et al., 2004; CORREIA et al. 2014a, b), enquanto que genótipos tolerantes mantiveram elevada taxa de crescimento e expansão de área foliar (SILVA et al., 2004; VALDÉS et al., 2013). Em situações de déficit hídrico as folhas são o primeiro órgão da planta a apresentar respostas, que podem ser elásticas, como controle estomático e movimento foliar, ou plásticas, como redução do tamanho ou excisão foliar (PITA et al., 2005). Com menor área foliar, ocorre redução das taxas fotossintéticas e com isso redução do crescimento (LISAR et al., 2012).

A condutividade hidráulica também diminui com a redução da disponibilidade hídrica, provavelmente devido à redução do número e/ou tamanho dos vasos do xilema (CORCUERA et al. 2004). Dessa forma, o menor diâmetro do caule no genótipo suscetível pode estar diretamente relacionado com menor número e/ou tamanho de vasos do xilema e a tendência de redução da matéria fresca de caule desse genótipo em relação aos demais também pode estar associada ao seu menor diâmetro.

Com relação às variáveis nutricionais, foi observado que o genótipo tolerante apresentou maiores concentrações de Ca e menores de B em relação ao genótipo suscetível. Tanto o cálcio quanto o boro desempenham importantes papéis estruturais nas paredes celulares vegetais, conferindo rigidez e mantendo sua integridade (HEPLER, 2005; MIWA, FUJIWARA, 2010). Redução nos níveis de Ca e B são relatados em situações de estresse hídrico (MIWA, FUJIWARA, 2010; LISAR et al., 2012) e podem estar associados à diminuição do aumento celular (VALDÉS et al., 2013).

Dessa forma, a capacidade do genótipo tolerante em manter maior concentração de Ca pode ser uma estratégia de tolerância uma vez que esse nutriente, além de estar envolvido na estrutura da parede celular, é importante na permeabilidade da membrana plasmática, na divisão celular, funciona como um regulador e na manutenção da

homeostase (HEPLER, 2005). Tudo isso pode ter levado ao aumento de volume celular e com isso maior área foliar e diâmetro do caule do genótipo tolerante. Com relação ao B, sua menor concentração no genótipo tolerante pode estar associada a sua maior partição na planta, uma vez que esse genótipo apresentou maior área foliar e diâmetro do caule. O menor teor de B apresentado pelo genótipo tolerante pode ainda ser considerado um fator positivo, uma vez que este genótipo apresentou desenvolvimento superior aos demais nestas condições. Ressaltando que os solos brasileiros apresentam baixos teores deste nutriente (MATTIELLO et al., 2009), plantas que se desenvolvem bem em baixas concentrações de B apresentam uma vantagem adaptativa.

Estresses abióticos como a seca de ponteiros causam mudanças substanciais no metabolismo das plantas, os quais variam entre a síntese de quantidades limitadas de metabólitos especializados e grandes mudanças na composição de metabólitos primários, assim como muitas outras respostas fisiológicas (VERSLUES, JUENGER, 2011). A identificação de quais dessas mudanças são apenas efeitos naturais ou sintomas de dano e quais representam respostas adaptativas é um desafio (VERSLUES, JUENGER, 2011). Dessa forma, a comparação do perfil metabólico de genótipos adaptados e não adaptados mostra-se como uma abordagem que permite identificar mudanças adaptativas em plantas submetidas a condições de estresse hídrico.

Dentre os metabólitos que permitiram a discriminação do genótipo tolerante do suscetível encontram-se os aminoácidos serina, asparagina, metionina, ornitina e fenilalanina. O acúmulo de aminoácidos tem sido relacionado com a tolerância ao estresse hídrico em plantas através de ajuste osmótico, da desintoxicação de espécies reativas de oxigênio e pela regulação do pH intracelular (SILVENTE et al., 2012; BARCHET et al., 2013).

O aumento de aminoácidos em tecidos foliares durante estresse hídrico pode estar associado à redução na síntese de proteínas em resposta à redução do crescimento causado pela seca (LAWLOR, CORNIC, 2002). Nesse estudo, os aminoácidos serina, asparagina e metionina tiveram níveis mais elevados no genótipo tolerante submetido ao tratamento controle do que nos tratamentos de estresse hídrico.

Ao contrário do sugerido por Lawlor e Cornic (2002), os menores níveis desses aminoácidos no genótipo tolerante quando em situação de estresse podem indicar que, em situação de seca, esse genótipo manteve ou aumentou a síntese de proteínas em relação ao tratamento controle. A manutenção da síntese proteica se explica pelo fato de esse genótipo ter mantido seu crescimento mesmo em situação de déficit hídrico, como

demonstrado pela maior área foliar e diâmetro do caule apresentado por ele em relação ao genótipo suscetível. Além disso, a metionina também pode estar associada à síntese de compostos envolvidos na defesa vegetal ao estresse (CARMO-SILVA et al., 2009). Dessa forma, o nível mais baixo de aminoácidos no genótipo tolerante nos tratamentos de déficit hídrico pode estar associado à sua utilização na síntese de compostos relacionados à tolerância ao estresse hídrico.

Ao contrário do comportamento apresentado pela serina, asparagina e metionina, a ornitina apresentou níveis mais elevados no genótipo tolerante submetido ao tratamento de maior estresse hídrico (300 PEG). Em plantas, a ornitina é a substância precursora da biossíntese de poliaminas (GROPPA, BENAVIDES, 2008; HUSSAIN et al., 2011), que por sua vez tem tido sua função associada à proteção contra estresses abióticos como o estresse hídrico (ALCÁZAR et al., 2010; AMRI et al., 2012). Entretanto, não foi registrada variação significativa nos níveis das poliaminas putrescina e espermidina, o que sugere que a ornitina esteja sendo utilizada preferencialmente em outra via.

Além de ser precursora de poliaminas, a ornitina também é um importante intermediário do ciclo da uréia (MÉRIGOUT et al., 2008). O ciclo da uréia está envolvido na ciclagem de nitrogênio na planta e se relaciona com o ciclo de Krebs através de um de seus produtos, o fumarato, que é liberado no citosol e pode ser utilizado no ciclo de Krebs como um de seus intermediários (MÉRIGOUT et al., 2008). Sob condições de maior estresse hídrico, foram observados níveis elevados de ornitina e ácido fumárico no genótipo tolerante e tendência de redução do 2-oxoglutarato, enquanto que no genótipo suscetível houve tendência de aumento do 2-oxoglutarato. O 2-oxoglutarato além de intermediário no ciclo de Krebs é um importante metabólito da via de assimilação de nitrogênio, funcionando como fonte de esqueletos de carbono (HODGES, 2002).

Dessa forma, sob condições de estresse hídrico, os níveis elevados de ornitina e fumarato no genótipo tolerante e os baixos níveis de 2-oxoglutarato sugerem ter havido beneficiamento da via de ciclagem de nitrogênio através do ciclo da uréia no genótipo tolerante enquanto que os níveis mais elevados de 2-oxoglutarato no genótipo suscetível sugerem ter havido beneficiamento da via de assimilação de nitrogênio nesse genótipo. A ciclagem de N através do ciclo da uréia pode ser vista como uma estratégia de tolerância, uma vez que será reduzido o gasto energético dispensado nas etapas de assimilação de N e essa energia poderá ser utilizada em outras funções. A economia de energia é importante em situações de déficit hídrico visto que todo o metabolismo da planta se encontra reduzido nessas situações, uma vez que os estômatos tendem a se

fechar para evitar a perda de água e com isso a fotossíntese também é prejudicada devido à redução da assimilação de CO₂ (LISAR et al., 2012).

A seca acarreta uma redução na fixação de CO₂ e na respiração mitocondrial, podendo afetar também os metabólitos do ciclo de Krebs, causando sua redução (RODRIGUEZ-CALCERRADA et al., 2009). Entretanto, nos tratamentos simulando estresse hídrico em nosso estudo, foi possível observar níveis mais elevados do ácido fumárico no genótipo tolerante em relação ao suscetível. Tem sido demonstrado que o fumarato está presente principalmente em tecidos fotossinteticamente ativos e que ele possui efeitos similares ao malato na abertura estomática, acumulando-se nas células-guarda e promovendo sua abertura através da elevação da pressão osmótica (ARAÚJO et al., 2011). Dessa forma, os níveis mais elevados de fumarato no genótipo tolerante podem ter contribuído para que esse genótipo, mesmo sob condição de estresse, apresentasse a mesma condutância estomática dos demais, sem a necessidade de redução da área foliar, e ainda sem que isso interferisse nas suas taxas fotossintéticas e na eficiência instantânea do uso da água em relação aos demais genótipos testados.

A fenilalanina também teve níveis mais elevados no genótipo tolerante. Além de estar envolvida no controle osmótico, ela é um aminoácido precursor da biossíntese de compostos fenólicos (GRACE, LOGAN, 2000; CARMO-SILVA et al., 2009). Os compostos fenólicos podem ser antioxidantes que eliminam espécies reativas de oxigênio do citosol e filtram a radiação, protegendo as clorofilas durante situações que são desfavoráveis à fotossíntese, como situações de seca (HURA et al., 2008). Assim, o nível mais elevado de fenilalanina no genótipo tolerante pode estar associada ao ajuste osmótico e produção de compostos fenólicos relacionados à tolerância ao estresse hídrico.

O ácido sinápico também foi capaz de discriminar o genótipo tolerante por estar em níveis mais elevados nesse genótipo em situações de estresse severo (300 PEG) do que no genótipo suscetível. O ácido sinápico é um membro da família dos fenilpropanóides e também é derivado da fenilalanina (BROWN, NEISH, 1965; BARCHET et al., 2013). Dessa forma, seu nível mais elevado no genótipo tolerante pode estar diretamente relacionado com o nível mais elevado de fenilalanina também no genótipo tolerante. Os fenilpropanóides são compostos geralmente induzidos por estresse e possuem papel relacionado à proteção da planta contra o surgimento de espécies reativas de oxigênio, que ocorrem em situações de déficit hídrico, por exemplo (GRACE, LOGAN, 2000). Além disso, o ácido sinápico é um dos precursores na rota de formação da lignina, um composto estrutural encontrado nas paredes das células vegetais

(HIGUCHI, BROWN, 1963a; HIGUCHI, BROWN, 1963b; BUNZEL ET al., 2003). Alguns estudos têm demonstrado que uma das respostas das plantas em situações de estresse hídrico é o aumento da síntese de lignina (VINCENT et al., 2005; FAN et al., 2006). Dessa forma, o aumento do nível de ácido sinápico no genótipo tolerante em situação de déficit hídrico pode funcionar como uma estratégia de tolerância à seca de ponteiros por promover a proteção contra espécies reativas de oxigênio e o consistir em aumento de precursores de lignina para a síntese nas paredes.

As análises de agrupamento foram realizadas com o objetivo de verificar como se comportam os genótipos com relação às variáveis testadas. Tanto o agrupamento realizado com base nas variáveis MFC, MFT, D, AF, Ca e B e o agrupamento realizado com base nos metabólitos permitiram a discriminação dos genótipos tolerante, médio tolerante e suscetível e agruparam o genótipo em fase de teste com o médio tolerante, sugerindo ser esse um genótipo médio tolerante à seca de ponteiros. Já no agrupamento hierárquico realizado com base nos metabólitos, observou-se que o genótipo tolerante apresentou comportamento distinto quando submetido a tratamentos com diferentes níveis de estresse hídrico. Quando submetido ao tratamento controle, o tolerante foi mais próximo ao genótipo suscetível, quando submetido ao tratamento de estresse hídrico moderado (100 PEG), foi mais próximo ao médio tolerante, e manteve-se isolado quando submetido ao tratamento de estresse severo (300 PEG) (Figura 2). Esses resultados sugerem que o genótipo tolerante possui capacidade de modificar seu comportamento dependendo do ambiente em que ele se encontra de forma a contribuir para o seu desenvolvimento sob condições de déficit hídrico.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho permitem concluir que existem características que podem ser utilizadas como marcadores para a seleção de genótipos tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico em estágio juvenil. Essas características são: 1- maior área foliar e diâmetro do caule, associados a maior taxa de crescimento; 2- elevados níveis de Ca e ácido sinápico, associados ao investimento em formação de parede celular e lignificação; 3- elevados níveis de ornitina e fumarato, associados à ciclagem de nitrogênio através do ciclo da ureia e 4- elevados níveis de fenilalanina, associado à produção de compostos fenólicos. Estas características contribuem para diferentes estratégias associadas a tolerância a seca de ponteiros associada ao déficit hídrico.

BIBLIOGRAFIA

- AHMAD, W. et al. Role of boron in plant growth: a review. **Journal of Agricultural Research**, v. 47, n. 3, p. 329-338, 2009.
- ALCÁZAR, R. et al. Putrescine accumulation confers drought tolerance in transgenic arabidopsis plants over-expressing the homologous Arginine decarboxylase 2 gene. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 547-552, 2010.
- ALLEN, C. D. et al. A global overview of drought and heat induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. **Forest Ecology and Management**, v. 259, n. 4, p. 660–684, 2010.
- ALVAREZ V., V. H. et al. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 131p.
- AMRI, E.; MOHAMMADI, M. J. Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punica granatum* L. cv ‘Atabaki’) to exogenous spermidine and putrescine polyamines. **African Journal of Microbiology Research**, v. 25, n. 6, p. 5294-5300, 2012.
- ARAÚJO, W. L. et al. Control of stomatal aperture. A renaissance of the old guard. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 9, p. 1305-1311, 2011.
- BARCHET, G. L. H. et al. Investigating the drought-stress response of hybrid poplar genotypes by metabolite profiling. **Tree Physiology**, v. 34, p. 1203–1219, 2013.
- BRAGA, J.M., DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. **R. Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.
- BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, v.2, p.48-54, 1997.
- BROUWERS, N. et al. Landscape-scale assessment of tree crown dieback following extreme drought and heat in a Mediterranean eucalypt forest ecosystem. **Landscape Ecology**, v. 28, p. 69–80, 2013.
- BROWN, S. A.; NEISH, A. C. Studies of lignin biosynthesis using isotopig carbon: v. Comparative studies on different plant species. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 34, n. 4, p. 769-778, 1965.
- BUNZEL, M. et al. "Sinapate dehydrodimers and sinapate-ferulate heterodimers in cereal dietary fiber". **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1427–1434, 2003.
- CALLISTER, A.N. et al. Comparison of four methods for measuring osmotic potential of tree leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 383-392, 2006.
- CARMO-SILVA, A. E. et al. Grasses of difference C4 subtypes reveal leaf traits related to drought tolerance in their natural habitats: changes in structure, water potential, and amino acid content. **American Journal of Botany**, v. 96, p. 1222–1235, 2009.

- CARNICER, J. et al. Widespread crown condition decline, food web disruption, and amplified tree mortality with increased climate change-type drought. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 14, p. 74–1478, 2011.
- CHAVES, M. M. et al. Understanding plant responses to drought –from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264, 2003.
- CORCUERA, L. et al. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth and xylem anatomy. **Trees**, v. 18, p. 83-92, 2004.
- CORREIA, B. et al. Hormonal dynamics during recovery from drought in two *Eucalyptus globulus* genotypes: From root to leaf. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 82, p. 151–160, 2014a.
- CORREIA, B. et al. Water stress and recovery in the performance of two *Eucalyptus globulus* clones: Physiological and biochemical profiles. **Physiologia Plantarum**, v. 150, n. 4, p. 580–592, 2014b.
- CORREIA, B. et al. Integrated proteomics and metabolomics to unlock global and clonal responses of *Eucalyptus globulus* recovery from water deficit. **Metabolomics**, v. 12, n. 141, 2016.
- CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- DAT, J.F. et al. Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 273-282, 2004.
- DIANESE, J. G. et al. Tolerance to ‘Mal do Rio Doce’, a major disease of *Eucalyptus* in Brazil. **Tropical Pest Management**, v. 30, n. 3, p. 247-252, 1984.
- FAN, L. et al. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. **Plant Physiology**, v. 140, p. 603-612, 2006.
- FENSHAM, R. J.; HOLMAN, J. E. Temporal and spatial patterns in drought-related tree dieback in Australian Savanna. **Journal of Applied Ecology**, v. 36, n. 6, p. 1035–1050, 1999.
- FLEXAS, J. et al. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions. **Functional Plant Biology**, v. 29, p. 461-471, 2002.
- GRACE, S. C., LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B**, v. 355, p.1499–1510, 2000.
- GROPPA, M. D.; BENAVIDES, M. P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino Acids**, v. 34, p. 35-45, 2008.
- HAUCK, M. et al. Manganese toxicity in epiphytic lichens: chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, p. 181-191, 2003.

HIGUCHI, T; BROWN, S. A. Studies of lignin biosynthesis using isotopic carbon: xii. The biosynthesis and metabolism of sinapic acid. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 41, n. 3, p. 613-620, 1963.

HIGUCHI, T; BROWN, S. A. Studies of lignin biosynthesis using isotopic carbon: xiii. The phenylpropanoid system in lignifications. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 41, n. 3, p. 621-628, 1963.

HPLER, P. K. Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. **The Plant Cell**, v. 17, p. 2142–2155, 2005.

HODGES, M. Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 905–916, 2002.

HURA, T. et al. Contents of total phenolics and ferulic acid, and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross hybrids of different drought tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 194, p. 104–112, 2008.

HUSSAIN, S. S. et al. Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 300-311, 2011.

JURSKIS, V. Eucalypt decline in Australia, and a general concept of tree decline and dieback. **Forest Ecology and Management**, v. 215, p. 1–20, 2005.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, p. 275–294, 2002.

LEITE, F. P. et al. Manganese accumulation and its relation to "eucalyptus shoot blight in the vale do rio doce"⁽¹⁾. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 193-204, 2014.

LISAR, S. Y. S. et al. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. InTech: Rijeka, Croatia, p. 1-14, 2012.

LLORET, F. et al. Canopy recovery after drought dieback in holm-oak Mediterranean forests of Catalonia (NE Spain). **Global Change Biology**, v. 10, n. 12, p. 2092–2099, 2004.

MASCHIO, L. M. A. et al. Contribution of climatic factors to the occurrence of a shoot die-back in eucalyptus Grandis in Arapoti-PR. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 41, p. 55-63, 2000

MATTIELLO, E. M. et al. Transporte de boro no solo e sua absorção por eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1281-1290, 2009.

MÉRIGOUT, P. et al. Physiological and Transcriptomic Aspects of Urea Uptake and Assimilation in Arabidopsis Plants^[W]. **Plant Physiology**, v. 147, p. 1225-1238, July 2008.

MIWA, K.; FUJIWARA, T. Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1103–1108, 2010.

- MCKIERNAN, A. B. et al. Effect of limited water availability on foliar plant secondary metabolites of two eucalyptus species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 105, p. 55–64, 2014.
- NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas à déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 75-87, 2001.
- PITA, P. et al. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of Eucalyptus globules. **Invest Agrar: Sist Recur For**, v. 14, n. 3, p. 383-393, 2005.
- PENG, C. et al. A drought-induced pervasive increase in tree mortality across Canada's boreal forests. **Nature Climate Change**, v. 1, n. 9, p. 467–471, 2011.
- RODRIGUEZ-CALCERRADA, J. et al. Thermal acclimation of leaf dark respiration of beech seedlings experiencing summer drought in high and low light environments. **Tree Physiology**, v. 30, p. 214–224, 2009.
- SARRUGE, J. R., HAAG, H.P. **Análise química de plantas**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 56p. 1974.
- SILVA, F. C. et al. Responses to water stress in two Eucalyptus globulus clones differing in drought tolerance. **Tree Physiology**, v. 24, p. 1165–1172, 2004.
- SILVENTE, S. et al. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. **PLoS One**, v. 7, n. 6, e38554. doi:10.1371/journal.pone.0038554, 2012.
- SHENKER, M. et al. Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 197-202, 2004.
- VALDÉS, A. E. et al. Drought tolerance acquisition in Eucalyptus globulus (Labill.): A research on plant morphology, physiology and proteomics. **Journal of Proteomics**, v. 79, p. 263–276, 2013.
- VERSLUES, P. E.; JUENGER, T. E. Drought, metabolites, and Arabidopsis natural variation: a promising combination for understanding adaptation to water-limited environments. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p. 240–245, 2011.
- VINCENT, D. et al. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A proteomic investigation. **Plant Physiology**, v. 137, p. 949-960, 2005.
- WARREN, C. R. et al. Metabolomics demonstrates divergent responses of two Eucalyptus species to water stress. **Metabolomics**, v. 8, p. 186–200, 2012.
- WHITE, T. C. R. Weather, Eucalyptus Dieback in New England, and a General Hypothesis of the Cause of Dieback. **Pacific Science**, vol. 40, n. 1-4, p. 58-78, 1986.
- WORRALL, J. J. et al. Rapid mortality of Populus tremuloides in southwestern Colorado. USA. **Forest Ecology and Management**, v. 255, n. 3–4, p. 686–696, 2008.

WRIGHT, I.J. et al. Leaf trait relationships in Australian plant species. **Functional Plant Biology**, v. 31, p. 551-558, 2004.

ANEXO

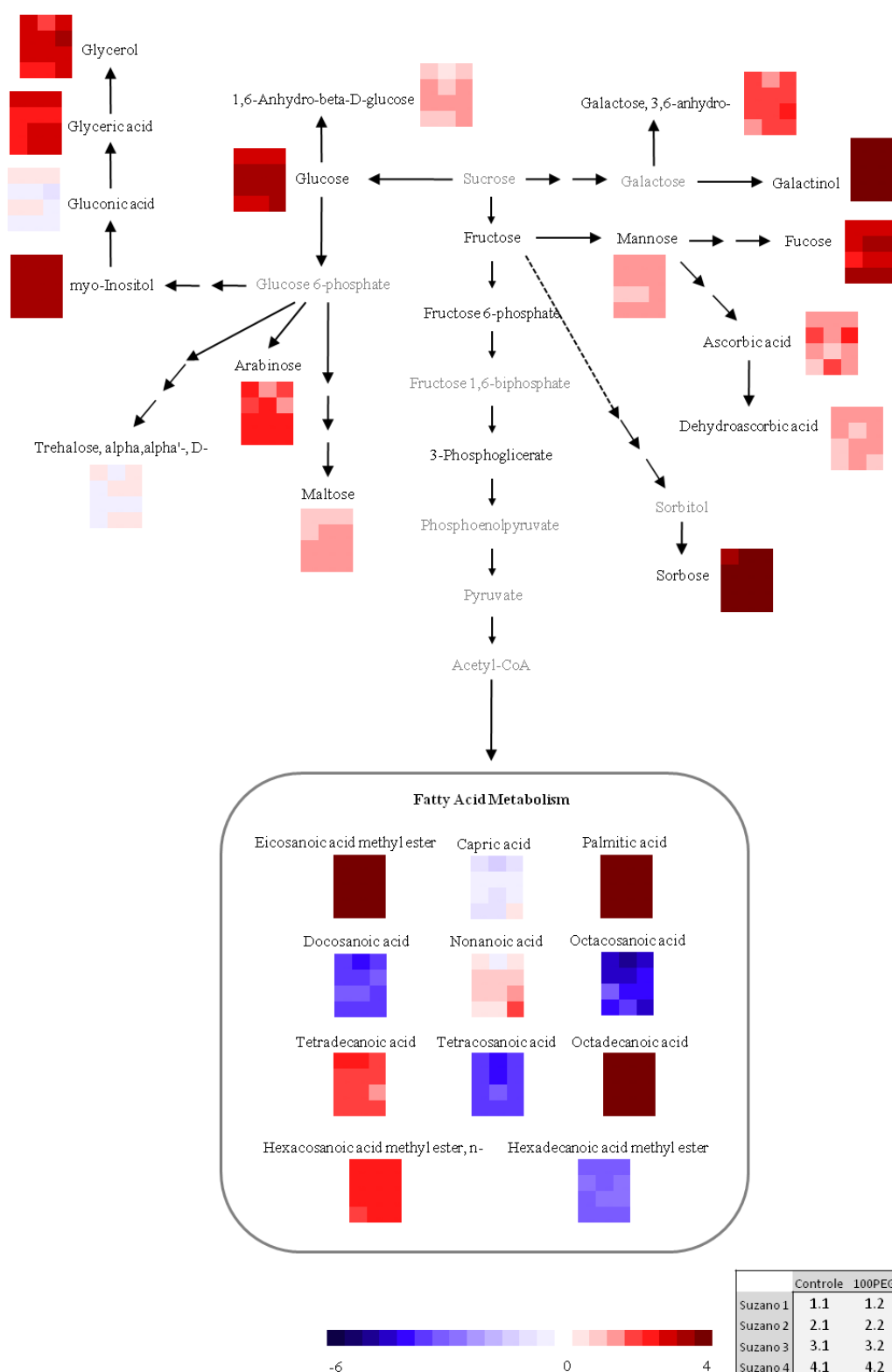


Figura 1 - Açúcares e derivados e ácidos graxos identificados em folhas de genótipos de eucalipto contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos de estresse hídrico. Intensidade de metabólitos obtida através da média normalizada por ln. Valores dos metabólitos correspondem às combinações de genótipos e tratamentos indicadas na caixa cinza. Metabólitos em cinza não foram identificados nesse estudo. Suzano 1, 2, 3 e 4: genótipos tolerante, médio tolerante, em teste e suscetível, respectivamente.

Tabela 1: Análise de metabólitos em folhas de Eucalyptus de genótipos (G) contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos (T) de estresse hídrico. Metabólitos que apresentaram interação significativa entre genótipo e tratamento.

	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
	Serine			Asparagine			Methionine		
G1	12.5113 ± 1,1123 aA	4.2985 ± 1,2834 aB	3.7604 ± 0,3205 aB	0.0494 ± 0,0078 aA	0.0296 ± 0,0052 abB	0.0251 ± 0,0045 aB	1.3447 ± 0,1155 aA	0.4421 ± 0,1511 aB	0.5259 ± 0,0859 abB
G2	6.6347 ± 0,1249 bA	4.2036 ± 0,9799 aA	4.4909 ± 0,4762 aA	0.0443 ± 0,0087 aA	0.0343 ± 0,0077 abA	0.0400 ± 0,0028 aA	0.3821 ± 0,0846 bA	0.3802 ± 0,0670 aA	0.6127 ± 0,0618 abA
G3	5.9278 ± 0,7792 bA	5.9009 ± 0,9898 aA	6.8377 ± 0,3350 aA	0.0379 ± 0,0029 aA	0.0413 ± 0,0073 aA	0.0327 ± 0,0029 aA	0.4662 ± 0,0569 bA	0.3731 ± 0,0537 aA	0.4268 ± 0,0453 bA
G4	7.4625 ± 1,5380 bA	6.9346 ± 1,0665 aA	7.5288 ± 0,6533 aA	0.0197 ± 0,0041 bA	0.0221 ± 0,0013 bA	0.0300 ± 0,0034 aA	0.8128 ± 0,1694 abA	0.7455 ± 0,1687 aA	1.1746 ± 0,2702 aA
	Ornithine			Malic acid			Trehalose, alpha,alpha', D-		
G1	0.0295 ± 0,0058 aB	0.0172 ± 0,0053 aB	0.172 ± 0,1188 aA	14.9457 ± 0,5823 aA	10.6683 ± 2,4334 bB	14.0565 ± 0,2805 aA	1.2108 ± 0,0791 aAB	0.8968 ± 0,1897 aB	1.3072 ± 0,0205 aA
G2	0.0342 ± 0,0011 aA	0.0208 ± 0,0061 aA	0.0292 ± 0,0034 bA	12.3442 ± 0,2505 abA	12.2541 ± 0,7156 abA	12.3235 ± 0,5375 abA	0.945 ± 0,0348 abA	1.1104 ± 0,1158 aA	1.2113 ± 0,0591 abA
G3	0.0194 ± 0,0028 aA	0.0711 ± 0,0301 aA	0.0256 ± 0,0053 bA	10.7944 ± 0,4428 bA	12.0011 ± 0,5330 abA	10.3847 ± 0,1591 bA	0.8750 ± 0,0519 abA	0.8565 ± 0,0606 aA	0.8789 ± 0,0327 bA
G4	0.0267 ± 0,0060 aA	0.0346 ± 0,0026 aA	0.0295 ± 0,0089 bA	NA	14.4042 ± 0,1766 aA	13.5095 ± 0,7174 aAB	0.7748 ± 0,1084 bB	1.135 ± 0,0827 aA	1.045 ± 0,0932 abAB
	Ascorbic acid			4-hydroxy-benzoic acid			Indole-3-acetonitrile		
G1	2.8802 ± 0,4999 aA	3.5594 ± 0,5959 aA	4.1155 ± 0,9995 bA	0.8283 ± 0,0265 aA	0.599 ± 0,1161 bA	0.8303 ± 0,0925 bA	0.0102 ± 0,0017 bA	0.0092 ± 0,0034 abA	0.0085 ± 0,0012 aA
G2	4.7813 ± 1,0440 aB	4.1052 ± 1,3504 aB	10.9806 ± 1,5946 aA	0.8639 ± 0,0816 aA	0.7096 ± 0,0452 abA	0.9395 ± 0,0533 bA	0.0192 ± 0,0017 aA	0.0036 ± 0,0001 bC	0.0113 ± 0,0034 aB
G3	2.7573 ± 0,3229 aA	2.2301 ± 0,2893 aA	2.7327 ± 0,6076 bA	0.8542 ± 0,0358 aA	0.9585 ± 0,0318 abA	0.9671 ± 0,0193 abA	0.0084 ± 0,0016 bA	0.0085 ± 0,0010 abA	0.0071 ± 0,0013 aA
G4	2.2194 ± 0,4645 aA	5.1679 ± 1,4484 aA	4.0982 ± 0,4787 bA	0.6349 ± 0,1467 aB	1.0953 ± 0,2427 aA	1.3714 ± 0,1433 aA	0.0103 ± 0,0007 bA	0.0122 ± 0,0018 aA	0.0079 ± 0,0009 aA
	Itaconic acid			Ribonic acid			Sinapic acid		
G1	1.4315 ± 0,2715 abAB	1.0882 ± 0,2371 aB	2.0365 ± 0,3580 aA	0.0896 ± 0,0059 aA	0.0762 ± 0,0040 aA	0.0913 ± 0,0085 aA	0.0649 ± 0,0090 abB	0.1005 ± 0,0232 aB	0.2072 ± 0,0463 aA
G2	1.6753 ± 0,2248 aA	1.1017 ± 0,0644 aA	1.3761 ± 0,1652 aA	0.0713 ± 0,0190 aA	0.0505 ± 0,0073 aA	0.0398 ± 0,0038 bA	0.1331 ± 0,0233 aA	0.0774 ± 0,0041 aA	0.1129 ± 0,0156 bA
G3	1.8135 ± 0,1455 aA	1.2709 ± 0,1721 aA	1.7238 ± 0,1187 aA	0.0553 ± 0,0046 aB	0.0829 ± 0,0035 aAB	0.1099 ± 0,0130 aA	0.0727 ± 0,0070 abA	0.0653 ± 0,0063 aA	0.067 ± 0,0060 bA
G4	0.79 ± 0,2386 bB	1.0542 ± 0,2340 aB	1.8573 ± 0,2712 aA	0.0447 ± 0,0023 aB	0.071 ± 0,0140 aB	0.1237 ± 0,0160 aA	0.0342 ± 0,0044 bA	0.0609 ± 0,0224 aA	0.0718 ± 0,0077 bA

*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p<0,05). Média ± erro (n=5).

G1, G2, G3, G4: Genótipos Suzano 1, 2, 3 e 4, respectivamente. T1, T2, T3: Tratamentos controle, 100PEG e 300PEG, respectivamente. NA: Não identificado.

Tabela 2: Análise de metabólitos em folhas de Eucalyptus de genótipos (G) contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos (T) de estresse hídrico. Metabólitos que apresentaram diferença significativa apenas entre genótipos.

	T1	T2	T3	Média Genótipo	T1	T2	T3	Média Genótipo
	Cysteine				Phenylalanine			
G1	0.0031 ± 0,0003	0.0091 ± 0,0032	0.0041 ± 0,0006	0.0054 ± 0,0014 b	8.6416 ± 1,7044	6.2391 ± 2,0774	6.8748 ± 0,6224	7.2519 ± 1,4681 a
G2	0.0089 ± 0,0009	0.0085 ± 0,0012	0.0098 ± 0,0004	0.0091 ± 0,0008 a	3.2201 ± 0,5540	1.7181 ± 0,3905	5.6323 ± 1,0044	3.5235 ± 0,6496 b
G3	0.0057 ± 0,0008	0.0071 ± 0,0007	0.0071 ± 0,0004	0.0067 ± 0,0006 ab	9.6289 ± 1,3609	7.3761 ± 0,9158	10.9047 ± 1,2875	9.3032 ± 1,1881 a
G4	0.0042 ± 0,0006	0.0058 ± 0,0011	0.0063 ± 0,0008	0.0055 ± 0,0008 b	3.2187 ± 0,5134	3.1695 ± 0,4359	4.1054 ± 0,2119	3.4979 ± 0,3870 b
	Aspartic acid				Threonine			
G1	11.8656 ± 1,6539	11.1000 ± 1,3499	9.9688 ± 2,8168	10.9781 ± 1,9402 a	1.3678 ± 0,0399	0.7113 ± 0,0797	0.847 ± 0,0768	0.9753 ± 0,0655 b
G2	3.8314 ± 0,3751	6.7100 ± 1,2759	9.3732 ± 1,8377	6.6382 ± 1,1629 b	1.1956 ± 0,1130	1.105 ± 0,1598	1.0061 ± 0,0570	1.1022 ± 0,1099 b
G3	10.1498 ± 0,4986	10.8721 ± 2,0294	7.9908 ± 0,5795	9.6709 ± 1,0358 ab	1.3688 ± 0,1606	1.7711 ± 0,3208	1.3796 ± 0,0744	1.5065 ± 0,1853 a
G4	9.8589 ± 1,3619	12.948 ± 1,6326	13.0474 ± 1,7111	11.9514 ± 1,5685 a	1.2568 ± 0,2413	1.3118 ± 0,1326	1.5332 ± 0,1535	1.3673 ± 0,1758 ab
	Glutamic acid				Glutamine			
G1	9.9093 ± 2,3733	4.402 ± 1,7386	3.7967 ± 0,2528	6.0360 ± 1,4549 ab	0.9119 ± 0,0311	1.3101 ± 0,4356	1.4581 ± 0,1389	1.2267 ± 0,2019 a
G2	1.3485 ± 0,4944	1.7779 ± 0,5416	2.6398 ± 1,0570	1.9221 ± 0,6977 c	0.6333 ± 0,0319	0.6484 ± 0,1086	0.8164 ± 0,0759	0.6994 ± 0,0722 b
G3	3.382 ± 0,5582	2.8623 ± 0,9889	3.0384 ± 0,5603	3.0942 ± 0,7024 bc	0.6504 ± 0,1003	0.6017 ± 0,0497	0.5913 ± 0,0491	0.6144 ± 0,0664 b
G4	7.9702 ± 0,8367	8.9853 ± 2,7728	4.5799 ± 0,7912	7.1784 ± 1,4669 a	1.2499 ± 0,2522	1.388 ± 0,3442	1.3116 ± 0,1686	1.3165 ± 0,2550 a
	4-Aminobutyric acid				Hydroxyproline			
G1	0.1098 ± 0,0285	0.0729 ± 0,0249	0.1097 ± 0,0149	0.0975 ± 0,0228 ab	0.0687 ± 0,0158	0.0259 ± 0,0069	0.024 ± 0,0026	0.0395 ± 0,0084 ab
G2	0.0992 ± 0,0357	0.0761 ± 0,0086	0.0888 ± 0,0159	0.0880 ± 0,0201 ab	0.0124 ± 0,0030	0.0135 ± 0,0013	0.0138 ± 0,0023	0.0133 ± 0,0022 c
G3	0.0735 ± 0,0102	0.0845 ± 0,0195	0.0527 ± 0,0027	0.0702 ± 0,0108 b	0.0169 ± 0,0015	0.0216 ± 0,0041	0.0183 ± 0,0028	0.0189 ± 0,0028 bc
G4	0.1277 ± 0,0181	0.2306 ± 0,0526	0.0936 ± 0,0143	0.1506 ± 0,0283 a	0.0436 ± 0,0151	0.055 ± 0,0139	0.0303 ± 0,0038	0.0430 ± 0,0109 a

	T1	T2	T3	Média Genótipo	T1	T2	T3	Média Genótipo
	Citric acid				2-Oxoglutaric acid			
G1	26.7514 ± 1,4742	31.5267 ± 0,5574	30.9992 ± 0,6206	29.7591 ± 0,8841 ab	1.6269 ± 0,1968	0.733 ± 0,2513	0.9307 ± 0,1596	1.0969 ± 0,2026 a
G2	23.4219 ± 2,3860	22.2912 ± 5,8017	31.7015 ± 1,3484	25.8049 ± 3,1787 b	0.6536 ± 0,1404	0.4400 ± 0,0645	0.4686 ± 0,0533	0.5207 ± 0,0861 b
G3	30.1453 ± 0,5924	31.328 ± 0,5681	29.1247 ± 0,6231	30.1993 ± 0,5946 ab	0.5319 ± 0,0953	0.5733 ± 0,1403	0.5841 ± 0,0929	0.5631 ± 0,1095 b
G4	31.4431 ± 1,5044	30.5943 ± 0,7553	31.2061 ± 0,9220	31.0811 ± 1,0606 a	1.4919 ± 0,2582	1.4829 ± 0,1581	1.4886 ± 0,1496	1.4878 ± 0,1887 a
	Citramalic acid				Gluconic acid			
G1	0.5661 ± 0,0287	0.3188 ± 0,0701	0.3879 ± 0,0352	0.4243 ± 0,0447 a	1.3764 ± 0,0851	1.1802 ± 0,1120	1.1116 ± 0,1041	1.2228 ± 0,1004 a
G2	0.1816 ± 0,0141	0.1319 ± 0,0190	0.1651 ± 0,0614	0.1595 ± 0,0315 b	0.6445 ± 0,0430	0.6958 ± 0,0898	0.5648 ± 0,0223	0.6350 ± 0,0517 c
G3	0.3236 ± 0,0441	0.3360 ± 0,0403	0.2959 ± 0,0245	0.3185 ± 0,0363 ab	1.0785 ± 0,1338	1.0023 ± 0,0736	0.8442 ± 0,0399	0.9750 ± 0,0824 ab
G4	0.2193 ± 0,0556	0.1773 ± 0,0380	0.3648 ± 0,1507	0.2538 ± 0,0814 b	0.8525 ± 0,1001	0.8982 ± 0,0400	0.8659 ± 0,0911	0.8722 ± 0,0771 bc
	Glyceric acid				Glyceric acid-3-phosphate			
G1	14.7379 ± 0,5513	12.3393 ± 2,7382	15.5706 ± 0,7970	14.2160 ± 1,3622 a	0.0463 ± 0,0096	0.0389 ± 0,0102	0.0377 ± 0,0102	0.0410 ± 0,0100 b
G2	10.9771 ± 2,1951	9.4084 ± 0,7116	7.5204 ± 0,9854	9.3020 ± 1,2974 b	0.3649 ± 0,1229	0.145 ± 0,0374	0.2088 ± 0,0727	0.0868 ± 0,0233 b
G3	10.9368 ± 1,4655	13.0709 ± 0,4136	15.3771 ± 0,7858	13.1283 ± 0,8883 a	0.1186 ± 0,0155	0.1821 ± 0,0293	0.1131 ± 0,0243	0.1380 ± 0,0230 ab
G4	12.0509 ± 1,0105	12.6618 ± 1,4049	15.8144 ± 0,9716	13.5090 ± 1,1290 a	0.3649 ± 0,1229	0.145 ± 0,0374	0.2088 ± 0,0727	0.2396 ± 0,0777 a
	Glucose				Maltose			
G1	18.3663 ± 0,6618	18.7847 ± 0,4416	19.1339 ± 0,2184	18.7616 ± 0,4406 b	2.6077 ± 0,3655	2.0284 ± 0,4437	2.6934 ± 0,3439	2.4432 ± 0,3844 b
G2	21.4777 ± 1,0880	22.5476 ± 1,1505	22.715 ± 0,4004	22.2468 ± 0,8797 a	2.4749 ± 0,2238	3.9998 ± 0,7988	2.8372 ± 0,4101	3.1040 ± 0,4776 ab
G3	20.9657 ± 0,9007	21.5248 ± 0,8579	20.4702 ± 0,2297	20.9869 ± 0,6627 ab	3.4481 ± 0,3381	3.9115 ± 0,8273	3.2312 ± 0,5503	3.5303 ± 0,5719 a
G4	19.426 ± 2,7583	19.5903 ± 0,9466	20.1035 ± 0,4098	19.7066 ± 1,3716 ab	3.0732 ± 0,4373	3.6322 ± 0,6672	3.3828 ± 0,6328	3.3627 ± 0,5791 a

	T1	T2	T3	Média Genótipo	T1	T2	T3	Média Genótipo
	Mannose				Sorbose			
G1	3.8615 ± 0,4133	2.946 ± 0,2482	3.7078 ± 0,2392	3.5051 ± 0,3003 a	31.8977 ± 2,2040	33.4145 ± 0,2883	34.11 ± 1,4490	33.1407 ± 1,3138 b
G2	4.1283 ± 0,6252	3.2799 ± 0,4407	3.5128 ± 0,3408	3.6403 ± 0,4689 a	40.8442 ± 3,7253	43.0856 ± 4,3206	41.6784 ± 2,2882	41.8694 ± 3,4447 a
G3	2.3015 ± 0,0959	2.5907 ± 0,1468	2.8342 ± 0,2512	2.5755 ± 0,1646 b	33.4714 ± 1,5690	36.8428 ± 2,1792	34.8952 ± 0,3728	35.0698 ± 1,3737 b
G4	3.1764 ± 0,2258	3.7745 ± 0,3223	4.1729 ± 0,2895	3.7079 ± 0,2792 a	34.0278 ± 2,9512	36.8186 ± 3,1549	38.5839 ± 2,0497	36.4768 ± 2,7186 b
	Docosanoic acid				Eicosanoic acid methyl ester			
G1	0.0249 ± 0,0025	0.0181 ± 0,0035	0.0219 ± 0,0028	0.0216 ± 0,0029 b	42.6081 ± 1,4103	43.5286 ± 1,0315	41.8479 ± 1,4696	42.6615 ± 1,3038 ab
G2	0.0229 ± 0,0009	0.0208 ± 0,0022	0.0310 ± 0,0025	0.0249 ± 0,0019 ab	45.6431 ± 1,7778	43.6215 ± 2,6352	50.4172 ± 0,2771	46.5606 ± 1,5634 a
G3	0.0322 ± 0,0016	0.0348 ± 0,0028	0.0262 ± 0,0030	0.0311 ± 0,0024 a	43.1112 ± 0,9685	43.7412 ± 1,6643	40.7305 ± 1,4298	42.5276 ± 1,3542 ab
G4	0.0265 ± 0,0037	0.0263 ± 0,0021	0.026 ± 0,0056	0.0263 ± 0,0038 ab	36.0484 ± 3,7772	42.1395 ± 0,4058	43.3078 ± 1,5242	40.4986 ± 1,9024 b
	Hexacosanoic acid methyl ester, n-				Hexadecanoic acid methyl ester			
G1	7.9419 ± 0,1556	8.7648 ± 0,3019	7.8748 ± 0,3550	8.1938 ± 0,2708 ab	0.0439 ± 0,0023	0.0454 ± 0,0017	0.0458 ± 0,0023	0.0451 ± 0,0021 ab
G2	8.5493 ± 0,7293	9.5374 ± 0,0956	9.3307 ± 0,3866	9.1391 ± 0,4038 a	0.0501 ± 0,0017	0.0485 ± 0,0020	0.0509 ± 0,0019	0.0498 ± 0,0019 a
G3	8.761 ± 0,2808	9.2462 ± 0,3458	8.5801 ± 0,4445	8.8624 ± 0,3570 a	0.0494 ± 0,0016	0.0542 ± 0,0016	0.0504 ± 0,0017	0.0513 ± 0,0016 a
G4	7.3292 ± 0,5243	8.0748 ± 0,2067	8.0907 ± 0,3737	7.8316 ± 0,3682 b	0.038 ± 0,0065	0.0414 ± 0,0024	0.0457 ± 0,0016	0.0417 ± 0,0035 b
	Tetracosanoic acid				Glycerol			
G1	0.0222 ± 0,0026	0.0131 ± 0,0028	0.0213 ± 0,0032	0.0189 ± 0,0029 b	14.4417 ± 2,5710	7.3754 ± 3,3394	17.5016 ± 0,2114	13.1062 ± 2,0406 b
G2	0.0210 ± 0,0018	0.0171 ± 0,0011	0.0253 ± 0,0022	0.0211 ± 0,0017 b	15.635 ± 3,0581	18.1606 ± 1,1850	20.9226 ± 0,4969	18.2394 ± 1,5800 a
G3	0.0297 ± 0,0024	0.0315 ± 0,0017	0.0248 ± 0,0022	0.0287 ± 0,0021 a	18.9274 ± 0,5631	15.3746 ± 3,2104	19.625 ± 0,2592	17.9757 ± 1,3442 a
G4	0.0192 ± 0,0034	0.0208 ± 0,0027	0.0202 ± 0,0015	0.0201 ± 0,0026 b	11.6462 ± 3,6829	12.0105 ± 3,4667	13.4171 ± 2,9572	12.3579 ± 3,3689 b

	T1	T2	T3	Média Genótipo	T1	T2	T3	Média Genótipo
	Isopropyl-beta-D-thiogalactoside				Spermidine			
G1	1.5649 ± 0,0493	1.465 ± 0,2363	1.7785 ± 0,2278	1.6028 ± 0,1712 a	0.1846 ± 0,0358	0.1846 ± 0,0408	0.1604 ± 0,0495	0.1765 ± 0,0420 a
G2	1.2022 ± 0,1155	1.0459 ± 0,1451	1.5772 ± 0,1607	1.2751 ± 0,1404 ab	0.3545 ± 0,0513	0.1730 ± 0,0538	0.2515 ± 0,0259	0.2597 ± 0,0437 a
G3	1.1795 ± 0,0780	0.9747 ± 0,1348	1.2550 ± 0,1743	1.1364 ± 0,1290 ab	0.1133 ± 0,0191	0.1866 ± 0,0113	0.313 ± 0,0992	0.2043 ± 0,0432 a
G4	0.7335 ± 0,0690	1.1283 ± 0,2420	0.9164 ± 0,0942	0.9261 ± 0,1351 b	0.1270 ± 0,0136	0.1571 ± 0,0219	0.1925 ± 0,0605	0.1589 ± 0,0320 a
	Threonic acid				Octadecanoic acid			
G1	12.2445 ± 0,2282	9.5139 ± 0,6127	8.753 ± 0,4236	10.1705 ± 0,4215 a	38.263 ± 0,4802	39.7385 ± 0,9463	39.9379 ± 0,6248	39.3132 ± 0,6837 a
G2	6.7156 ± 0,6867	6.1212 ± 0,4046	5.0531 ± 0,3344	5.9633 ± 0,4752 c	40.2279 ± 1,4051	41.7154 ± 0,5635	42.1711 ± 0,2180	41.3715 ± 0,7289 a
G3	7.8468 ± 0,4607	9.1695 ± 0,2418	8.4470 ± 0,2988	8.4878 ± 0,3338 b	40.6717 ± 0,6462	41.5473 ± 0,9769	43.0114 ± 0,3923	41.7435 ± 0,6718 a
G4	8.5738 ± 1,0831	8.2023 ± 0,9631	9.3566 ± 0,4676	8.7109 ± 0,8380 ab	41.2274 ± 2,4525	38.5368 ± 0,4863	39.543 ± 0,5814	39.7690 ± 1,1734 a

*Comparações entre médias de genótipos. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Média ± erro (n=15 para média de genótipo). G1, G2, G3, G4: Genótipos Suzano 1, 2, 3 e 4, respectivamente. T1, T2, T3: Tratamentos controle, 100 PEG e 300 PEG, respectivamente.

Tabela 3: Análise de metabólitos em folhas de Eucalyptus de genótipos (G) contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos (T) de estresse hídrico. Metabólitos que apresentaram diferença significativa apenas entre tratamentos.

	T1	T2	T3
	Succinic acid		
G1	16.2598 ± 1,6901	23.2666 ± 2,2867	23.6912 ± 2,6545
G2	23.6003 ± 2,6584	20.7512 ± 1,8382	26.5166 ± 0,1967
G3	20.8412 ± 1,1156	23.5757 ± 1,2149	22.4365 ± 1,8427
G4	16.5679 ± 1,7676	20.2322 ± 1,5397	26.8151 ± 2,9667
Média Tratamento	19,3173 ± 1,8079 b	21,9564 ± 1,7198 ab	24,8648 ± 1,9151 a
	Fructose-6-phosphate		
G1	0.1301 ± 0,0606	0.0463 ± 0,0101	0.0873 ± 0,0375
G2	0.2190 ± 0,0544	0.1836 ± 0,0468	0.1337 ± 0,0315
G3	0.2034 ± 0,0762	0.1483 ± 0,0441	0.0691 ± 0,0153
G4	0.3821 ± 0,1540	0.1975 ± 0,0639	0.1513 ± 0,0658
Média Tratamento	0.2336 ± 0,0863 a	0.1439 ± 0,0412 ab	0.1104 ± 0,0375 b
	Capric acid		
G1	0.4443 ± 0,0801	0.3207 ± 0,0829	0.5958 ± 0,1252
G2	0.7891 ± 0,0616	0.6202 ± 0,0776	0.6674 ± 0,0080
G3	0.6165 ± 0,0265	0.5895 ± 0,0945	0.8568 ± 0,1253
G4	0.3863 ± 0,0757	0.37 ± 0,0559	1.2656 ± 0,4436
Média Tratamento	0.5590 ± 0,0610 ab	0.4751 ± 0,0777 b	0.8464 ± 0,1755 a

*Comparações entre médias de tratamentos. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Média $\pm$ erro (n=20 para média de tratamentos). G1, G2, G3, G4: Genótipos Suzano 1, 2, 3 e 4, respectivamente. T1, T2, T3: Tratamentos controle, 100 PEG e 300 PEG, respectivamente.

Tabela 4: Análise de metabólitos em folhas de Eucalyptus de genótipos (G) contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos (T) de estresse hídrico. Metabólitos que apresentaram diferença significativa entre tratamentos e genótipos.

	T1	T2	T3	Média Genótipo	T1	T2	T3	Média Genótipo
	Fumaric acid				Fructose			
G1	5.5835 ± 0,7452	6.3228 ± 1,9900	8.9898 ± 1,2754	6.9653 ± 1,3369 a	20.7222 ± 0,3497	22.5904 ± 0,2471	22.5333 ± 0,3170	21.9486 ± 0,3046 b
G2	4.8351 ± 0,5296	4.9361 ± 0,4909	5.8320 ± 0,8729	5.2011 ± 0,6311 b	23.1775 ± 0,6218	23.7668 ± 0,7709	24.5813 ± 0,1490	23.8419 ± 0,5139 a
G3	5.1785 ± 0,2675	4.2702 ± 0,3217	4.9965 ± 0,6827	4.8151 ± 0,4240 b	22.2758 ± 1,2221	22.4159 ± 0,5973	23.1343 ± 0,2085	22.6087 ± 0,6760 ab
G4	4.1203 ± 0,6872	4.7014 ± 0,6166	5.4707 ± 0,5204	4.7641 ± 0,6080 b	21.1327 ± 1,6649	21.8603 ± 0,4854	22.9207 ± 0,9104	21.9713 ± 1,0203 b
Média Tratamento	4.9294 ± 0,5574 B	5.0576 ± 0,8548 B	6.3222 ± 0,8378 A		21.8270 ± 0,9646 B	22.6584 ± 0,5252 AB	23.2924 ± 0,3962 A	
	Fucose				1,6-Anhydro-beta-D-glucose			
G1	14.5536 ± 0,3919	13.7479 ± 0,3790	15.462 ± 0,5607	14.5879 ± 0,4439 c	2.3045 ± 0,1572	1.6339 ± 0,3210	2.3723 ± 0,3123	2.1036 ± 0,2635 c
G2	16.4796 ± 0,6768	20.1324 ± 2,0223	21.8677 ± 0,9749	19.4932 ± 1,2246 b	2.7331 ± 0,4283	2.5915 ± 0,2174	3.0041 ± 0,2275	2.7762 ± 0,2911 b
G3	11.2806 ± 1,2749	15.5392 ± 1,6898	14.1416 ± 0,5206	13.6538 ± 1,1618 c	3.3956 ± 0,2206	3.6374 ± 0,2426	3.727 ± 0,3242	3.5867 ± 0,2625 a
G4	20.3622 ± 2,9593	24.6639 ± 1,2442	29.492 ± 1,1390	24.8394 ± 1,7808 a	1.9961 ± 0,3850	2.3058 ± 0,1675	2.9727 ± 0,4328	2.4249 ± 0,3284 bc
Média Tratamento	15.6690 ± 1,3257 B	18.5209 ± 1,3338 A	20.2408 ± 0,7988 A		2.6073 ± 0,2978 B	2.5421 ± 0,2371 B	3.0190 ± 0,3242 A	
	Galactose, 3,6-anhydro-				Palmitic acid			
G1	4.9625 ± 0,1185	4.4518 ± 0,2849	4.7661 ± 0,1965	4.7268 ± 0,2000 b	44.2458 ± 0,3658	46.0048 ± 0,7236	45.7389 ± 0,6910	45.3299 ± 0,5935 b
G2	4.8937 ± 0,1567	4.9680 ± 0,4340	4.8291 ± 0,4592	4.8969 ± 0,3500 b	48.6829 ± 1,4449	48.3975 ± 0,9999	51.3718 ± 0,1239	49.4841 ± 0,8562 a
G3	6.0692 ± 0,5846	6.5434 ± 0,6153	8.0847 ± 0,3264	6.8991 ± 0,5088 a	47.3937 ± 0,9236	48.2227 ± 0,8212	49.1235 ± 0,5235	48.2466 ± 0,7561 a
G4	3.6692 ± 0,5973	4.6327 ± 0,3603	6.3425 ± 0,4679	4.8815 ± 0,4752 b	42.4325 ± 0,5625	44.4124 ± 0,5629	47.5526 ± 0,5567	44.7992 ± 0,5607 b
Média Tratamento	4.8986 ± 0,3643 B	5.1490 ± 0,4236 AB	6.0056 ± 0,3625 A		45.6887 ± 0,8242 B	46.7594 ± 0,7769 AB	48.4467 ± 0,4738 A	

*Comparações entre médias de tratamentos e de genótipos. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Média ± erro (n=20 e 15 para média de tratamentos e genótipos respectivamente). G1, G2, G3, G4: Genótipos Suzano 1, 2, 3 e 4, respectivamente. T1, T2, T3: Tratamentos controle, 100 PEG e 300 PEG, respectivamente.

Tabela 5: Análise de metabólitos em folhas de Eucalyptus de genótipos (G) contrastantes quanto a tolerância à seca de ponteiros submetidos a tratamentos (T) de estresse hídrico. Metabólitos que não apresentaram diferença significativa.

	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
	Tryptophan			Alanine			Leucine		
G1	0.9064 ± 0,0810	0.1869 ± 0,0713	0.4208 ± 0,1655	0.8192 ± 0,2552	0.4787 ± 0,1057	1.1211 ± 0,1775	1.2514 ± 0,3818	0.3169 ± 0,1121	1.0253 ± 0,3840
G2	1.4786 ± 0,2798	1.4016 ± 0,6601	0.7776 ± 0,0405	1.2072 ± 0,1271	0.7461 ± 0,1586	1.7904 ± 0,6293	0.7802 ± 0,1850	0.8037 ± 0,3251	0.5013 ± 0,0512
G3	1.1482 ± 0,2657	0.607 ± 0,0774	0.6295 ± 0,2091	1.0908 ± 0,1824	0.9316 ± 0,0642	1.2205 ± 0,0816	0.7364 ± 0,1201	0.5057 ± 0,0345	0.2885 ± 0,0747
G4	0.7972 ± 0,1806	0.8914 ± 0,1542	0.6285 ± 0,1091	0.6907 ± 0,1332	1.0279 ± 0,1373	1.2421 ± 0,2098	0.4881 ± 0,0510	0.6433 ± 0,0620	3.7053 ± 2,3183
	Valine			Isoleucine			Histidine		
G1	0.7564 ± 0,0391	0.2891 ± 0,1265	0.7473 ± 0,2482	0.5255 ± 0,0274	0.2313 ± 0,0891	0.8806 ± 0,2729	0.2238 ± 0,0312	0.1831 ± 0,050	0.1355 ± 0,0130
G2	0.9028 ± 0,1424	0.454 ± 0,1480	0.6749 ± 0,0503	0.7221 ± 0,1477	0.4188 ± 0,1168	0.4974 ± 0,0376	0.1861 ± 0,0088	0.0872 ± 0,0043	0.1533 ± 0,0083
G3	0.827 ± 0,0307	0.6466 ± 0,0659	0.6104 ± 0,0331	0.5792 ± 0,0819	0.3959 ± 0,0286	0.466 ± 0,0362	0.1373 ± 0,0206	0.1418 ± 0,0185	0.1165 ± 0,0101
G4	0.763 ± 0,1048	0.9306 ± 0,0547	0.8084 ± 0,0481	0.4237 ± 0,0594	0.5185 ± 0,0554	0.6200 ± 0,0510	0.1659 ± 0,0201	0.2089 ± 0,0177	0.1428 ± 0,0281
	beta-alanine			Glutaric acid			Arabinose		
G1	0.0029 ± 0,0004	0.002 ± 0,0004	0.002 ± 0,0003	0.0202 ± 0,0024	0.0135 ± 0,0028	0.0187 ± 0,0041	8.3387 ± 0,6131	3.6957 ± 0,7923	5.4909 ± 0,5304
G2	0.0028 ± 0,0003	0.0027 ± 0,0002	0.0021 ± 0,0001	0.0268 ± 0,0027	0.0268 ± 0,0019	0.0272 ± 0,0016	7.3405 ± 1,8959	8.6848 ± 2,4464	4.3311 ± 0,4060
G3	0.0025 ± 0,0002	0.0042 ± 0,0009	0.002 ± 0,0001	0.0267 ± 0,0007	0.0364 ± 0,0026	0.031 ± 0,0012	7.9008 ± 1,3552	9.5876 ± 1,0682	8.3906 ± 1,5821
G4	0.0026 ± 0,0003	0.0049 ± 0,0011	0.0049 ± 0,0020	0.0171 ± 0,0037	0.0168 ± 0,0027	0.0396 ± 0,0135	7.515 ± 1,5572	9.5125 ± 1,8342	10.8553 ± 1,2899
	Galactinol			Putrescine			Nonanoic acid		
G1	36.4806 ± 1,3930	36.5447 ± 2,3882	34.9652 ± 2,0526	0.9144 ± 0,0489	0.5999 ± 0,1750	0.5802 ± 0,0887	1.2728 ± 0,2739	0.9002 ± 0,2262	1.4874 ± 0,3462
G2	35.4678 ± 2,1620	35.1000 ± 1,3220	36.7391 ± 1,4007	0.834 ± 0,1173	0.7101 ± 0,1051	0.8319 ± 0,0561	2.0244 ± 0,2491	2.1248 ± 0,1764	1.8189 ± 0,0075
G3	33.4372 ± 0,8756	35.2857 ± 0,7825	33.7951 ± 0,3005	0.9335 ± 0,0384	0.9955 ± 0,0935	0.7563 ± 0,0299	0.0267 ± 0,0007	0.0364 ± 0,0026	0.031 ± 0,0012
G4	42.0862 ± 7,4660	33.4507 ± 3,1891	38.1702 ± 1,4078	0.8133 ± 0,0885	0.9505 ± 0,0725	0.7708 ± 0,0514	1.099 ± 0,3026	1.1204 ± 0,2151	5.8334 ± 2,8955

	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
	Octacosanoic acid			Tetradecanoic acid			Benzoic acid		
G1	0.0081 ± 0,0011	0.0066 ± 0,0007	0.007 ± 0,0012	7.9154 ± 1,4123	7.9767 ± 2,8239	5.8686 ± 1,1670	0.5306 ± 0,0233	0.3893 ± 0,0809	0.598 ± 0,1029
G2	0.0080 ± 0,0004	0.0068 ± 0,0006	0.0118 ± 0,0007	6.0485 ± 0,6526	5.0576 ± 0,7790	5.0269 ± 0,1437	0.5815 ± 0,0211	0.4544 ± 0,0336	0.5636 ± 0,0276
G3	0.0303 ± 0,0135	0.0144 ± 0,0005	0.0125 ± 0,0003	5.3718 ± 0,4271	4.8471 ± 0,3519	4.3123 ± 0,1529	0.7726 ± 0,1606	1.1008 ± 0,3486	0.7617 ± 0,0671
G4	0.0164 ± 0,0044	0.02 ± 0,0081	0.0095 ± 0,0010	6.3562 ± 0,4658	7.2056 ± 1,0683	6.8814 ± 1,7807	0.609 ± 0,1646	0.5266 ± 0,0383	14.2758 ± 10,2941
	Dehydroascorbic acid			4-Hydroxycinnamic acid			myo-Inositol		
G1	4.3084 ± 0,3562	3.0508 ± 0,7242	3.0358 ± 0,4003	0.8885 ± 0,0772	1.0056 ± 0,0207	1.1669 ± 0,1107	24.3364 ± 1,0134	26.2492 ± 0,8346	26.4682 ± 0,5213
G2	2.8285 ± 0,4392	1.9883 ± 0,3218	4.2867 ± 0,4923	0.8222 ± 0,0965	0.6682 ± 0,1071	1.0428 ± 0,1328	26.5005 ± 1,9483	26.9953 ± 1,1818	27.8838 ± 1,1729
G3	2.4794 ± 0,3039	3.4242 ± 0,3442	3.4536 ± 0,7953	1.0673 ± 0,1015	1.0053 ± 0,0928	0.8632 ± 0,1224	24.5641 ± 1,1360	27.2824 ± 1,1717	28.8942 ± 0,4865
G4	2.3202 ± 0,4376	2.7614 ± 0,4432	2.192 ± 0,4887	0.8071 ± 0,1633	1.318 ± 0,3374	1.2059 ± 0,1978	26.9697 ± 3,8321	22.3663 ± 1,3374	28.5778 ± 0,4221
	Phosphoric acid			Uracil					
G1	43.268 ± 1,2417	45.3299 ± 0,6293	46.6812 ± 1,0262	0.1053 ± 0,0090	0.0695 ± 0,0133	0.2188 ± 0,0838			
G2	50.4704 ± 1,8748	49.462 ± 1,5609	46.0045 ± 0,3900	0.1934 ± 0,0669	0.1326 ± 0,0294	0.1576 ± 0,0262			
G3	48.3535 ± 1,3907	47.897 ± 1,2940	49.2965 ± 1,5091	0.185 ± 0,0168	0.2209 ± 0,0395	0.1844 ± 0,0086			
G4	56.5211 ± 5,0591	47.5877 ± 3,9937	44.5832 ± 1,0104	0.0954 ± 0,0343	0.0962 ± 0,0284	0.1549 ± 0,0089			

* Média ± erro (n=5).