

SAMYRA ALVES CONDÉ

**BIOMARCADORES FENOTÍPICOS PARA SELEÇÃO PRECOCE DE
CLONES DE EUCALIPTO TOLERANTES À SECA DE PONTEIROS
ASSOCIADA AO DÉFICIT HÍDRICO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

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

T

C745b
2019
Condé, Samyra Alves, 2019-
Biomarcadores fenotípicos para seleção precoce de clones
de eucalipto tolerantes à seca de ponteiros associada ao déficit
hídrico / Samyra Alves Condé. – Viçosa, MG, 2019.
vi, 41f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Luiz Antonio dos Santos Dias.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 33-41.

1. Eucalipto. 2. Florestas - Melhoramento genético.
3. Eucalipto - Resistência a seca. 4. Déficit hídrico. 5. Distúrbios
fisiológicos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 634.973766

SAMYRA ALVES CONDÉ

**BIOMARCADORES FENOTÍPICOS PARA SELEÇÃO PRECOCE DE
CLONES DE EUCALIPTO TOLERANTES À SECA DE PONTEIROS
ASSOCIADA AO DÉFICIT HÍDRICO**

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

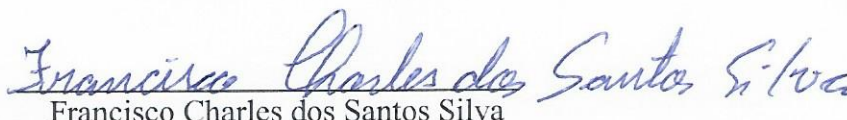
APROVADA: 20 de fevereiro de 2019.



Thais Roseli Corrêa
(Coorientadora)



Edgard Augusto de Toledo Picoli
(Coorientador)



Francisco Charles dos Santos Silva



Luiz Antônio dos Santos Dias
(Orientador)

Aos meus pais, Sandra e João, por terem abdicado de vários sonhos em prol dos meus, e por me apoiarem nesta jornada.

À minha avó, Irani, por ser minha maior inspiração de força e garra.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ser meu guia e por me dar forças e graças para completar mais uma etapa de minha vida.

Sou grata aos meus pais, Sandra e João, pelo amor incondicional, apoio, educação e lição de vida, por sempre vibrarem com as conquistas e superações dos desafios da vida. Agradeço também a minha irmã Elisa pela admiração; a minha avó Irani por todos os conselhos e orações que me fizeram prosseguir; aos meus afilhados: Milena, Sofia e Lucas, pela luz que recarrega minhas energias quando necessário; ao meu namorado Rodrigo por me ajudar a levantar, e pelo apoio nos momentos difíceis; e aos meus tios e primos pelo constante carinho e orações.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pelo ensino de excelência. Ao professor Luiz Antônio dos Santos Dias pela disponibilidade, orientação e seriedade; ao professor Edgard Augusto de Toledo Picoli, pelo auxílio em todo o processo de realização desse trabalho, ensinamentos e por toda paciência; à professora Thais Roseli Corrêa, pela orientação, amizade, dedicação, incentivo e principalmente por não medir esforços para tornar este trabalho uma realidade.

Agradeço aos novos amigos que conquistei em Viçosa e aos velhos amigos de Rio Pomba, pela parceria e pelas risadas que tornaram minha caminhada mais feliz e agradável.

Por fim, agradeço à Suzano pelo apoio não apenas financeiro, mas também pela ajuda em todas as etapas na condução desse experimento, que engloba desde o fornecimento das mudas até análise e processamento dos dados. Em especial, gostaria de agradecer ao Edival, que contribuiu de forma significativa em todas as etapas deste experimento.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 O eucalipto no brasil.....	3
2.2 A seca de ponteiros em eucalipto.....	4
2.3 Melhoramento genético, seleção precoce e biomarcadores em eucalipto.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1 Variáveis Anatômicas.....	8
3.2 Variáveis Fisiológicas.....	10
3.3 Variáveis Morfológicas.....	10
3.4 Variáveis Nutricionais.....	11
3.5 Análises Estatísticas.....	11
4. RESULTADOS.....	12
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÕES.....	32
7. REFERENCIAS.....	33

RESUMO

CONDÉ, Samyra Alves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Biomarcadores fenotípicos para seleção precoce de clones de eucalipto tolerantes à seca de ponteiros associada ao déficit hídrico.** Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli e Thais Roseli Corrêa.

A seca de ponteiros do eucalipto é um distúrbio fisiológico com etiologia complexa induzida por fatores bióticos e abióticos, dos quais o déficit hídrico é um intensificador de sua ocorrência. A seleção precoce para tolerância à seca de ponteiros pode ser útil para classificar clones por meio da avaliação de biomarcadores fenotípicos. Esse procedimento pode igualmente facilitar a discriminação de clones quanto à tolerância ao déficit hídrico. O objetivo deste estudo foi estimar parâmetros genéticos de biomarcadores anatômicos, fisiológicos, morfológicos e nutricionais, visando a seleção precoce para a tolerância a seca de ponteiros e ao déficit hídrico, em clones comerciais de eucalipto. As estimativas dos parâmetros foram obtidas pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). Três tratamentos foram conduzidos: i) controle (manejo padrão do viveiro sem estresse), ii) 100 mL de água ao dia e, iii) 300 PEG g L⁻¹ (aplicação de 100 mL de solução 300 g L⁻¹ a cada dois dias). A aplicação do estresse hídrico nestes tratamentos teve duração de 120 dias, período de condução do experimento. Foram avaliadas um total de 46 características, das quais 24 foram promissoras para seleção precoce para a tolerância à seca de ponteiros e para discriminar clones divergentes quanto a tolerância ao déficit hídrico, sendo elas: características anatômicas (densidade estomática, área de seção transversal, de tecido vascular, xilema, floema, córtex e espessura total da folha); fisiológicas (condutância estomática, transpiração 60 e 90 dias e fotossíntese 90 dias); morfológicas (altura, diâmetro, área foliar, incremento em diâmetro e em altura) e; nutricionais (teores de nitrogênio, potássio, magnésio, enxofre, cobre, zinco, boro e manganês). Essas características foram escolhidas com base em sua significância por apresentarem herdabilidade e acurácia de maior magnitude. Além disso consideradas bons biomarcadores para seleção precoce de clones visando a tolerância à seca de ponteiros e ao déficit hídrico. Os clones tolerantes Suz 7, Suz 6, Suz 10, Suz 3 e Suz 9 foram selecionados por meio do índice de seleção de Mulamba e Mock a partir dos biomarcadores citados acima, podendo também ser utilizados para seleção precoce relacionada ao déficit hídrico e ao distúrbio.

ABSTRACT

CONDÉ, Samyra Alves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Phenotypic biomarkers for early selection of eucalypt clones tolerant to dieback associated with water deficit.** Adviser: Luiz Antônio dos Santos Dias. Co-advisers: Edgard Augusto de Toledo Picoli and Thais Roseli Corrêa.

The *Eucalyptus* dieback is a physiological disturbance with complex etiology induced by biotic and abiotic factors, of which the water deficit is an enhancer of this occurrence. Early selection for dieback tolerance may be useful for classifying clones by evaluating phenotypic biomarkers. This procedure may also facilitate the discrimination of clones as to tolerance to water deficit. The objective of this study was to estimate genetic parameters of anatomical, physiological, morphological and nutritional biomarkers, aiming at the early selection for dieback tolerance and water deficit, in commercial *Eucalyptus* clones. The parameter estimates were obtained using the mixed model methodology (REML/BLUP). Three treatments were conducted: i) control (standard management of the nursery without stress), ii) 100 mL of water per day and iii) 300 PEG g L⁻¹ (application of 100 mL of 300 g L⁻¹ solution every two days). The experiment was carried out during 120 days, period that the water stress was applied at the treatments. A total of 46 characteristics were evaluated to identify the most promising ones for early selection dieback tolerance and to discriminate divergent clones for tolerance to water deficit. The anatomical characteristics (stomatal density, cross-sectional area, vascular tissue, xylem, phloem, cortex and total leaf thickness); physiological (stomatal conductance, transpiration 60 and 90 days and photosynthesis 90 days); (height, diameter, leaf area, incrementing in diameter and height); nutrients (nitrogen, potassium, magnesium, sulfur, copper, zinc, boron and manganese). These characteristics were chosen based on their significance because they presented heritability and accuracy of greater magnitude. In addition, they were considered good biomarkers for early selection of clones aiming at dieback and water deficit tolerance. The tolerant clones Suz 7, Suz 6, Suz 10, Suz 3 and Suz 9 were selected using the Mulamba and Mock selection index from the biomarkers mentioned above, and could also be used for early selection related to water deficit and disturbance.

1. INTRODUÇÃO

O eucalipto pertence à divisão Magnoliophyta, classe Eudicotyledoneae, ordem Myrtales, família Myrtaceae e gênero *Eucalyptus*. Nativo do continente australiano e ilhas da Indonésia, passou a ser um dos gêneros florestais mais plantados no mundo (GRATTAPAGLIA e KIRST, 2008). O Brasil possui 7,74 milhões de hectares de florestas plantadas (0,9% do território nacional), dos quais 5,7 milhões são ocupados com eucalipto, com altos níveis de produtividade decorrentes das favoráveis condições de solo e clima, da disponibilidade de terra e do alto grau de pesquisas nesse setor (IBÁ, 2017).

O sucesso da eucaliptocultura brasileira se dá pela elevada produtividade por unidade de área ao ano e diversificação de produtos e subprodutos, onde se destacam o mercado de papel e celulose, energia, madeira serrada, painéis e laminados, óleos essenciais e geração de energia. Entretanto, nos últimos cinco anos, a produtividade do eucalipto aumentou somente 0,2% ao ano (IBÁ, 2017). O menor crescimento em produtividade tem sido atribuído às alterações no regime de chuva em grande parte do território nacional e do avanço do plantio para novas fronteiras florestais, onde, frequentemente, as plantas se encontram sob condições adversas de desenvolvimento (CAMBRAIA, 2005). O aparecimento de distúrbios, antes ausentes, é atribuído à estas condições estressantes ou limitantes ao crescimento das plantas que ocorrem nestas áreas.

Dentre estes distúrbios, a seca de ponteiros merece destaque, sendo caracterizada pela seca de ápices de galhos e ramos da haste principal e pela incidência de lesões ou minicancros nessas partes. Essas lesões evoluem rapidamente e, em condições mais severas, ocorre a desfolha completa, culminando com a morte da parte apical do ramo, com o consequente comprometimento do crescimento da planta (FERREIRA, 1989; LEITE et al., 2014). Considerada uma enfermidade de etiologia complexa, a seca de ponteiros do eucalipto é induzida por fatores abióticos e bióticos (ALFENAS et al., 2004; JURSKIS, 2005).

A ocorrência dos sintomas parece estar ligada à idade do eucalipto associada a condições de disponibilidade de água, uma vez que são expressos até o terceiro e/ou, quarto ano de plantio, nos meses mais secos dos anos. Após este período, os sintomas do distúrbio são pouco expressos. Essa redução na expressão de ocorrência do distúrbio é atribuída ao aumento do índice de área foliar de plantios mais velhos, possibilitando maior demanda transpiratória pelas plantas (FERREIRA, 1989; MATTIELLO et al., 2009).

O déficit hídrico, dentre os fatores abióticos, é o principal fator ambiental que limita o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas (CHAVES et al., 2009). O

impacto do déficit hídrico sobre os vegetais é complexo, visto que as plantas apresentam diferentes mecanismos adaptativos à escassez de água como, por exemplo, a redução do potencial hídrico aliado a adaptações nutricionais, morfológicas, fisiológicas e anatômicas (NOGUEIRA et al., 2005).

A introdução de genótipos adaptados às condições de estresse hídrico, e resistentes a distúrbios fisiológicos como à seca de ponteiros, é essencial para a manutenção do potencial produtivo do setor, sendo um dos objetivos do melhoramento genético florestal. Contudo, o melhoramento do eucalipto é limitado pelo longo ciclo da cultura e altos custos de avaliação necessários para obtenção dos clones superiores (BELTRAME et al., 2012).

Cada ciclo de seleção e obtenção de progênies, que inclui avaliação e seleção fenotípica, e o cruzamento entre as famílias selecionadas para formar uma nova população, requer aproximadamente 10 anos (PEREIRA et al., 1997). Neste contexto, a seleção precoce contribui para o incremento na produtividade e para a otimização das áreas de plantio, visto que caracteres avaliados em idades mais jovens da planta são usados como preditores de características em idade adulta produtiva, antecipando os ganhos genéticos (MORAES et al., 2014). Para auxiliar o melhorista na seleção de clones superiores para diversas condições ambientais, as estimativas dos parâmetros genéticos são de grande utilidade no planejamento dos programas de melhoramento (MORAES et al., 2011; MIRANDA et al., 2013). Portanto, a existência de variabilidade genética e a identificação de biomarcadores fenotípicos para características de interesse são requisitos necessários para a redução do tempo de seleção de clones superiores para formação de plantios comerciais (CORRÊA et al., 2017).

Diante do exposto, a partir de dados experimentais de avaliação precoce em clones comerciais de eucalipto, este estudo foi realizado com os seguintes objetivos: i) identificar e validar biomarcadores para a seleção precoce visando a tolerância ao estresse hídrico e seca de ponteiros, por meio das estimativas de parâmetros genéticos; e ii) validar a seleção precoce e classificação dos clones quanto a tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O eucalipto no Brasil

O gênero *Eucalyptus* abrange cerca de 700 espécies e apresenta dois grandes centros de dispersão: Américas e Austrália (LIMA, 1984; MARTINS, 2007). A disseminação de sementes de eucaliptos no mundo começou no início do século XIX. Na América do Sul, o primeiro país a introduzir o eucalipto foi o Chile, em 1823, e posteriormente, a Argentina e o Uruguai. Em seguida, por volta de 1850, países como Portugal, Espanha e Índia também iniciaram plantios de eucalipto.

As primeiras mudas de eucalipto chegaram ao Brasil em 1868, e a introdução do gênero tomou impulso no início do século XX. Em 1903, o pioneiro Navarro de Andrade trouxe mudas de eucalipto para fins de produção de madeira e para suprir a demanda nas estradas de ferro (MORA e GARCIA, 2000). Nas décadas de 1960 e 70, ocorreu um aumento expressivo de áreas reflorestadas com eucalipto devido a incentivos governamentais.

Dentre as principais espécies utilizadas no país, *E. grandis* e seus híbridos interespecíficos, principalmente com *E. urophylla*, continuam sendo as mais importantes, em face de seu uso intensivo e crescente nos segmentos industriais devido a qualidade da sua madeira (PINTO JÚNIOR et al., 2008). O Brasil é destaque mundial no plantio de eucalipto, em razão da alta produtividade decorrente do rápido crescimento e do ciclo de produção relativamente curto (BARRETO et al., 2007), o que permite a ampla difusão da cultura em território nacional.

O gênero *Eucalyptus* tem sido muito utilizado nas indústrias de madeira processada, extração de essências, produção de mourões, energia, papel e celulose, entre outros (OLIVEIRA, 2012). O pioneirismo brasileiro no setor de florestas plantadas e os investimentos constantes em inovação contribuem para promover a diversificação de usos da madeira de forma sustentável (IBÁ, 2017). Devido à importância econômica dos plantios comerciais de eucalipto, os interesses e investimentos em programas de melhoramento genético e de manejo para espécies do gênero têm se intensificado e proporcionado o aprimoramento da avaliação e seleção de clones com características fenotípicas adequadas para os aspectos silviculturais e tecnológicos (RAMALHO et al., 2012).

2.2 A seca de ponteiros em eucalipto

Os plantios de eucalipto na Austrália, América do Norte, Europa (JURSKIS, 2005) e Brasil (MATTIELLO et al., 2009) têm sido afetados pela “seca de ponteiros”, um distúrbio fisiológico caracterizado pela deterioração gradual em árvores saudáveis ao longo de meses ou anos, acarretando a sua morte prematura (ROSS e BRACK, 2015). Na Austrália, a seca de ponteiros foi relatada em todos os estados (ROSS e BRACK, 2015) e acredita-se que ela seja problema em florestas nativas e plantadas desde 1920 (CIESLA e DONAUBAUER, 1994).

No Brasil, esse distúrbio foi constatado pela primeira vez em maio de 1988 e em junho de 1992, em plantios localizados no município de Arapoti, Paraná. O problema foi caracterizado por uma seca de ponteiros, denominada Seca de Ponteiros da Região de Arapoti (SPEA) (MASCHIO et al., 1996). Os sintomas iniciais da SPEA, no campo, foram observados no verão, o que levou a supor que as condições climáticas condicionaram a ocorrência do distúrbio. A seca de ponteiros se torna mais severa à medida que, no decorrer do ano, se repetem períodos com temperaturas elevadas e chuvas pouco intensas e mal distribuídas.

Posteriormente, foi observada na região do Vale do Rio Doce, em Minas Gerais (ALFENAS et al., 2004), então denominada de seca de ponteiros da região do Vale do Rio Doce (SPVRD), dado suas características sintomatológicas de necrose amarronzada na inserção de ramos secundários e pecíolos, culminando em intensa desfolha, e em casos mais extremos, levando a morte da planta. Os primeiros registros do distúrbio nessa região datam de 1976, no entanto, as causas ainda são desconhecidas (FERREIRA, 1989).

A seca de ponteiros é considerada uma enfermidade de etiologia complexa, induzida por fatores abióticos e bióticos (ALFENAS et al., 2004; JURSKIS, 2005). Dentre os fatores associados a ela destacam-se o ataque de insetos (ROSS e BRACK, 2015), de patógenos como *Fusarium sp.* (KRUGNER et al., 2005), deficiência nutricional (MATTIELLO et al., 2009) e alterações climáticas (JURSKIS, 2005). Além destes, ela também pode ser relacionada ao déficit hídrico (CORRÊA et al., 2017).

Corrêa et al. (2017) avaliaram diferentes clones de eucalipto, tolerantes e suscetíveis a seca de ponteiros a partir de dados de histórico de ocorrência e, associaram biomarcadores morfológicos (altura da planta, diâmetro e densidade do caule, incremento em altura e área foliar) e nutricionais (teores de N, K e B), relacionadas à tolerância ao déficit hídrico ao distúrbio. Segundo estes autores, os clones de eucalipto apresentam

respostas diferenciadas ao estresse hídrico, o que permitiu a identificação precoce dos clones de maior e menor tolerância ao estresse hídrico e à seca de ponteiros.

2.3 Melhoramento genético, seleção precoce e biomarcadores em eucalipto

Inicialmente, a ênfase nos programas de melhoramento foi a introdução de diferentes espécies e procedências de eucalipto das regiões de origem e identificação daquelas mais adaptadas às condições ambientais brasileiras (BISON, 2004). Posteriormente, os esforços foram concentrados na seleção massal de indivíduos superiores e seleção com famílias de meios-irmãos, com o objetivo de produzir sementes melhoradas de algumas espécies (RESENDE, 2001).

Por algumas décadas, o melhoramento genético de *Eucalyptus* no Brasil foi direcionado para a produtividade de madeira, com grande sucesso (VENCOVSKY e RAMALHO, 2000; SILVA e BARRICHELLO, 2006). É importante mencionar que o aumento da produtividade, aliado à melhoria das propriedades da madeira, contribuíram de forma significativa para a redução de custos operacionais, melhoria do desempenho da matéria-prima no processo industrial e na adequação dessa à fabricação de produtos de alta qualidade (ASSIS e MAFFIA, 2007).

O tempo é um fator limitante nos programas de melhoramento genético de espécies florestais, pois envolvem espécies de ciclos longos, demorados e onerosos. No Brasil, uma geração de melhoramento de eucalipto dura aproximadamente 10 anos (PEREIRA et al., 1997). Os programas têm por base a seleção de genótipos superiores, atividade de importância e que deve ser praticada com rigor, visando eficiência e precisão (MASSARO et al., 2010). Neste processo, a seleção precoce é uma alternativa para a redução do tempo de seleção desses genótipos.

A seleção precoce tem sido preconizada para *Eucalyptus* (CHAVES et al., 2004; MASSARO et al., 2010) e tem se mostrado eficiente, tanto para seleção em testes de progênies de famílias de meio irmãos, quanto para seleção em testes clonais de híbridos (FONSECA et al., 2010). Por essa razão, os melhoristas de espécies florestais têm procurado identificar características de árvores em idade juvenil relacionadas àquelas de interesse econômico na fase adulta, de forma a prever, precocemente, o desempenho de um clone adulto, diminuindo o tempo para se completar um ciclo de seleção e antecipando o ganho genético (MORAES et al., 2014).

Outro fator de importância no melhoramento genético é o uso de biomarcadores, conhecidos como descritores. Biomarcadores são caracterizados como quaisquer

elementos que podem diferenciar e caracterizar um indivíduo. Estas características usadas na seleção devem ser reproduzidas na descendência (OLIVEIRA et al., 2007). Os caracteres fenotípicos quantitativos apresentam a maior influência do ambiente por serem governados por vários genes. Esses caracteres são fundamentais na caracterização de acessos, uma vez que vão influenciar o real potencial produtivo deles e a possibilidade de utilização de forma direta ou no melhoramento genético. Por sua vez, os caracteres qualitativos têm a sua importância na caracterização de germoplasma por serem relativamente de fácil aferição, de menor custo e menos influenciados pelo ambiente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em casa de vegetação na empresa Clonar - Resistência a Doenças de Plantas, Cajuri, MG (latitude de 20° 47' 26" S e longitude de 42° 47' 48" W). Para a condução do experimento, foram utilizados mudas de doze clones comerciais (Tabela 1), disponibilizados pela empresa Suzano Papel e Celulose. A identificação comercial dos clones foi suprimida por exigência de contrato com cláusula de sigilo. A Suzano Papel e Celulose forneceu os dados de campo sobre o grau de tolerância à seca de ponteiros e ao déficit hídrico de cada clone, de acordo com o levantamento histórico nas áreas de produção mais propensas à ocorrência desse distúrbio.

Tabela 1. Clones comerciais de eucalipto e sua classificação quanto a tolerância e suscetibilidade a seca de ponteiros e ao déficit hídrico

Clone	Background Genético	Seca de ponteiro	Déficit hídrico
Suz 1	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 2	<i>E. grandis x E. pellita</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 3	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 4	<i>E. grandis x E. pellita</i>	Suscetível	Suscetível
Suz 5	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Suscetível	Suscetível
Suz 6	<i>E. platyphylla</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 7	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 8	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Suscetível	Suscetível
Suz 9	<i>E. grandis</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 10	<i>E. urophylla</i>	Tolerante	Tolerante
Suz 11	<i>E. grandis</i>	Suscetível	Suscetível
Suz 12	<i>E. grandis x E. urophylla</i>	Tolerante	Tolerante

Fonte: Suzano Papel e Celulose

As mudas com cerca de 120 dias foram transplantadas para sacos plásticos pretos, de volume de 2 L contendo substrato de casca de arroz carbonizada e adubo. A seguir, passaram por aclimatização em casa de vegetação, à temperatura média de 25°C, umidade relativa média de 70%, com iluminação natural e irrigação diária. O experimento foi instalado após 40 dias de aclimação. Os tratamentos culturais foram realizados de acordo com procedimento padrão de viveiro da Clonar, incluindo adubação inicial e de cobertura, irrigação diária e controle fitossanitário, quando necessário.

O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados, com três repetições, e os dados obtidos avaliados em esquema fatorial 12 x 3, sendo 12 clones (Tabela 1) e três tratamentos (Tabela 2). O início do experimento foi realizado após o período de aclimação, com a aplicação de PEG, realizada em intervalos de 2 dias, e manutenção da irrigação e disponibilidade de água diferenciada para as mudas nos demais tratamentos. Os tratamentos utilizados nesse experimento para simulação de déficit hídrico foram estabelecidos e conduzidos de acordo com Corrêa et al. (20017). O experimento teve duração de aproximadamente 18 semanas e os dados foram coletados ao longo de sua condução (Figura 1).

Tabela 2. Descrição dos tratamentos de simulação de déficit hídrico aplicados para seleção precoce quanto a seca de ponteiros em 12 clones comerciais de eucalipto

Tratamento	Descrição
1- Controle	Plantas mantidas em casa de vegetação, em sacos plásticos de 2 L com substrato casca de arroz carbonizada, adubação de implantação e cobertura, temperatura média de 25 °C, iluminado com luz natural, umidade relativa de 70% e irrigação diária.
2- 300 g L ⁻¹ PEG	Procedimento padrão para simulação de estresse hídrico a cada dois dias durante todo o experimento, com a aplicação de 100 mL de solução de polietileno glicol 6000 (PEG), na concentração de 300 g L ⁻¹ por vaso.
3- 100 mL L ⁻¹ Água	Procedimento padrão para simulação do estresse hídrico durante todos os dias do experimento, com irrigação restrita à aplicação de 100 mL de água por vaso.

Fonte: Corrêa et al., 2017



Figura 1. Experimento com simulação de déficit hídrico com diferentes clones comerciais de eucalipto conduzidos em casa de vegetação. A – aclimação das plantas e alocação dos tratamentos; B – vista do das plantas ao final do experimento; C – detalhe da redução de crescimento das plantas no tratamento 300 PEG; D – detalhe da redução de crescimento das plantas sob estresse, plantas apresentando sintomas de deficiência hídrica, diferença de coloração das folhas; e E – detalhe do sintoma de deficiência hídrica nas folhas do eucalipto.

3.1 Variáveis Anatômicas

O terço médio do limbo e o pecíolo de folhas totalmente expandidas e sadias do terço médio, foram coletadas de plantas de três repetições por tratamento para a avaliação anatômica. Todos os procedimentos a seguir foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, de acordo com os protocolos de rotina e partir do material vegetal coletado.

As amostras do limbo foliar e pecíolo foram fixadas em FAA₅₀ (formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50%, na proporção de 5:5:90, v:v:v), por 48 h e estocadas em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). O material foi subamostrado e seções de 0,5 cm² da porção mediana do limbo (50% do seu comprimento) e 0,5 cm de seção dos pecíolos foram tomados a 50% do comprimento do seu comprimento total. As amostras foram desidratadas na sequência de etanol 85% e 95%, sendo mantidas por 2 h em cada. Posteriormente, as amostras foram submetidas à mistura de etanol 95% e resina pura (Historesin Leica, preparada conforme instrução do fabricante), na proporção de 1v:1v, por 48 h.

A infiltração foi feita com resina pura, em um dessecador submetido a vácuo, e em intervalos de 12 h cada, em um período de 7 dias. A resina pura foi misturada ao polimerizador, conforme as instruções do fabricante, e as amostras emblocadas em moldes plásticos. Na sequência esses moldes ficaram 72 h em estufa a 35 °C e foram finalmente fixados em blocos de madeira com cola instantânea. Secções transversais com 5 µm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo automático (RM2155, Leica Microsystems Inc., EUA) com navalhas de vidro. Os cortes foram destinados a um recipiente contendo água quente, aderidos em lâminas histológicas, coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 6,5 (O'BRIEN et al., 1964) e montadas com resina sintética (Permount, Fisher Scientific, EUA).

As imagens foram obtidas em câmera fotográfica digital (AxioCam HRc, Zeiss, Alemanha) e microcomputador com programa de captura de imagens (Axio Vision, Zeiss, Alemanha), acoplados a um microscópio de luz (AX-70 TRF, Olympus Optical, Japão).

As fotos foram analisadas em software para análise de imagens Image Pro Plus, com medição de cinco campos por repetição, para cada variável analisada e obtida a média. Para análise anatômica do pecíolo foram avaliadas a área de seção transversal do pecíolo (ASTP); área de tecido vascular (ATV); área de xilema (XIL); área de floema (FLO); e área do córtex (AC). Para avaliação do limbo foliar foram avaliadas as variáveis espessura total da folha (ETF); epiderme face adaxial (EAD); parênquima paliçádico (PP); parênquima lacunoso (PL); e epiderme face abaxial (EAB).

A densidade estomática (DE) foi realizada com base no método de impressão de epiderme. Três folhas expandidas do terço médio da planta de cada tratamento, foram seccionadas por uma navalha de aço na parte da nervura central e aderidas através de uma gota de adesivo universal Super Bonder® sobre lâminas histológicas. Aproximadamente

após 10 segundos a folha foi retirada e a lâmina devidamente identificada. As análises e a quantificação dos estômatos foram realizadas com o programa Image Pro Plus.

3.2 Variáveis Fisiológicas

O estado hídrico das plantas foi avaliado com base no potencial hídrico foliar medido com câmara de pressão Scholander Molelo 1000 (PMS Instrument Company) em dois momentos: no meio, e uma semana antes do fim do experimento. As medições foram feitas na terceira folha totalmente expandida e sadia, contada a partir do ápice da planta, em dois momentos, de 3h:00 às 5h:00 (madrugada) e de 13h:00 às 15h:00 (potencial mínimo), em três repetições por tratamento.

As variáveis de transpiração (E1 e E2), condutância estomática (gs), fotossíntese (A1 e A2), eficiência instantânea do uso da água (A/E), eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) e relação carbono interno/carbono externo (C_i/C_a) foram mensuradas com auxílio do aparelho IRGA (LC*pro-SD*, ADC Biocientific Ltd.) e avaliadas no 60 e 90 dias durante o experimento, utilizando-se folhas expandidas do terço médio das plantas.

3.3 Variáveis Morfológicas

As variáveis morfológicas foram avaliadas no decorrer do experimento. No início e final do experimento, foram avaliadas: o diâmetro do caule (D), medido com um paquímetro digital, graduado em milímetros, a 2,5 cm acima da região do coleto. A variável incremento em diâmetro (ID), foi quantificada através da diferença do diâmetro inicial e final. A altura das plantas (AL) medida com uma trena graduada em centímetros; e dessa diferença de altura inicial e final do experimento, foi avaliado o incremento em altura (IA).

No final do experimento foram avaliadas: número total de ramos (NTR); número de nós (NN); número de ramificações (NR); e número de entrenós (NE). Todas essas variáveis foram feitas através de contagem direta e acima de uma marcação (terceiro nó, contado a partir da gema apical) feita com arrame colorido na montagem do experimento.

No final do experimento foi feito também, a coleta de dados para área foliar (AF), onde foram coletadas 10 folhas totalmente expandidas do terceiro ou quarto nó do ápice para a base de cada planta, que posteriormente foram armazenadas em sacos plásticos levadas a laboratório para digitalização em scanner e medidas através do programa Image Pro Plus.

3.4 Variáveis Nutricionais

Para a análise das variáveis nutricionais foram coletadas vinte folhas sadias e totalmente expandidas do terço mediano de cada planta no final do experimento. As folhas foram armazenadas em sacos de papel e secas em estufa a 60 °C por três dias e enviadas para o Laboratório de Solos Florestais, do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, onde as análises de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Zn, Cl, B, Mn, Fe, Cu e Mo) foram feitas e avaliadas segundo o procedimento padrão do laboratório.

3.5 Análises Estatísticas

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas pela metodologia de modelos mistos, procedimento REML/BLUP (Máxima Verossimilhança Restrita/ Melhor Predição Linear Não Viesada) e a análise de deviance (Anadev) (RESENDE e DUARTE, 2007), seguindo o seguinte modelo:

$$y = Xb + Zg + e, \text{ em que:}$$

y , b , g , e : vetores de dados, de efeitos fixos (média geral, repetições e tratamentos), de efeitos genotípicos totais (aleatórios) e de erros aleatórios, respectivamente.

X e Z : matrizes de incidência para b e g , respectivamente.

Equações de Modelo Misto:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}((1-h^2)/h^2) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

$h^2 = \hat{\sigma}_g^2 / (\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_e^2)$: herdabilidade individual no sentido amplo.

Estimadores dos Componentes de Variância via Algoritmo EM

$$\hat{\sigma}_e^2 = [y'y - \hat{b}'X'y - \hat{g}'Z'y] / [N - r(X)]$$

$$\hat{\sigma}_g^2 = [\hat{g}'A^{-1}\hat{g} + \hat{\sigma}_e^2 \text{tr} C^{22}] / N_g, \text{ em que:}$$

$r(X)$: posto ou número de colunas linearmente independentes de X .

$$C^{22} \text{ é da forma } \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} \\ C^{21} & C^{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}(\hat{\sigma}_e^2 / \hat{\sigma}_g^2) \end{bmatrix}^{-1}$$

N_g : número de elementos aleatórios (indivíduos).

A : matriz de parentesco genético aditivo.

tr : operador traço matricial, dado pela soma dos elementos da diagonal da matriz.

N : número total de dados.

Os valores genotípicos preditos foram usados para calcular o índice de seleção, com base na média de *ranks* (MULAMBA e MOCK, 1978). Foi utilizado o software Selegen-Reml/Blup, versão 2014 (RESENDE, 2016) para realização das análises estatísticas.

4. RESULTADOS

Os tratamentos de déficit hídrico efetivamente reduziram a disponibilidade de água na planta em relação ao controle. De modo geral, nos dois tratamentos 300 PEG e 100 H₂O as plantas apresentaram redução de crescimento em relação ao controle (Figura 1). As plantas apresentaram redução média de 0,36 MPa e 0,75 MPa nos tratamentos 100H₂O e 300PEG, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 3). As plantas variaram quanto a proporção em que o potencial hídrico foi reduzido de forma independente da característica de tolerância ao déficit hídrico ou à seca de ponteiros. Sintomas de déficit hídrico como necrose marginal das folhas foi comum em clones dos dois tratamentos (Figura 1).

Tabela 3. Potencial hídrico dos 12 clones comerciais de eucalipto, medidos durante dois períodos do dia (5:00 e 12:00) nos três tratamentos (Controle, 300 PEG e 100 H₂O)

Tratamento Clone	Potencial hídrico					
	Controle		300 PEG		100 H ₂ O	
	madrugada	dia	madrugada	dia	madrugada	dia
Suz 1-T	-0,08	-0,58	-0,70	-0,87	-0,45	-1,10
Suz 2-T	-0,08	-0,42	-1,43	-1,50	-0,68	-1,43
Suz 3-T	-0,35	-0,57	-1,32	-1,68	-0,35	-1,10
Suz 4-S	-0,10	-0,67	-1,15	-1,45	-0,38	-1,05
Suz 5 -S	-0,25	-0,85	-1,17	-1,22	-0,55	-0,83
Suz 6- T	-0,10	-0,58	-1,15	-1,25	-0,33	-0,93
Suz 7- T	-0,12	-0,47	-0,70	-1,18	-0,48	-1,15
Suz 8- S	-0,17	-0,58	-0,92	-1,23	-0,33	-0,83
Suz 9- T	-0,13	-0,50	-0,80	-1,02	-0,43	-1,05
Suz 10 -T	-0,17	-0,52	-0,63	-1,10	-0,38	-0,63
Suz 11- S	-0,23	-0,65	-1,08	-1,22	-0,43	-0,93
Suz 12 -T	0,00	-0,60	-0,85	-1,00	-0,47	-1,08
Média	-0,15	-0,58	-0,99	-1,23	-0,44	-1,01
Desvio Padrão	0,09	0,11	0,26	0,23	0,10	0,20

No total, 46 variáveis foram avaliadas durante a condução do experimento, das quais 11 anatômicas, 13 fisiológicas, 9 morfológicas e 13 nutricionais. A Figura 2 mostra

os cortes anatômicos do limbo foliar dos clones tolerantes e suscetíveis. A diferença entre os clones não pode ser constatada qualitativamente com base nas características de anatomia do limbo foliar. A diferença entre os clones tolerantes e suscetíveis foi verificada por meio de análise quantitativa das áreas das variáveis. No total das 5 características avaliadas no limbo foliar, apenas a variável área total da folha apresentou herdabilidade e acurácia significativas (Tabela 4)

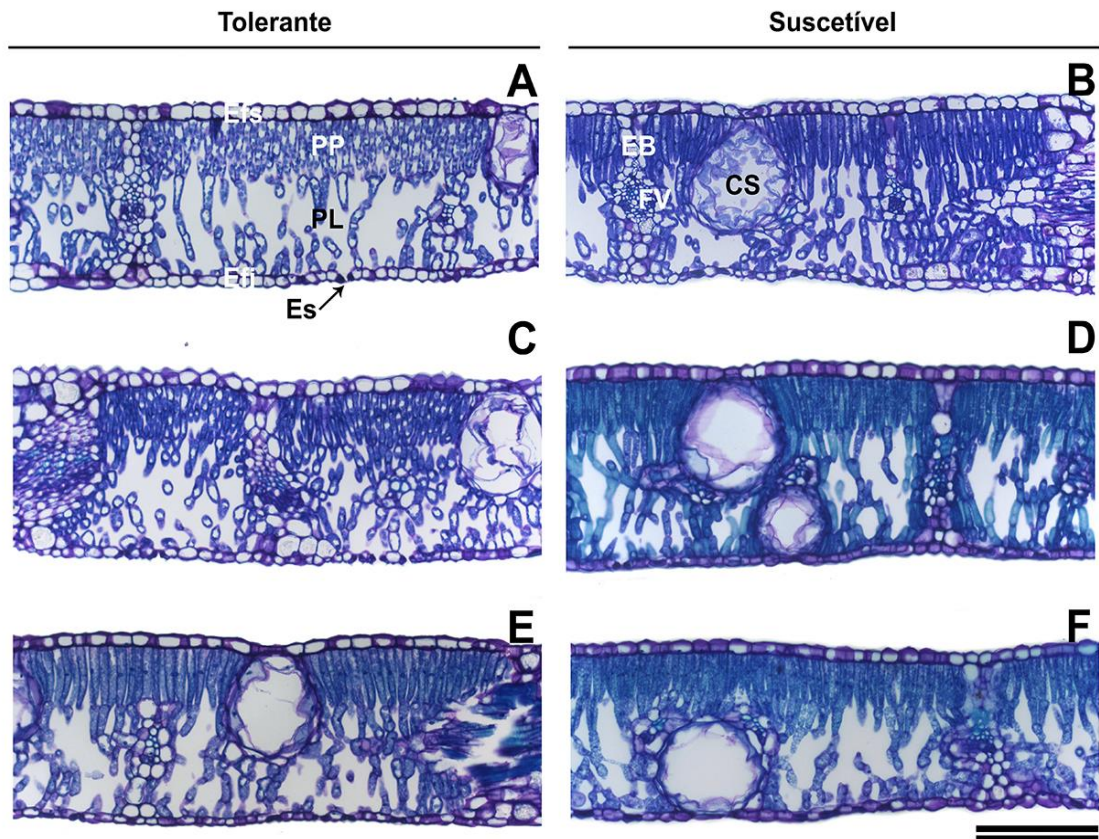


Figura 2. Seção transversal das folhas de clones comerciais de eucalipto. A (Suz 1), C (Suz 6) e E (Suz 9): genótipos tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico; B (Suz 4), D (Suz 8) e F (Suz 11): genótipos suscetíveis. A e B: tratamento controle; C e D: tratamento 300 PEG, e E e F: tratamento 100H₂O. Efs - epiderme face superior, PP - parênquima clorofiliano paliádico, PL - parênquima clorofiliano lacunoso, Efi - epiderme face inferior, Es - estômato, EB - extensão de bainha, FV - feixe vascular, CS - cavidade secretora. Barra = 100 μm para todas as imagens.

Para a variável densidade estomática, foi realizada a contagem dos estômatos na face abaxial das folhas, visto que os clones em estudos são hipoestomático. A densidade

estomática foi maior nos clones suscetíveis a seca de ponteiros e ao déficit hídrico, enquanto que, para clones tolerantes, o número de estômatos foi menor (Figura 3). Neste caso, tanto a análise qualitativa quando a quantitativa demonstra as diferenças estomáticas entre os clones tolerantes e suscetíveis.

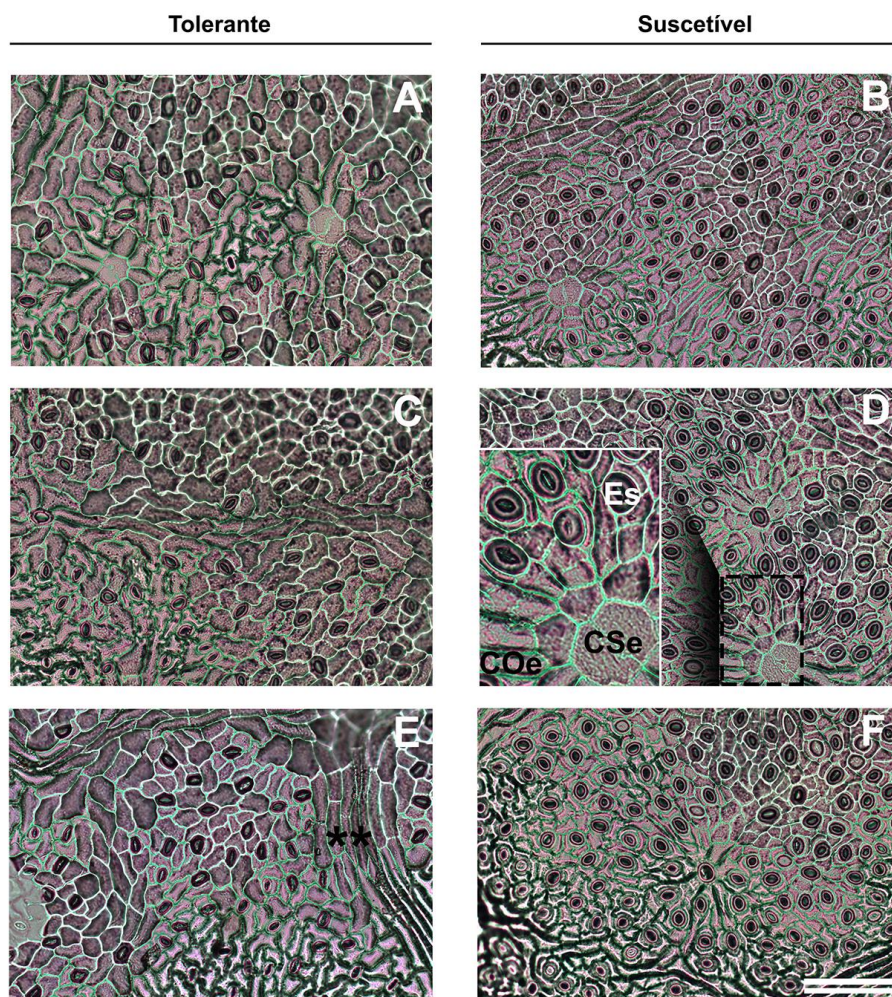


Figura 3. Análise de densidade estomática realizada na face abaxial de folhas de eucalipto. A (Suz 1), C (Suz 6) e E (Suz 9): genótipos tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico; B (Suz 4), D (Suz 8) e F (Suz 11): genótipos suscetíveis. A e B: tratamento controle; C e D: tratamento 300 PEG, e E e F: tratamento 100H₂O. ** células epidérmicas ordinárias sobre feixes vasculares Es - estômato, COe - célula epidérmica ordinária, CSe - células epidérmicas sobre cavidades secretoras. Barra = 100 µm para todas as imagens.

A Figura 4 mostra a área de secção transversal do pecíolo dos clones tolerantes e suscetíveis. Qualitativamente não foi possível identificar diferença entre os clones. Essa

diferença só pode ser constatada a partir de uma análise quantitativa das áreas das estruturas anatômicas. Para análise da anatomia do pecíolo, foram avaliadas cinco variáveis, das quais quatro apresentaram herdabilidade e acurácia significativas (Tabela 4).

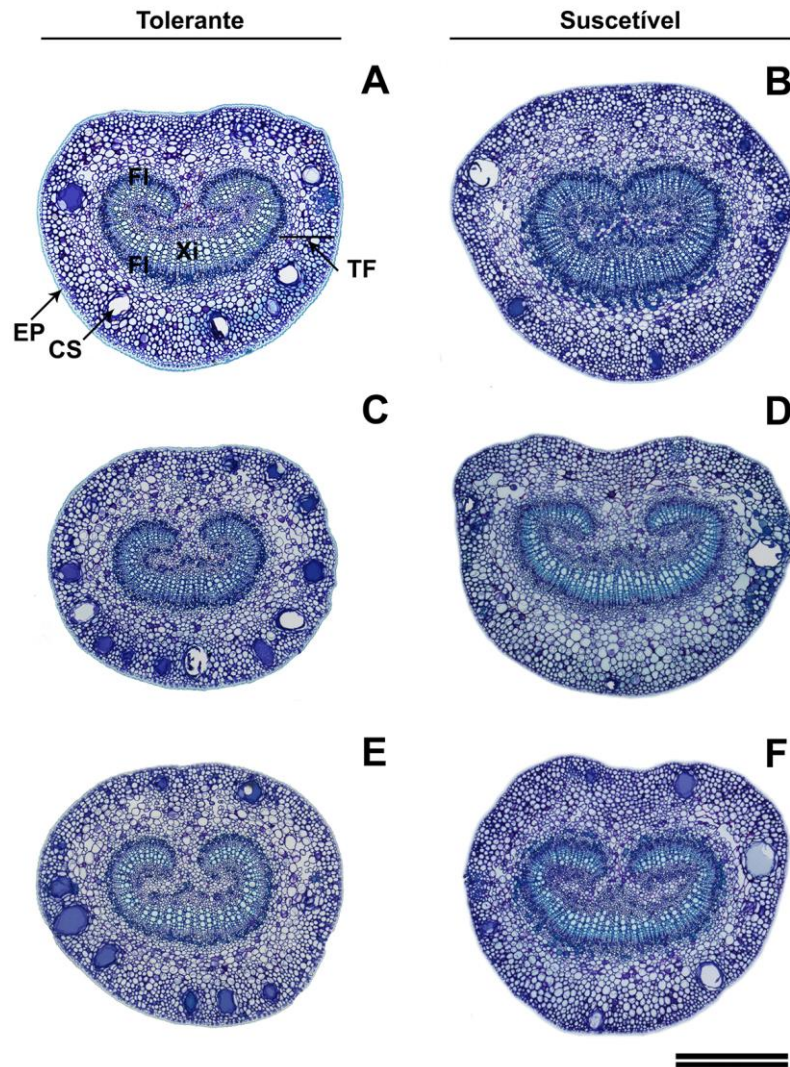


Figura 4. Análise de pecíolo de eucalipto. A (Suz 1), C (Suz 6) e E (Suz 9): genótipos tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico; B (Suz 4), D (Suz 8) e F (Suz 11): genótipos suscetíveis. A e B: tratamento controle; C e D: tratamento 300 PEG, e E e F: tratamento 100H₂O. Fl - floema, Xi - xilema, TF- tecido fundamental, CS - cavidade secretora, EP – epiderme. Barra = 100 µm para todas as imagens.

Os resultados da Análise de Deviance são apresentados na Tabela 4 e confirmam a significância de todas as variáveis avaliadas nesse experimento.

Tabela 4. Análise de Deviance para as variáveis anatômicas, fisiológicas, morfológicas e nutricionais avaliadas em 12 clones de eucalipto tolerantes e suscetíveis a seca de ponteiros e ao déficit hídrico, avaliados para os três tratamentos (Controle, 300PEG e 100 H₂O)

(Continua)

Variável	Efeito	Deviance	LRT
Densidade estomática	Clones	756,42	4,16**
	Modelo Completo	752,26	
Área de seção transversal do pecíolo	Clones	1083,34	10,44***
	Modelo Completo	1072,9	
Área de tecido vascular	Clones	821,41	12,69***
	Modelo Completo	808,72	
Área de xilema	Clones	671,27	8,78***
	Modelo Completo	662,49	
Área de floema	Clones	718,23	14,89***
	Modelo Completo	703,34	
Área do córtex	Clones	1030,52	8,37***
	Modelo Completo	1022,15	
Espessura total da folha	Clones	769,47	3,84**
	Modelo Completo	765,63	
Condutância estomática	Clones	324,24	1,84*
	Modelo Completo	322,40	
Transpiração 60	Clones	148,38	2,65*
	Modelo Completo	145,73	
Fotossíntese 90	Clones	399,74	63,57***
	Modelo Completo	336,17	
Transpiração 90	Clones	169,86	2,9*
	Modelo Completo	166,96	
Altura	Clones	574,98	11,1***
	Modelo Completo	563,88	
Diâmetro	Clones	17,56	2,44*
	Modelo Completo	15,12	
Área foliar	Clones	851,21	19,15***
	Modelo Completo	832,06	
Incremento em diâmetro	Clones	36,54	8,5***
	Modelo Completo	28,04	
Incremento em altura	Clones	574,56	9,98***
	Modelo Completo	564,58	
Nitrogênio	Clones	131,53	3,03*
	Modelo Completo	128,5	
Potássio	Clones	279,86	7,54***
	Modelo Completo	272,32	

(Conclusão)

Variável	Efeito	Deviance	LRT
Magnésio	Clones	425,71	3,44*
	Modelo Completo	422,27	
Enxofre	Clones	421,38	1,6*
	Modelo Completo	419,78	
Cobre	Clones	210,28	6,6**
	Modelo Completo	203,68	
Zinco	Clones	491,93	8,85***
	Modelo Completo	483,08	
Boro	Clones	705,78	9,04***
	Modelo Completo	696,74	
Manganês	Clones	1133,99	8,35***
	Modelo Completo	1125,64	

Qui-quadrado tabelado: 2,71; 3,84 e 6,63 para os níveis de significância 10, 5 e 1%, respectivamente

De todas as variáveis avaliadas, 24 foram selecionadas, a partir das estimativas dos parâmetros genéticos como possíveis biomarcadores fenotípicas para seleção precoce quanto a tolerância a seca de ponteiros e relacionadas ao déficit hídrico em eucalipto (Tabela 5). Das variáveis selecionadas, sete são anatômicas, quatro fisiológicas, cinco morfológicas e oito nutricionais. Todas apresentaram valores de herdabilidade significativos e acurácia alta (maior que 70%) (Tabela 5).

Tabela 5. Estimativa dos componentes de variância (h^2g - Herdabilidade ; Acgen - Acurácia da herdabilidade; Cve%- coeficiente de variação experimental) para as variáveis anatômicas (DE, ASTP, ATV, XIL, FLO, AC e ETF), fisiológicas (gs, E1, A2 e E2), morfológicas (AL, D, AF, ID e IAL) e nutricionais(N, K, Mg, S, Cu, Zn, B e Mn)

Estimativas de parâmetros genéticos				
Variáveis	h^2g	Acgen	Cve%	Média
Densidade estomática	0,22	0,80	16,87	122,25
Área de seção transversal do pecíolo	0,30	0,89	20,98	529,39
Área de tecido vascular	0,36	0,91	23,73	121,22
Área de xilema	0,28	0,87	28,17	49,39
Área de floema	0,34	0,89	23,50	71,83
Área do córtex	0,27	0,87	21,15	408,16
Espessura total da folha	0,14	0,77	16,08	152,20
Condutância estomática	0,11	0,70	87,00	0,11
Transpiração 60	0,14	0,75	50,01	2,06
Fotossíntese 60	0,12	0,74	41,67	6,78
Transpiração 90	0,10	0,71	44,60	2,70
Altura	0,31	0,89	12,27	69,20
Diâmetro	0,17	0,74	7,00	6,68
Área foliar	0,58	0,94	14,25	200,36
Incremento em diâmetro	0,27	0,87	14,97	3,81
Incremento em altura	0,31	0,89	22,71	38,46
Nitrogênio	0,16	0,83	17,01	1,48
Potássio	0,32	0,86	12,00	1,10
Magnésio	0,21	0,78	12,04	0,44
Enxofre	0,15	0,78	100,52	29,37
Cobre	0,33	0,85	20,88	5,80
Zinco	0,36	0,88	19,3	26,51
Boro	0,35	0,88	20,49	670,18
Manganês	0,32	0,88	20,48	670,72

A variável morfológica área foliar apresentou herdabilidade de 0,58, considerada a de maior magnitude ($h^2g \geq 0,50$) e alta acurácia (Acgen $\geq 0,70$) para seleção de indivíduos.

As variáveis fisiológicas condutância estomática (gs), transpiração (E1), fotossíntese (A2) e transpiração (E2) e a variável anatômica ETF apresentaram herdabilidades variando entre 0,10 e 0,14, classificadas como de baixa magnitude ($0,01 \leq h^2g \leq 0,15$). Em contrapartida, todas apresentaram acurácia de alta magnitude (Acgen $\geq 0,70$). As demais variáveis anatômicas: densidade estomática (DE); área de seção transversal (AST); área de tecido vascular (ATV); xilema (XIL); floema (FLO) e área de

córtex (AC) apresentaram estimativas variando entre 0,22 a 0,36, classificadas como de média ou moderada herdabilidade ($0,15 < h^2g < 0,50$). A mesma classificação foi encontrada nas variáveis morfológicas: altura (AL); diâmetro (D); incremento de diâmetro (ID) e incremento de altura (IAL), onde as estimativas de herdabilidade variaram entre 0,17 e 0,31.

Os nutrientes nitrogênio (N); potássio (K); magnésio (Mg); enxofre (S); Cobre (Cu); zinco (Zn); boro (B) e manganês (Mg) apresentaram a mesma classificação de herdabilidade das variáveis citadas acima, estando os valores variando entre 0,15 a 0,36. Mesmo todas essas variáveis apresentando valores de herdabilidade considerados de magnitude média ou moderada, todas tiveram acurácia variando entre 0,70 a 0,91, e assim classificadas de alta magnitude e de controle genético adequado para uso nas análises.

Das cinco variáveis anatômicas analisadas para o limbo foliar, apenas espessura total da folha (ETF) apresentou herdabilidade e acurácia significativas (Tabela 5). A análise qualitativa da anatomia do limbo foliar foi semelhante para os clones tolerantes e suscetíveis, independentemente do tratamento de déficit hídrico e controle (Figura 4).

As variáveis anatômicas, fisiológicas, morfológicas e nutricionais variaram de forma significativa entre os clones tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico e a seca de ponteiros. Esta variação foi utilizada de forma a ranquear os clones de acordo com sua tolerância ao estresse ou distúrbio (Tabela 5).

O ranqueamento com base no índice de média de *ranks* de Mulamba e Mock (1978) foi realizado com base nas variáveis que apresentaram herdabilidade e acurácia significativas, nos tratamentos de estresse hídrico (Tabela 5). A classificação dos clones de acordo com a tolerância à seca de ponteiros e ao déficit hídrico foi realizada tomando por base somente os tratamentos 100 mL H₂O e 300 mg L⁻¹ PEG (Tabela 6). A aplicação do fator de estresse foi essencial para que os genótipos expressassem sua plasticidade e potencial de resposta ao estresse, constatado pela redução do crescimento vegetativo diferenciado das plantas conduzidas nesses tratamentos, em comparação ao controle.

Os 12 genótipos foram classificados de acordo com as 24 características, dentre as quais variáveis anatômicas, fisiológicas, morfológicas e nutricionais, e colocadas em ordem crescente favorável ao melhoramento genético, utilizando o índice de média de *ranks* de Mulamba e Mock (1978) (Tabela 6). O ranqueamento com base nas características selecionadas de herdabilidade de boa magnitude e acurácia (Tabela 6) permitiu a classificação coerente dos genótipos de acordo com o fenótipo de resistência apresentado em nível de campo (Tabela 1).

Tabela 6. Classificação com base na soma de ranks em relação a densidade estomática (DE), área de seção transversal (ASTP), área de tecido vascular (ATV), xilema (XIL), floema (FLO), área do córtex (AC), espessura total da folha (ETF), condutância estomática (gs), transpiração 60 dias (E1), fotossíntese 90 dias (A2), transpiração 90 dias (E2), altura (AL), diâmetro (D), área foliar (AF), incremento de diâmetro (ID), incremento em altura (IAL), teor de nitrogênio (N), potássio (K), magnésio (Mg), enxofre (S), cobre (Cu), zinco (Zn), boro (B) e manganês (Mn) de 12 clones de eucalipto submetidos aos tratamentos utilizando 100 mL H₂O (número antes da barra, na coluna Rank) e 300 mg L⁻¹ PEG (número depois da barra, na coluna Rank) para simulação do déficit hídrico.

		<i>Rank</i>																									
		Anatômicas							Fisiológicas				Morfológicas					Nutricionais									
Ordem	Clone	DE	AST	ATV	XIL	FLO	AC	ETF	gs (1)	E1	A2	E2	AL	D	AF	ID	IAL	N	K	Mg	S	Cu	Zi	B	Mn	Rank final	
1	Suz 7-T	1/2	2/3	5/2	12/2	12/1	10/9	8/7	10/2	7/2	10/2	5/4	3/2	1/4	10/6	2/5	3/4	4/3	7/6	10/5	1/9	9/4	1/5	3/2	5/3	4,90	
2	Suz 6-T	6/1	1/1	3/1	1/1	2/2	3/1	2/1	7/1	5/1	11/1	12/1	11/3	12/3	9/8	10/6	8/2	7/9	9/8	4/6	3/1	6/7	7/10	4/1	11/9	4,98	
3	Suz 10-T	4/5	11/9	12/3	3/10	8/5	2/7	1/4	11/3	1/3	5/9	1/6	5/10	3/10	6/4	1/4	7/5	2/8	5/4	8/4	7/7	5/8	8/3	10/9	1/5	5,67	
4	Suz 3-T	9/7	5/5	1/8	2/3	1/11	6/8	10/8	5/10	9/8	9/3	2/2	4/6	7/6	5/9	4/12	6/10	11/1	4/9	5/11	5/4	3/1	5/4	6/3	7/2	5,88	
5	Suz 9-T	5/9	4/6	3/5	9/7	5/4	1/10	6/6	2/5	8/7	6/7	4/7	12/9	9/8	8/11	6/1	10/3	9/4	10/10	11/1	6/2	12/2	3/6	8/7	2/11	6,40	
6	Suz 11-S	7/3	8/4	9/6	7/5	6/9	5/2	4/9	6/8	6/5	3/5	7/9	9/5	11/7	7/7	3/3	11/9	10/7	1/7	3/3	12/11	1/9	6/12	2/5	9/6	6,44	
7	Suz 5-S	2/8	10/11	4/7	4/11	3/7	4/5	3/11	4/7	3/6	2/11	3/10	2/11	6/1	4/1	12/7	12/1	12/10	6/1	1/8	10/3	4/11	12/9	9/11	6/8	6,54	
8	Suz 12-T	11/4	12/7	11/4	11/4	9/6	8/12	7/5	9/4	10/4	8/6	6/3	7/12	5/2	12/2	11/2	9/6	6/5	3/3	2/2	2/12	11/5	11/8	12/4	8/12	6,98	
9	Suz 1-T	3/6	3/2	8/9	6/9	7/3	7/4	5/2	12/6	2/9	8/4	9/8	10/8	10/9	3/5	9/10	4/12	8/11	11/5	7/10	8/8	10/12	2/2	8/8	10/10	7,13	
10	Suz 2-T	10/12	6/10	7/12	10/8	4/12	9/11	12/3	1/12	11/12	4/10	8/11	1/7	2/11	1/12	8/8	1/8	1/2	12/12	12/7	4/5	8/3	4/1	1/10	4/7	7,23	
11	Suz 8-S	8/11	7/8	6/10	5/6	10/8	11/3	9/10	3/9	4/11	1/8	10/5	8/4	8/5	2/3	5/9	5/11	5/12	8/2	9/9	11/10	2/10	10/11	5/6	12/4	7,27	
12	Suz 4-S	12/10	9/12	10/11	8/12	11/10	12/6	11/12	8/11	12/10	12/12	1/12	6/1	4/12	11/10	7/11	2/7	3/6	2/11	6/12	9/6	7/6	9/7	11/12	3/1	8,67	

T: tolerante ao déficit hídrico e a seca de ponteiro; S: suscetível ao déficit hídrico e a seca de ponteiros.

Os clones foram classificados de acordo com a média geral dos ranks de todas as características avaliadas, sendo que as menores médias indicam que as características avaliadas foram mais eficientes e tiveram uma combinação favorável à seleção da característica de resistência. Em contrapartida, os clones com as maiores médias das características avaliadas foram menos eficientes e obtiveram uma condição menos favorável para a tolerância. As cinco primeiras posições no *rank* foram ocupadas pelos clones Suz 7, Suz 6, Suz 10, Suz 3 e Suz 9, todos tolerantes ao déficit hídrico e a seca de ponteiros, de forma coerente com a classificação empírica com base em dados de campo.

5. DISCUSSÃO

A obtenção de estimativas dos parâmetros genéticos é de suma importância para os programas de melhoramento genético, pois possibilitam a tomada de decisões e escolha do método apropriado para a seleção. Igualmente, a escolha de cada caráter e o peso a ele atribuído são informações fundamentais para a tomada de decisão nas etapas iniciais e avançadas de um programa de melhoramento, visto seu papel preditivo para o direcionamento do processo seletivo de genótipos mais promissores (BÁRBARO, 2006).

Dentre as estimativas de parâmetros genéticos, a herdabilidade e acurácia permitiram a identificação de biomarcadores viáveis para a seleção de genótipos tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico. Estes parâmetros são importantes ferramentas úteis à condução de um programa de melhoramento, auxiliando na seleção de genótipos superiores (MORAES et al., 2014). Foram avaliadas 46 características anatômicas, fisiológicas, morfológicas e nutricionais de plantas submetidas à estresse hídrico.

A herdabilidade é um dos mais importantes parâmetros genéticos, pois quantifica a fração da variação fenotípica de natureza herdável passível de ser explorada na seleção (MORAES et al., 2015). Portanto, é fundamental o conhecimento de quanto a variação fenotípica é atribuída a variação genotípica, e esta variação é quantificada pela herdabilidade (FALCONER e MACKAY, 1996). A herdabilidade foi significativa nas 24 características e com estimativas entre 0,10 a 0,58. Outro estimador utilizado foi a acurácia, que é uma medida da correlação entre a estimativa e o valor real do parâmetro, cujos valores obtidos para as 24 variáveis variaram entre 70 a 94%, sendo consideradas de alta magnitude, segundo classificação de Resende (2002).

O estresse hídrico foi aplicado de forma efetiva, com base na redução do potencial osmótico das plantas sob estresse, em comparação ao tratamento controle. Contudo,

considerar exclusivamente a redução do potencial hídrico das plantas foi insuficiente para discriminar o clone tolerante do suscetível. Do total de características avaliadas nas plantas conduzidas sob déficit hídrico, 24 apresentaram herdabilidade significativa e acurácia maior que 70%, contribuindo para a seleção precoce de genótipos tolerantes. As diferenças nas respostas dos genótipos em relação à aplicação do déficit hídrico ressaltam a plasticidade fenotípica e capacidade de adaptação diferenciada destes à condição de estresse. A significância de diferentes grupos de variáveis anatômicas, fisiológicas, morfológicas e nutricionais, evidencia que esta resposta ao estresse resulta em um ajuste conjunto de fatores diversos, de modo a proporcionar à planta melhor adaptação à condição estressante.

Os parâmetros anatômicos são fundamentais para o entendimento dos mecanismos de adaptações das plantas, visto que, sob condições de estresse, a mudança em sua anatomia é uma das formas de adaptação às novas condições (TAIZ e ZEIGER, 2013). Para as variáveis anatômicas, foram utilizadas amostras do pecíolo e folhas dos 12 clones comerciais. De 11 características avaliadas, 7 foram significativas considerando a herdabilidade e acurácia, a citar: densidade estomática; área de secção transversal do pecíolo; área de tecido vascular; xilema; floema; área do córtex; e área total da folha. Todas as variáveis anatômicas podem ser consideradas biomarcadores para seleção precoce relacionada a seca de ponteiros e ao déficit hídrico em eucalipto.

As características anatômicas do pecíolo têm potencial para expressar a adaptação das plantas ao déficit hídrico e consistem em biomarcadores importantes para a seleção de genótipos mais tolerantes ao estresse (DAYER et al., 2017). Do pecíolo, as variáveis área de secção transversal, área de tecido vascular, xilema, floema e área do córtex foram significativas pois apresentaram acurácia de alta magnitude e teve um aumento das áreas dessas variáveis para os clones tolerantes conduzidos sob estresse hídrico, implicando em bons biomarcadores.

A variável área de secção transversal do pecíolo apresentou herdabilidade moderada e alta acurácia. Plantas sob algum tipo de estresse, tendem a inibir a expansão das células do córtex, parênquima, periciclo e câmbio, causando redução do número de células em todos os tecidos. Laajimi et al. (2011) relataram que o nível de estresse hídrico afetou de forma diferenciada os tecidos no pecíolo, com uma redução de 11,4% do parênquima esponjoso e de 14,4 a 30,5% do esclerênquima, xilema e câmbio com 0 e 50% de irrigação, respectivamente.

A variável área do córtex apresentou herdabilidade moderada e acurácia de 87%, sendo evidente uma redução da região do córtex nos clones tolerantes conduzidos sob condição de estresse. A diminuição da espessura do córtex em plantas submetidas à deficiência hídrica, pode favorecer menor perda de água, de modo similar ao que ocorre nas raízes conduzidas sob déficit hídrico, onde também se observou redução da região cortical (HUCK et al., 1970).

O desenvolvimento dos tecidos vasculares tem potencial contribuição para a característica de resistência ao déficit hídrico, com o transporte de água e nutrientes pelo xilema e de transporte de fotoassimilados e redistribuição de nutrientes e água pelo floema. A área do xilema foi outra variável que apresentou herdabilidade de 0,28 e 87% de acurácia. Ele constitui a parte mais longa da rota do transporte de água da raiz até as partes aéreas. De acordo com Figueiredo et al. (2013), a limitação de água pode favorecer a redução da área do xilema, que pode afetar de forma direta e significativa a fotossíntese e, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento dos órgãos vegetais, atribuído à redução da condutividade hidráulica e conseqüente cavitação nos vasos condutores (OTIENO et al., 2005).

Dayer et al. (2017) observaram em seus trabalhos com pecíolos de folhas de videiras, sob condições de déficit hídrico, desenvolvimento da área de xilema menor, quando comparado as videiras sem restrições hídricas. Estes resultados sugerem que a redução na condutividade hidráulica pode ser causada pela cavitação do xilema, mas também pela redução no tamanho da área de xilema (SPERRY, 2000).

A variável área de floema no pecíolo apresentou herdabilidade moderada e alta acurácia. Em condições de déficit hídrico, a condução de seiva pelo floema é afetada, de modo que alguns tecidos vegetais apresentam redução de reservas de carbono, podendo, em condições extremas, inclusive, levar a planta à morte (MCDOWELL e SEVANTO, 2010; SALA et al., 2010). Apesar da menor variabilidade de características do pecíolo em relação ao limbo foliar, Lukovic et al (2009) destacaram que estas características têm papel importante no manejo de água sob diferentes condições de disponibilidade de água.

Apesar da diversidade de fatores relacionados ao transporte no xilema e floema, a proporção de tecidos vasculares total no pecíolo foi significativa apresentando herdabilidade e acurácia de 0,36 e 91%, respectivamente. Alves e Angyalossy-Alfonso (2000) concluíram que os fatores ambientais alteram as dimensões e o arranjo dos elementos vasculares de forma positiva, na tentativa de garantir aumento na segurança do transporte, quando a planta está sujeita a algum tipo de estresse. Aparentemente,

considerando a redução na área ocupada pelos tecidos vasculares, as plantas devem apresentar alguma alteração em nível de diferenciação celular que resulte em maior segurança na condução.

Kulkarni e Deshpande (2006) observaram que características do pecíolo como espessura total, comprimento dos elementos do xilema e do floema são características importantes para os genótipos de tomate tolerantes ao déficit hídrico. O investimento em características menos favoráveis à cavitação do xilema nos pecíolos foi um fator relevante para discriminar genótipos de *Hevea*, mais e menos tolerantes ao déficit hídrico (JINAGOO et al., 2015). A habilidade de adaptação ao estresse hídrico também foi destacada por Laajimi et al.

(2011) que observaram a variação da espessura dos tecidos de pecíolo de *Prunus* em resposta a moderado e severo estresse hídrico. De modo geral, se observa que os genótipos tolerantes ao déficit hídrico apresentam maiores camadas de colênquima, comprimento do floema, seção do xilema e arranjo mais compacto do parênquima (KULKARNI et al., 2008).

Para alguns autores, em condições ambientais adversas, como o estresse hídrico, a densidade e tamanho dos estômatos são reduzidos e considerados uma estratégia de regulação à perda de água durante a deficiência hídrica, por reduzir a condutância estomática e a transpiração (SILVA et al., 2009; DOHENY-ADAMS et al., 2012; HAMANISHI et al., 2012). A densidade estomática apresentou herdabilidade de média magnitude e acurácia de 80%. Espécies adaptadas às condições de restrição hídrica possuem adaptações na estrutura foliar como baixa densidade estomática e redução dos espaços intercelulares (GOMES, 2013). As estratégias relatadas por esses pesquisadores foram encontradas nos clones tolerantes de eucalipto, visto que a densidade estomática foi relativamente menor quando comparada aos clones suscetíveis as condições de restrição hídrica no presente trabalho (Figura 2).

Do limbo foliar, apenas a variável espessura total da folha apresentou herdabilidade significativa e acurácia de 77%, reduzindo sua área para os clones tolerantes em condução de déficit hídrico. Geralmente, em função da deficiência hídrica ocorre uma redução na espessura do mesófilo e da lâmina foliar, que pode ser decorrente de redução no número de estratos celulares ou de redução dos espaços intercelulares (CHARTZOULAKIS et al., 2002). A organização dos tecidos no mesófilo pode contribuir para a tolerância ao déficit hídrico, pois, com a redução dos espaços intercelulares ocorre maior compactação do mesófilo e aumento da resistência interna ao

movimento de vapor d'água, reduzindo assim, a evapotranspiração (CHARTZOULAKIS et al., 2002; BURNETT et al., 2005; KUTLU et al., 2009). O estresse hídrico foi também reportado como promotor da alteração da espessura dos tecidos do limbo foliar de *Prunus* (LAAJIMI et al., 2011).

A avaliação conjunta de características anatômicas e fisiológicas é uma abordagem necessária nos estudos relacionados as respostas e estratégias, contribuindo para a tolerância ao déficit hídrico. Alterações significativas em processos fisiológicos são esperados concomitantemente a alterações estruturais, haja visto que a variação na estrutura foliar pode influenciar de forma significativa a condutância de CO₂ em cada etapa de sua difusão (FLEXAS et al., 2006; TERASHIMA et al., 2005).

Os parâmetros fisiológicos condutância estomática (gs), transpiração foliar 1 e 2 (E1 e E2) e fotossíntese (A2) apresentaram boa herdabilidade e alta acurácia. O déficit hídrico diminuiu a condutância estomática das plantas (OTIENO et al., 2005; CHEN et al., 2010). Considerando a diminuição da condutância estomática nos clones tolerantes, esta característica tem potencial contribuição para a tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros. Fatores abióticos, como luz e temperatura, podem influenciar a condutância estomática indiretamente, evidenciando a importância desta variável como indicador da resistência ao déficit hídrico (OLIVEIRA et al., 2005).

O déficit hídrico tende a reduzir linearmente a condutância estomática de diferentes espécies de eucalipto. Entretanto, há interação entre espécies e o estresse hídrico (WHITE et al., 1999; LIMA et al., 2003). De acordo com Costa et al. (2007), em condições de restrição hídrica no solo as plantas reduzem a perda de água ao diminuir a condutância estomática. Essa redução leva a um menor influxo de CO₂ para o interior dos cloroplastos, reduzindo a taxa fotossintética. Estes resultados reforçam a ideia de que a condutância estomática e fotossíntese são biomarcadores viáveis para a avaliação do nível de tolerância ao déficit hídrico nas plantas, pois podem mensurar diferentes respostas que dão suporte à maior tolerância de alguns clones ao estresse.

Relacionada à condutância estomática, a transpiração, avaliada aos dias 60 e 90 de execução do experimento, apresentou herdabilidade baixa, porém, alta acurácia. Estas variáveis, por outro lado, estão sujeitas à influência de fatores abióticos, que alteram o gradiente de vapor d'água entre a superfície da folha e o ar que a envolve, a umidade e temperatura do ar, o vento e a disponibilidade hídrica do solo (ANGELOCCI, 2002).

Chaves et al. (2004), avaliando cinco clones de eucalipto, em cinco ciclos sucessivos de seca constataram que, no primeiro ciclo de seca avaliado, as plantas

plenamente irrigadas apresentaram maior transpiração, em comparação com aquelas sob deficiência hídrica. A redução da transpiração é um mecanismo de manutenção do “status” hídrico da planta, e suas modificações na planta inclui: estômatos menores e mais densamente distribuídos, câmara subestomática protegida por pêlos e/ou espessa camada de cutícula (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1996). A transpiração está diretamente relacionada à densidade estomática, e ambas consideradas biomarcadores para a tolerância ao déficit hídrico e seca de ponteiros, contribuindo para a redução da transpiração e do número de estômatos dentre os clones tolerantes, e apresentando acurácia e herdabilidade significativos no presente trabalho.

A fotossíntese apresentou variação significativa apenas aos 90 dias de condução do experimento. A redução da taxa fotossintética é associada ao fechamento dos estômatos e, portanto, redução do CO₂ disponível para fotossíntese no interior da folha (LARCHER, 2006). De modo geral, o déficit hídrico resulta em diminuição da fotossíntese, o que provavelmente se deve ao fechamento parcial dos estômatos (TATAGIBA et al., 2009; OTTO et al., 2013). Em condições intensas de déficit hídrico, as taxas fotossintéticas reduzem devido à inibição de processos metabólicos específicos como, por exemplo, redução da fotofosforilação da atividade da Rubisco e outras enzimas envolvidas no ciclo de Calvin e da capacidade de regeneração da RuBP (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Os parâmetros morfológicos são atributos determinados por medições de fácil mensuração, e a avaliação dessas características é importante para o melhor desempenho de genótipos de eucalipto após o plantio no campo (FONSECA, 2000). Dentre os parâmetros morfológicos avaliados nesse trabalho, a altura, diâmetro, área foliar, incremento em diâmetro e incremento em altura apresentaram herdabilidade significativa e acurácia maior que 70%.

A altura é um dos parâmetros de mais fácil mensuração e utilizada na classificação e seleção de genótipos de eucaliptos. A diminuição do turgor em condições de déficit hídrico compromete o crescimento da planta (LARCHER, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013), justificando a sua relação com a resposta das plantas sob estresse. De modo similar, o incremento de altura, que consistiu na variação de crescimento das mudas no início e final do experimento, é um biomarcador já em uso para fins de inventário e útil para a seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico. Corrêa et al. (2017) relataram que, tanto a altura quanto o incremento em altura, apresentaram herdabilidade e acurácia significativas,

relacionando-as à resistência ao déficit hídrico e a seca de ponteiros em clones tolerantes de eucaliptos.

As variáveis diâmetro do caule e incremento em diâmetro se destacam como biomarcadores morfológicos para tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros, apresentando moderada herdabilidade e alta acurácia. A restrição hídrica afeta o crescimento e incremento em diâmetro, reduzindo a expansão celular. Tatagiba et al. (2009) e Corrêa et al. (2017) verificaram que a menor disponibilidade de água restringiu o crescimento em altura e diâmetro de clones de eucalipto. Adicionalmente, Corrêa et al. (2017) relataram alta herdabilidade e acurácia destas variáveis para clones comerciais de eucalipto conduzidos sob déficit hídrico.

A área foliar, considerada a primeira modificação das plantas no intuito de minimizar os efeitos da restrição hídrica (TAIZ e ZEIGER, 2013), apresentou maior herdabilidade e acurácia de todas as variáveis neste trabalho. Acrescido à facilidade de avaliação, a área foliar é um dos parâmetros morfológicos de maior magnitude na avaliação do crescimento vegetal e sua expansão está relacionada com a interpretação da radiação solar, fotossíntese e acúmulo de biomassa (STRECK, 2004).

A redução na área foliar foi verificada em trabalhos com mudas de espécies de *Eucalyptus* submetidas ao déficit hídrico (LI et al., 2000; CHAVES, 2001; SILVA et al., 2014). A diminuição em área foliar de plantas mantidas sob estresse hídrico é uma resposta precoce adaptativa ao déficit hídrico (TARDIEU et al., 2011), e ocorre em virtude da diminuição do turgor e do conteúdo de água nas células, e, conseqüentemente, redução na expansão celular. A variável área foliar está diretamente relacionada com as variáveis anatômicas e fisiológicas avaliadas como biomarcadores para a tolerância a seca de ponteiros relacionada ao déficit hídrico.

Os níveis dos nutrientes essenciais podem variar entre espécies (BÜNDCHEN et al., 2013), dentro de uma mesma espécie, de acordo com a idade (LEITE et al., 2011), em resposta a interação do genótipo com o ambiente (WOOD et al., 2011), de acordo com a densidade de plantio ou níveis dos nutrientes no solo (SHUJAUDDIN e KUMAR, 2003). Sob condições de déficit hídrico, a capacidade de assimilação de nutrientes da planta fica comprometida. Verifica-se que, nestas condições de menor disponibilidade de água, a deficiência nutricional do eucalipto se acentua (TEIXEIRA et al., 2015; RAMOS et al., 2009).

Trabalhos com plantas de eucaliptos têm constatado diferenças na assimilação de nutrientes em plantas conduzidas sob estresse hídrico (SANTANA et al., 2002; PINTO

et al., 2011). Essas diferenças podem representar fator importante para seleção de genótipos mais tolerantes as diversas condições de estresses ambientais (LIMA et al., 2005). Dessa forma, o entendimento da demanda nutricional, da eficiência de absorção de nutrientes pelas plantas se apresenta como potencial biomarcador para seleção de genótipos mais resistentes ao estresse hídrico (PINTO et al., 2011). Dentre todos os nutrientes avaliados, os macronutrientes N, K, Mg e S e os micronutrientes Cu, Zn, B e Mn se destacaram como biomarcadores para tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros.

O nitrogênio é o macronutriente que as plantas requerem em maiores quantidades e é essencial para o seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, é também um dos principais componentes estruturais e fotossintéticos, como a molécula de clorofila, do ATP, ácidos nucleicos e aminoácidos (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em função disso, a deficiência de N tem grande influência na taxa fotossintética, resultando em mais uma forma de autorregulação do metabolismo vegetal em elevadas concentrações de CO₂ na atmosfera.

Em eucaliptos, o N exerce grande influência na capacidade fotossintética, estando relacionado com a redução da Rubisco e taxa de assimilação de CO₂ e transpiração (NGUYEN et al., 2003). Segundo estes autores, a deficiência de N pode inibir rapidamente o crescimento de diversas espécies de eucalipto, como *E. camaldulensis*. Adicionalmente, Corrêa et al. (2017) evidenciam a importância do N para fotossíntese e sua relação com a área foliar, variáveis que foram utilizadas com sucesso para a discriminação de materiais tolerantes ao déficit hídrico e seca de ponteiros em eucalipto.

A importância do K tem sido igualmente evidenciada nos trabalhos relacionados à tolerância ao déficit hídrico. Sua relevância é atribuída à sua demanda em maiores quantidades pelas plantas para funções metabólicas e de crescimento (HSIAO e LAUCHLI, 1986). A deficiência de potássio causa danos diretos, devido sua função na ativação enzimática e regulação estomática. O K quando em maiores concentrações nas células-guarda eleva o potencial osmótico delas e resulta numa absorção de água das células adjacentes, com conseqüente aumento no turgor, abrindo dessa forma os estômatos (MARSCHNER, 1995).

Vários genótipos de *Eucalyptus* têm apresentado respostas positivas à aplicação de K (TEIXEIRA et al., 2015), em decorrência do déficit hídrico no solo. Ainda segundo Teixeira et al. (2015), a adição de potássio no solo com ou sem estresse hídrico, afetou o crescimento em altura. Isto, reforça a importância deste biomarcador para seleção de

genótipos para tolerância ao déficit hídrico, como evidenciado no presente trabalho. Silva et al. (2004) relataram o efeito benéfico do potássio em plantas jovens de *E. grandis* sob estresse hídrico, e sua aplicação foi importante para a redução da perda de água. Vale ressaltar que Corrêa et al. (2017) também destacaram o K como biomarcador nutricional relacionado a tolerância à seca de ponteiros em eucaliptos.

O magnésio foi outro macronutriente que apresentou valores significativos para herdabilidade e acurácia e indicado como biomarcador para a tolerância ao déficit hídrico e seca de ponteiros em eucalipto. Este nutriente tem reconhecida importância como parte integral da molécula de clorofila, participando assim de vários processos, como fotossíntese, respiração, síntese de carboidratos e proteínas, que requerem e fornecem energia que são fundamentais para as plantas (FAQUIN, 2005).

O enxofre também foi considerado um biomarcador para tolerância ao déficit hídrico e à seca de ponteiros em eucalipto. Nos clones suscetíveis e em condições de estresse hídrico, sua concentração foi menor. Este resultado está de acordo com sua importância como parte integral dos aminoácidos cisteína e metionina, síntese de clorofila e formação de ferredoxina (ALVAREZ et al., 2007).

Apesar da demanda quantitativamente menor, os micronutrientes também contribuíram de forma significativa para a discriminação dos genótipos de eucalipto tolerantes ao déficit hídrico e à seca de ponteiros. O Cu se destacou com herdabilidade moderada e alta acurácia. Sua importância metabólica está relacionada a formação de quelatos estáveis e envolvimento nos processos de transferência de elétrons (KIRKBY et al., 2007). Segundo os mesmos autores, dentre os processos fisiológicos redox em que está envolvido, o Cu reage com oxigênio molecular e catalisa processos de oxidação terminais. Além disto, proteínas que contem Cu atuam na fotossíntese, respiração, desintoxicação de radicais superóxido e lignificação. A deficiência de cobre pode ocasionar má formações em folhas jovens, necrose do meristema apical e murchamento foliar (MARSCHINER, 1995), sendo esses sintomas relacionados aos sintomas da seca de ponteiros.

O zinco apresentou herdabilidade média e acurácia de alta magnitude. Sua função fisiológica envolve o papel catalítico ou estrutural em diversas enzimas, no metabolismo do DNA, síntese proteica e é necessário para manter a integridade das biomembranas (HANSCH e MENDEL, 2009). Segundo esses autores, as enzimas que contém zinco em sua composição estão, em sua maioria, envolvidas na regulação e na transcrição do DNA, bem como na síntese e no transporte de RNA.

A absorção, o transporte e o uso de nutrientes pelas plantas pode ser influenciado pelo Zn. Em mudas de cafeeiro, o micronutriente aumentou sua eficiência de absorção e reduziu as eficiências de translocação e utilização pelas plantas (DOS ANJOS e MARTINEZ, 2002). Devido a esses fatores, o uso de Zn como biomarcador pode ser eficiente, visto que ele influencia a concentração de outros nutrientes na planta.

O Boro também apresentou herdabilidade significativa a alta acurácia. Ele é responsável pelo desenvolvimento de raízes, metabolismo de carboidratos, síntese de ácidos nucleicos e fito-hormônios e formar paredes e divisão celular (MARSCHNER, 1995). Vários trabalhos vêm relatando o B como possível causador e/ou intensificador da seca de ponteiros em eucalipto (SGARBI e SILVEIRA, 1999; MATTIELLO et al., 2009). A deficiência de B reduz a permeabilidade da membrana plasmática e o fluxo de água, afetando a absorção dos nutrientes (MATTIELLO et al., 2009). O papel estrutural do B e aqueles associados às funções de divisão, diferenciação, redução da condutância hidráulica do xilema, e alongamento celular devem estar associados com a alteração do potencial hidráulico da planta. Corrêa et al. (2017) classificaram o B como biomarcador para seleção precoce de eucalipto tolerantes a seca de ponteiros e ao déficit hídrico. Os presentes resultados validam e reforçam os resultados destes trabalhos anteriores e a importância do B como biomarcador para seleção para tolerância a seca de ponteiros e ao déficit hídrico.

O manganês (Mn) apresentou herdabilidade moderada e acurácia de alta magnitude. O Mn está presente nas plantas principalmente na forma Mn^{2+} , e é componente integrante e ativador de enzimas, atuando no metabolismo do N, fito-hormônios, fenóis e ligninas (MELARATO et al., 2002). Vários sintomas normalmente associados à toxidez por Mn são, na verdade, deficiências de outros nutrientes induzidas pelo excesso de Mn (MARSCHNER, 2011).

Existem estudos que correlacionam a seca de ponteiros do Vale do Rio Doce (SPEVRD) e a toxidez causada por Mn. Alguns sintomas da toxidez por Mn são o encarquilhamento de folhas jovens e manchas necróticas marrons que se iniciam nas folhas velhas e progridem para as mais novas, podendo levar até a desfolha completa e morte do ápice da planta (FERREIRA, 1989). Os teores de Mn em clones sensíveis chegam a ser cinco vezes mais do que em clones tolerantes a SPEVRD (LEITE et al., 2014).

A seca de ponteiros e a deficiência hídrica provoca redução no crescimento cuja irreversibilidade vai depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de

desenvolvimento da planta. A tolerância à seca é uma resultante de várias características da planta que se expressam diferente e concomitantemente, dependendo da severidade e da taxa de imposição do déficit hídrico. Portanto, a adoção de uma única estratégia de adaptação à seca é, certamente, inadequada para qualquer tipo de ambiente (SAMBATT e CAYLOR 2007). Efetivamente, tanto macronutrientes quanto micronutrientes apresentam uma série de funções essenciais na planta. A condutância hidráulica da folha impacta as taxas relativas de fluxo em diferentes compartimentos dentro da folha, podendo ainda determinar os sítios de acúmulo de nutrientes transportados via xilema como o cálcio (GILLIHAM et al., 2011). Esta relação pode ser esperada para outros nutrientes, em particular sob condições de déficit hídrico. A constatação de que existe variação significativa, com alta acurácia e herdabilidade, entre os materiais tolerantes ao déficit hídrico é indicativo de que estes materiais mais tolerantes são, de alguma forma, mais eficientes na absorção ou ciclagem destes nutrientes.

Uma série de trabalhos conduzem a conclusão semelhante extrapolada às características anatômicas e status fisiológico, onde as repostas ao déficit hídrico evidenciam o ajuste coordenado, conjunto e significativo de variações da estrutura foliar (SCHULTZ e MATTHEWS, 1993; CHARTZOULAKIS et al., 2002; KULKARNI e DESHPANDE, 2006; KULKARNI et al., 2007; LAJIMI et al., 2011; GOMES, 2013; FIGUEIREDO et al., 2013; DAYER et al., 2017) e de processos fisiológicos (OTIENO et al., 2005; FLEXAS et al., 2006; TERASHIMA et al., 2005; SILVA et al., 2009; TATAGIBA et al., 2009; CHEN et al., 2010; DOHENY-ADAMS et al., 2012; HAMANISHI et al., 2012; OTTO et al., 2013).

Desta forma e com base nestes parâmetros, a quantidade de nutrientes, características estruturais e fisiológicas das plantas conduzidas sob condições de estresse hídrico podem contribuir de forma eficiente para identificar os genótipos mais tolerantes à condição de estresse hídrico.

As técnicas de seleção desempenham papel fundamental no melhoramento de plantas perenes, na busca de genótipos superiores nas características desejáveis. Devido a isso, a utilização do índice de seleção pode ser alternativa eficaz, permitindo avaliar e ordenar os candidatos à seleção quanto ao caráter de objetivo no melhoramento (RESENDE e BARBOSA, 2005). A metodologia de seleção utilizada no presente trabalho foi a de índice de seleção de Mulamba e Mock. Essa ferramenta é utilizada para o índice de seleção de múltiplos caracteres, possibilitando a obtenção de genótipos superiores a seca de ponteiros e ao déficit hídrico em eucalipto. Contudo, o índice de

seleção deve permitir discriminar corretamente os genótipos e considerar diversos caracteres simultâneos (CRUZ et al., 2004). Doze clones foram ordenados por meio da avaliação de 24 características e ranking dos genótipos. A classificação dos clones tolerantes a seca de ponteiro e ao déficit hídrico foi coerente com a expectativa e informações de campo.

O presente trabalho reforça a importância e validade dos biomarcadores selecionados anteriormente (CORRÊA et al., 2017) para a identificação de genótipos mais tolerantes à seca de ponteiros e ao déficit hídrico em eucaliptos. A viabilidade da seleção precoce aplicada ao melhoramento de eucaliptos, o que pode contribuir para a redução do tempo de seleção e avaliação das progênies, também é evidenciada. Adicionalmente, novos biomarcadores anatômicos e fisiológicos auxiliaram na discriminação dos genótipos mais tolerantes, como indicam outras estratégias de tolerância e melhor compreensão da cinética do distúrbio fisiológico seca de ponteiros e os efeitos do déficit hídrico em eucalipto.

6. CONCLUSÕES

Variáveis anatômicas (densidade estomática; área de secção transversal do pecíolo; área de tecido vascular; xilema; floema; área do córtex e espessura total da folha); fisiológicas (condutância estomática, transpiração foliar 60 e 90 dias e fotossíntese 90 dias); morfológicas (altura, diâmetro, área foliar, incremento em diâmetro e incremento em altura); e teor dos macronutrientes N, K, Mg e S e dos micronutrientes Cu, Zi, B e Mn apresentaram níveis de herdabilidade e alta acurácia significativos, e identificadas como biomarcadores fenotípicos para a seca de ponteiro e ao déficit hídrico em eucalipto.

O índice de seleção de Mulamba e Mock possibilitou a seleção dos clones tolerantes: Suz 7, Suz 6, Suz 10, Suz 3, e Suz 9, a partir dos 24 biomarcadores, os quais podem ser utilizados para seleção precoce de clones de eucalipto tolerantes em condições de estresse hídrico. O sucesso na discriminação dos clones tolerantes, e a facilidade e praticidade dos biomarcadores, abre a perspectiva de utilização destas mesmas características na avaliação de plantas adultas em etapas avançadas do programa de melhoramento, visando a seleção de genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico e à seca de ponteiros.

7. REFERENCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Ed. da UFV, 2004. 442p

ALVAREZ V., V.H.; ROSCOE, R.; KURIHARA, C.H.; PEREIRA, N.F. Enxofre. IN: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L., eds. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p.595-644, 2007.

ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species: growth rings and vessels. **IAWA Journal**, v. 21, p. 3-30, 2000.
ANGELOCCI, L. R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera. **Introdução ao tratamento biofísico**. Piracicaba, Edição do Autor, 2002. 272p.

ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: Borém, A. (Ed) **Biotecnologia florestal**. Viçosa, MG: Suprema, 2007. p.93-121.

BÁRBARO, I. M. **Análises genéticas em populações de soja com precocidade e resistência ao cancro da haste**. 89f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

BARRETO, V. C. M.; VALERI, S. V.; SILVEIRA, R. L. V. A.; TAKAHASHI, E. N. Eficiência de uso de boro no crescimento de clones de eucalipto em vasos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 76, p. 21-33, dez. 2007.

BELTRAME, R. Desempenho silvicultural e seleção precoce de clones de híbridos de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.6, p.791-796, 2012.

BISON, O. **Melhoramento de eucalipto visando à obtenção de clones para a indústria de celulose**. 169 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

BÜNDCHEN, M.; BOEGER, M. R. T.; REISSMANN, C. B.; SILVA, S. L. C. Status nutricional e eficiência no uso de nutrientes em espécies arbóreas da floresta subtropical no sul do Brasil. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 98, p. 227-236, 2013.

BURNETT, S. E.; PENNISI, S. V.; THOMAS, P. A.; VAN IERSEL, M. W. Controlled Drought Affects Morphology and Anatomy of *Salvia splendens*. **American Society for Horticultural Science**, v. 130, p. 775-781, 2005.

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

CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A.; NASTOU, A. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.95, p.39–50, 2002.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, p.551-560, 2009.

CHAVES, J. H.; REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; NEVES, J. C. L.; PEZZOPANE, J. E. M.; POLLI, H. Q. Seleção precoce de clones de eucalipto para ambientes com disponibilidade diferenciada de água no solo: relações hídricas de plantas em tubetes. **Revista Árvore**, v. 28, n. 3, p. 333-341, 2004.

CHAVES, J. H. **Crescimento, fotossíntese e relações hídricas de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos**. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

CHEN, J.; ZHANG, Q.; LI, X.; CAO, K. Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. **Tree physiology**, v. 30, n. 7, p. 876-885, 2010.

CIESLA, W. M.; DONAUBAUER, E. Decline and dieback of trees and forests. A global overview. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. **FAO Forestry Paper**, v.120, p.90, 1994.

CORRÊA, T. R.; PICOLI, E. A. D. T.; SOUZA, G. A. D.; CONDÉ, S. A.; SILVA, N. M.; LOPES M., K. L. B.; RESENDE, M. D. V. D.; ZAUZA, E. A. V.; ODA, S. Phenotypic markers in early selection for tolerance to dieback in *Eucalyptus*. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 130-138, 2017.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta amazônica**, v.37, n.2, p.229-234, 2007.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Editora UFV. Viçosa- MG. 480 p. 2004.

DAYER, S.; PEÑA, J. P.; GINDRO, K.; TORREGROSA, L.; VOINESCO, F.; MARTÍNEZ, L.; PRIETO, J. A.; ZUFFEREY, V. Changes in leaf stomatal conductance, petiole hydraulics and vessel morphology in grapevine (*Vitis vinifera* cv. *Chasselas*) under different light and irrigation regimes. **Functional Plant Biology**, v. 44, n. 7, p. 679-693, 2017.

DOHENY-ADAMS, T.; HUNT, L.; FRANKS, P. J.; BEERLING, D. J.; GRAY, J. E. Genetic manipulation of stomatal density influences stomatal size, plant growth and tolerance to restricted water supply across a growth carbon dioxide gradient. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Science**, Londres, v. 367, n. 1, p. 547-555, 2012.

DOS ANJOS, R. J. R.; MARTINEZ, H. E. P. Adição de Zn e absorção, translocação e utilização de Zn e P por cultivares de cafeeiro. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 537-542, 2002.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. New York: Longman, 464p. 1996.

FAQUIN, V. Nutrição Mineral de Plantas - Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. p.: il. - Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente. 2005.

FERREIRA, F. A. **Patologia Florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa, MG:SIF, 570p. 1989.

FIGUEIREDO, P. A. M.; RAMOS, S. B.; VIANA, R. S.; LISBOA, L. A. M.; HEINRICH, R. Alterações morfoanatômicas foliares de cana-de-açúcar na fase de estabelecimento em condições de matocompetência. **Revista Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, n. 4, p. 777-784, 2013.

FLEXAS J.; RIBAS-CARBÓ M.; HANSON D. T.; BOTA J.; OTTO B.; CIFRE J.; MCDOWELL N.; MEDRANO, H.; KALDENHOFF, R. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ in vivo. **The Plant Journal**, 48, p. 427–439, 2006.

FONSECA, S. M.; RESENDE, M. D. V.; ALFENAS, A. C.; GUIMARÃES, L. M. S.; ASSIS, T. F.; GRATTAPAGLIA, D. **Manual prático de melhoramento genético do eucalipto**.UFV. Viçosa, MG: 200 p. 2010.

FONSECA, É. D. P., VALÉRI, S. V., MIGLIORANZA, É., FONSECA, N. A. N., & COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista árvore**, v. 26, n.4, p. 515-523, 2002.

GILLIHAM, M.; DAYOD, M.; HOCKING, B. J.; XU, B.; CONN, S. J.; KAISER, B. N.; LEIGH, R. A.; TYERMAN, S. D. Calcium delivery and storage in plant leaves: exploring the link with water flow. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 7, p. 2233-2250, 2011.

GRATTAPAGLIA, D.; KIRST, M. Eucalyptus applied genomics: from gene sequences to breeding tools. **New Phytologist**, v. 179, p. 911-29, 2008.

GOMES, L. M. L. **Características morfofisiológicas associadas à restrição hídrica em clones de eucalipto**. 37 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

HAMANISHI, E. T.; THOMAS, B. R.; CAMPBELL, M. M. Drought induces alterations in the stomatal development program in *Populus*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 13, p. 4959 - 4971, 2012.

HANSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, n.3, p.259-266, 2009.

HSIAO, T.; LAUCHLI, A. Role of potassium in plant-water relations. **Advances in Plant Nutrition**, Connecticut, v. 2, p. 281–312, 1986.

HUCK, M. G.; KLEPPER, B.; TAYLOR, H. M. Diurnal variations in root diameter. **Plant Physiology**, v. 45, n. 4, p. 529, 1970.

IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores. **Anuário Estatístico da Indústria Brasileira de Árvores: ano base 2017**. Brasília, DF: IBA, 80p., 2017.

JINAGOOL, W.; RATTANAWONG, R.; SANGSING, K.; BARIGAH, T. S.; GAY, F.; COCHARD, H.; KASEMSAP, P.; HERBETTE, S. Clonal variability for vulnerability to cavitation and other drought related traits in *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. **Journal of Plant Hydraulics**. 2: e001, p. 12, 2015.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill, New York 1940.

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.

KIRKBY, E. A.; ROMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Informações Agronômicas**, v. 118, n. 2, p. 1-24, 2007.

KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças dos eucaliptos. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2. p. 319-332, 2005.

KULKARNI, M.; BORSE, T.; CHAPHALKAR, S. Anatomical variability in Grape (*Vitis vinifera*) genotypes in relation to water use efficiency (WUE). **American Journal of Plant Physiology**, v. 2, n. 1, p. 36-43, 2007.

KULKARNI, M.; DESHPANDE, U. Comparative studies in stem anatomy and morphology in relation to drought resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*). **American Journal of Plant Physiology**, v. 1, n. 1, p. 82-88, 2006.

KULKARNI, M.; BORSE, T.; CHAPHALKAR, S. Mining anatomical traits: A novel modelling approach for increased water use efficiency under drought conditions in plants. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.44, p.11-21, 2008.

KUTLU, N.; TERZI, R.; TEKELI, C.; SENEL, G.; BATTAL, P.; KADIOGLU A. Changes in anatomical structure and levels of endogenous phytohormones during leaf rolling in *Ctenanthe setosa*. **Journal of Biology**, v.33, p. 115-122, 2009.

LAAJIMI, N. O.; BOUSSADIA, O.; SKHIRI, F. H.; SILVA, J. A. T.; REZGUI, S.; HELLALI, R. Anatomical adaptations in vegetative structures of apricot tree (*Prunus armenica* L.) cv. 'Amor El Euch' grown under water stress. **Fruit Vegetable and Cereal Science and Biotechnology**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 46-51, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora RIMA, 531 p., 2006.

LEITE, F. P.; NOVAIS, R. F.; SILVA, I. R.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L. N.; MEDEIROS, A. G. B.; VENTRELLA, M. C.; VILLANI, E. M. A. Acúmulo de manganês

em plantios de eucalipto e sua relação com a "seca de ponteiros do eucalipto do vale do rio doce. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 38, n.1, p.401-413, 2014.

LEITE, F. P.; SILVA, I. R.; NOVAIS, R. F.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L.; VILLANI, E. M. A. Nutrient relations during an eucalyptus cycle at different population densities. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 3, p. 949-959, 2011.

LI, C.; BERNINGER, F.; SONNINEN E. Drought responses of *Eucalyptus microtheca* provenances depend on seasonality of rainfall in their place of origin. **Functional Plant Biology**, v. 27, n. 3, p. 231-238, 2000.

LIMA, A. M. N.; NEVES, J. C. L.; SILVA, I. R.; LEITE, F. P. Cinética de absorção e eficiência nutricional de K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ em plantas jovens de quatro clones de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 6, p. 903-909, 2005.

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

LIMA, W. P. The hydrology of eucalypt forests in Australia. **IPEF (Piracicaba)**, v. 28, n. 28, p. 11-32, 1984.

LUKOVIĆ, J.; MAKSIMOVIC, I.; ZORIC, L.; NAGL, N.; PERCIC, M.; POLIC, D.; PUTNIK-DELIC, M. Histological characteristics of sugar beet leaves potentially linked to drought tolerance. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 2, p. 281-286, 2009.

MARSCHNER, P. **Marschner` s mineral nutrition of higher plants**. 3rd edn. (Academic Press: London). 2011.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd edn (Academic Press: London). 1995.

MARTINS, F. B. **Desenvolvimento e estresse hídrico em mudas de *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) e *Eucalyptus saligna* (Smith)**. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola/Engenharia de Água e Solo) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MASCHIO, L. M. A., FERREIRA, C. A., AUER, C. G., GRIGELETTI JÚNIOR, A., WIECHETECK, M. B., NARDELLI, A. B., BERNARDI, C. A. Descrição de uma anomalia ocorrida em *Eucalyptus grandis* na região de Arapoti-PR, Brasil. **Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1996.

MASSARO, R. A. M.; BONINE, C. A. V.; SCARPINATI, E. A.; PAULA, R. C. Viabilidade de aplicação da seleção precoce em testes clonais de *Eucalyptus* spp. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 4, p. 597-609, 2010.

MATTIELLO, E. M.; RUIZ, H. A.; SILVA, I. R.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L.; BEHLING, M. Transporte de boro no solo e sua absorção por eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 5, p. 1281-1290, 2009.

MCDOWELL, N. G.; SEVANTO, S. The mechanisms of carbon starvation: how, when, or does it even occur at all? **New Phytologist**, v. 186, n. 2, p. 264-266, 2010.

MELARATO, M.; PANOBIANCO, M.; VITTI, G. C.; VIEIRA, R. D. Manganês e potencial fisiológico de sementes de soja. **Ciência Rural**, p. 1069-1071, 2002.

MIRANDA, A. C.; MORAES, M. L. T.; TAMBARUSSI, E. V.; FURTADO, E. L.; MORI, E. S.; SILVA, P. H. M.; SEBBENN, A. M. Heritability for resistance to *Puccinia psidii* Winter rust in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden in Southwestern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v. 9, n. 2, p. 321-329, 2013.

MKUMBIRA, J.; CHIWONA-KARLTUN, L.; LAGERCRANTZ, U.; MAHUNGU, N. M.; SAKA, J.; MHONE, A.; BOKANGA, M.; BRIMER, L.; GULLBERG, U.; ROSLING, H. Classification of cassava into 'bitter' and 'cool' in Malawi: From farmers' perception to characterisation by molecular markers. **Euphytica**, v. 132, n. 1, p. 7-22, 2003.

MORA, A. L.; GARCIA, C. H. **A Cultura do Eucalipto no Brasil** - Eucalypt Cultivation in Brazil. Sociedade Brasileira de Silvicultura. São Paulo, 112 p., 2000.

MORAES, C. B. ; CARVALHO, E. V; ZIMBACK, L.; LUZ, O. D. S. L; PIERONI, G. B; MORI, E. S.; LEAL, T. C. A. B. Variabilidade genética em progênies de meios-irmãos de eucaliptos para tolerância ao frio. **Revista Árvore**, v. 39, n.6, p. 1047-1054, 2015.

MORAES, C. B.; FREITAS, T. C. M.; PIERONI, G. B.; ZIMBACK, L.; RESENDE, M. D. V.; MORI, E. S. Estimativas de parâmetros genéticos para seleção precoce de clones de *Eucalyptus* para região com ocorrência de geadas. **Scientia Forestalis**, v. 42, n. 102, p. 219-227, 2014.

MORAES, C. B.; FREITAS, T. C. M.; PIERONI, G. B.; ZIMBACK, L.; MORI, E. S. Genetic variability in eucalypt for frost tolerance. In: Iufro Working Group 2.08.03 Improvement and of culture eucalyptus, Porto Seguro: **IUFRO**, 2011.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, v. 7, n. 1, p. 40-51, 1978.

NGUYEN, T. N.; NAKABAYASHI, K.; MOHAPATRA, P. K.; THOMPSON, J.; FUJITA, K. Effect of nitrogen deficiency on biomass production, photosynthesis, carbon partitioning, and nitrogen nutrition status of Melaleuca and Eucalyptus species. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 49, n. 1, p. 99-109, 2003.

NICK, C.; CARVALHO, M.; ASSIS, L. H. B.; CARVALHO, S. P. Genetic dissimilarity in cassava clones determined by multivariate techniques. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 104-110, 2008.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, MB de; SILVA, EC da. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. **Nogueira, RJMC; Araújo, EL; Willadino, LG; Cavalcante, UMT Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária**, p. 22-31, 2005.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue**. *Protoplasma*, v.59(2), p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, G. Q. **Desenvolvimento inicial de plantas de eucalipto irrigado em Aquidauana-MS**. 31f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, 2012.

OLIVEIRA, A. C. B.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. **Documentos IAC, Campinas: Instituto Agrônômico**, n. 81, 2007.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E.J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. **Engenharia Agrícola**, p. 86-95, 2005.

OTIENO, D. O.; SCHMIDT, M. W. T.; ADIKU, S.; TENHUNEN, J. Physiological and morphological responses to water stress in two *Acacia* species from contrasting habitats. **Tree physiology**, v. 25, n. 3, p. 361-371, 2005.

OTTO, M. S. G.; VERGANI, A. R.; GONÇALVES, A. N.; VRECHI, A.; SILVA, S. R.; STAPE, J. L. Fotossíntese, condutância estomática e produtividade de clones de *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Árvore**, v. 37, n. 3, p. 431-440, 2013.

PEREIRA, A. B.; MARQUES JUNIOR, O. G.; RAMALHO, M. A. P.; ALTHOFFL, P. Eficiência da seleção precoce em famílias de meios-irmãos de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., avaliadas na região noroeste do Estado de Minas Gerais. **Cernea**, v. 3, n. 1, p. 67-81, 1997.

PINTO, S. I. C.; NETO, F. A. E.; NEVES, J. C. L.; FAQUIN, V.; MORETTI, B. S. Eficiência nutricional de clones de eucalipto na fase de mudas cultivados em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 523-534, 2011.

PINTO JÚNIOR, J. E.; GARLIPP, R. C. D. Eucalipto. In: ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, A. G. **Agricultura tropical: Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, p.801- 822, 2008.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária**. 5 eds., rev. Editora UFLA, 566 p. 2012.

RAMOS, S. J.; FAQUIN, V.; FERREIRA, R. M. A.; ARAUJO, J. L.; CARVALHO, J. G. Crescimento e teores de boro em plantas de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) cultivadas em dois latossolos sob influência de doses de boro e disponibilidade de água. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, 2009.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 330-339, 2016.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p. 182-194, 2007.

RESENDE, M. D. V.; BARBOSA, M. H. P. **Melhoramento genético de plantas de propagação assexuada**. Embrapa Informação Tecnológica, Colombo, 130 p., 2005.

RESENDE, M. D. V. Melhoramento de espécies perenes. In: Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S.; Valadares-Inglis, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 357-421., 2001.

ROSS, C.; BRACK, C. *Eucalyptus viminalis* dieback in the Monaro region, NSW. **Australian Forestry**, v. 78, n. 4, p. 243-253, 2015.

SALA, A.; PIPER, F.; HOCH, G. Physiological mechanisms of drought-induced tree mortality are far from being resolved. **New Phytologist**, v. 186, n. 2, p. 274-281, 2010.

SAMBATTI, J. B. M.; CAYLOR, K. K. When is breeding for drought tolerance optimal if drought is random? **New Phytologist**, v. 175, n. 1, p. 70-80, 2007.

SANTANA, R. C.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L. Eficiência de utilização de nutrientes e sustentabilidade da produção em procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em sítios florestais do estado de São Paulo. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 447-457, 2002.

SGARBI, F.; SILVEIRA, R. L. V. A. Resposta do Eucalyptus à aplicação de boro e potássio na região de Três Marias. MG. **Simpósio sobre o uso do boro em florestas de eucalipto**, v. 2, p. 89-105, 1999.

SHUJAUDDIN, N; KUMAR, B. M. *Ailanthus triphysa* at different densities and fertiliser regimes in Kerala, India: growth, yield, nutrient use efficiency and nutrient export through harvest. **Forest Ecology and Management**, v. 180, n. 1-3, p. 135-151, 2003.

SILVA, C. D.; NASCIMENTO, J. S.; SCARPINATI, E. A.; PAULA, R. C. Classification of Eucalyptus urograndis hybrids under different water availability based on biometric traits. **Forest Systems**, v. 23, n. 2, p. 209-215, 2014.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; VALE, F. H. A., ARAÚJO, F. P.; PIMENTA, M. A. Stomatal changes induced by intermittent drought in four umbu tree genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 1, p. 33-42, 2009.

SILVA, P. H. M.; BARRICHELO, L. E. G. Progressos recentes na área florestal. **Ciência, Agricultura e Sociedade. Brasília: Embrapa**, p. 439-456, 2006.

SILVA, M. R.; KLAR, A. E.; PASSOS, J. R. Efeitos do manejo hídrico e da aplicação de potássio nas características morfofisiológicas de mudas de *Eucalyptus grandis* W. (Hill ex. Maiden). **Irriga**, v. 9, n. 1, p. 31-40, 2004.

SPERRY, JOHN S. Hydraulic constraints on plant gas exchange. **Agricultural and forest meteorology**, v. 104, n. 1, p. 13-23, 2000.

STRECK, N. A. Do we know how plants sense a drying soil? **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 581-584, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artemed, 954p., 2013.

TARDIEU, F.; GRANIER, C.; MULLER, B. Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 283-289, 2011.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Fotossíntese em *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Engenharia na Agricultura**, v. 23, n. 4, p. 336-345, 2015.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F.; PENCHEL, R. M. Desempenho de clones de eucalipto em resposta a disponibilidade de água no substrato. **Revista Engenharia na Agricultura**, v. 17, n. 3, p. 179-189, 2009.

TEIXEIRA, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; JUNIOR, J. C. Crescimento e partição de matéria seca de mudas de eucalipto em função da adubação potássica e água do solo. **Ceres**, v. 53, n. 310, p. 662-671, 2015.

TERASHIMA, I.; HANBA, Y.T.; TAZOE, Y.; VYAS, P.; YANO, S. Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 343-354, 2005.

VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Contribuição do melhoramento genético de plantas no Brasil. **Agricultura Brasileira e Pesquisa Agropecuária. Embrapa, Brasília**, p. 57-89, 2000.

WHITE, D. A.; BEADLE, C. L.; SANDS, P. J.; WORLEDGE, D.; HONEYSETT, J. L. Quantifying the effect of cumulative water stress on stomatal conductance of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*: a phenomenological approach. **Functional Plant Biology**, v. 26, n. 1, p. 17-27, 1999.

WOOD, T. E.; LAWRENCE, D.; WELLS, J. A. Inter-specific variation in foliar nutrients and resorption of nine canopy-tree species in a secondary neotropical rain forest. **Biotropica**, v. 43, n. 5, p. 544-551, 2011.