

NAIARA FERNANDA DE SOUZA

**CINÉTICA DE ABSORÇÃO E EFICIÊNCIA DE USO DE Ca POR TRÊS
GENÓTIPOS DE EUCALIPTO SOB DIFERENTES POTENCIAIS
HÍDRICOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

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

T

S729c
2019
Souza, Naiara Fernanda de, 1995-
Cinética de absorção e eficiência de uso de Ca por três
genótipos de eucalipto sob diferentes potenciais hídricos / Naiara
Fernanda de Souza. – Viçosa, MG, 2019.
vi, 19 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Samuel Vasconcelos Valadares.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 16-19.

1. Plantas - Nutrição. 2. Plantas - Efeitos da seca. 3.
Eucalyptus. 4. Cálcio - Absorção e adsorção. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Solos. Programa de
Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 634.973766

NAIARA FERNANDA DE SOUZA

**CINÉTICA DE ABSORÇÃO E EFICIÊNCIA DE USO DE Ca POR TRÊS
GENÓTIPOS DE EUCALIPTO SOB DIFERENTES POTENCIAIS
HÍDRICOS**

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

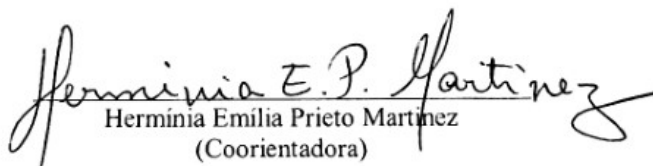
APROVADA: 27 de fevereiro de 2019



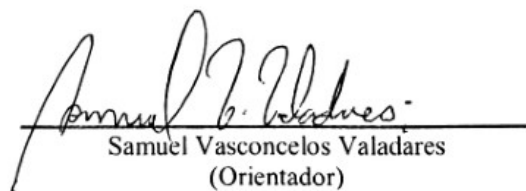
Cléberson Ribeiro



Edson Marcio Mattiello



Herminia Emilia Prieto Martinez
(Coorientadora)



Samuel Vasconcelos Valadares
(Orientador)

“À minha família, por acreditar e apoiar meus sonhos”

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, por guiar meus passos e pelas oportunidades concedidas.

Aos meus Pais, Osmar Oliveira de Souza e Nair Maria de Souza, minha inspiração, pelo amor, educação o apoio e a dedicação.

Ao meu irmão Felipe Henrique de Souza, pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Samuel Vasconcelos Valadares, pela paciência, confiança, amizade e a excelente orientação.

À Prof. Hermínia P. Martinez, Prof. Nairan F. Barros e Prof. Alice P. Barbosa, por participar da equipe e a disposição em ajudar.

Aos Prof. Cléberon Ribeiro e Edson M. Mattiello pelas contribuições a esse trabalho.

Ao Prof. Júlio Cesar Lima Neves pelo exemplo, pelas aulas e pelos conselhos.

Aos meus familiares, primos, tios e avós, pelas orações, o apoio e o carinho, durante toda essa jornada.

Às amigas e amigos Bia, Sérgio, Matheus, Arthur, Rafael, Athos, Aline, Isabela, Fábio pelas conversas, a paciência, apoio, pelos bons momentos.

Aos estagiários Alan, Murilo, Filipe, Lucas, Gabriel, Thiago, Helen, Paloma, pelo auxílio durante a realização da pesquisa.

Aos demais professores que contribuíram com a minha formação e amadurecimento profissional.

A todos colegas pelos momentos agradáveis e apoio.

Aos técnicos de laboratório pelo suporte durante a realização Das análises.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Solos pela oportunidade de realizar o curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos, obrigada!

RESUMO

SOUZA, Naiara Fernanda de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Cinética de absorção e eficiência de uso de Ca por três genótipos de eucalipto sob diferentes potenciais hídricos.** Orientador: Samuel Vasconcelos Valadares. Coorientadores: Nairam Félix Barros, Hermínia Emília Prieto Martinez e Alice Pita Barbosa.

A produtividade das florestas de eucalipto tem sido fortemente comprometida pela seca em muitas regiões do Brasil. O cultivo de genótipos mais adaptados às condições de estresse hídrico é uma das alternativas para mitigar esse problema. É também necessário integrar a escolha de materiais tolerantes às demais práticas de manejo florestal. A nutrição mineral tem importante papel na mitigação de estresses bióticos e abióticos. Nesse trabalho, objetivou-se avaliar os efeitos da deficiência hídrica sobre a capacidade de absorção e utilização de cálcio de diferentes genótipos de eucalipto. Foram selecionados três clones de eucalipto (dois tolerantes e um sensível à seca) para realização do estudo e avaliação da cinética de absorção de Ca, em solução nutritiva, com redução do potencial hídrico da solução por meio da adição de polietilenoglicol (PEG 6000). Os tratamentos foram compostos por três clones e dois potenciais hídricos da solução de cultivo (-0,15, e -1,00 MPa). Foram realizados os procedimentos para determinação dos parâmetros cinéticos de absorção de Ca. Adicionalmente, avaliou-se a biomassa das plantas, o acúmulo de cálcio nas plantas e a partição deste nutriente para a parte aérea e para as raízes das plantas. Também foram calculados índices de eficiência de translocação e de eficiência de utilização de Ca nas plantas. Concluiu-se que os genótipos de eucalipto tolerantes à seca podem absorver mais cálcio que aqueles mais sensíveis durante períodos de menor limitação hídrica. Isso permite que esses genótipos iniciem o período seco mais bem nutridos em Ca. Genótipos de eucalipto tolerantes à seca podem absorver mais cálcio que aqueles mais sensíveis em condições de menor disponibilidade hídrica, notadamente quando a disponibilidade de Ca é mais elevada. A eficiência de uso do Ca absorvido reduz na condição de menor disponibilidade hídrica, evidenciando o aumento da demanda por esse nutriente em condições de estresse.

ABSTRACT

SOUZA, Naiara Fernanda de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2019. **Calcium uptake kinetics and use efficiency by three eucalyptus genotypes under different water potentials.** Advisor: Samuel Vasconcelos Valadares. Co-advisers: Nairam Félix Barros, Hermínia Emília Prieto Martinez and Alice Pita Barbosa.

Eucalyptus yield has been highly affected by drought in many regions of Brazil. New eucalyptus genotypes adapted to grow under water stress are needed to mitigate this problem. It is also necessary to understand how different genotypes are affected by the environment and the effects of such interactions in their resistance to drought. Mineral nutrition has an important role in the mitigation of biotic and abiotic stresses. This work was carried out aiming to improve the understanding of water deficiency effects on Ca uptake and Ca use efficiency of different eucalyptus genotypes (Two drought tolerant eucalyptus clones and a clone which is sensitive to drought). The selected materials were grown for 50 days in nutrient solutions. After this period the plants were subjected to treatments with different water potentials. In order to create different water potentials, polyethylene glycol (PEG 6000) was added to the nutrient solution. After adapting the plants to the treatments, the kinetics of Ca uptake by the plant roots was evaluated by measuring the depletion of this nutrient on the nutrient solution. Plant biomass and plant calcium content were measured after the nutrient uptake kinetics essay. Indexes of Ca translocation and Ca use efficiency were also calculated. The drought-tolerant eucalyptus genotypes had a better Ca uptake compared to the more sensitive clone in the low drought treatment. This is an evidence that these genotypes may start the dry period better nourished in Ca and better use this nutrient during the raining season. Drought-tolerant eucalyptus genotypes were also able to absorb more calcium than the more sensitive genotype in lower water availability conditions notably when the availability of Ca was higher. This results that the drought-tolerant clones are also adapted to keep absorbing more Ca during more severe water stresses, during the drought seasons.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 2 |
| 2.1. Seleção de genótipos e condicionamento de plantas..... | 2 |
| 2.2. Definição dos tratamentos e delineamento experimental..... | 3 |
| 2.3. Condução do experimento de cinética de absorção de cálcio..... | 3 |
| 2.4. Determinação dos parâmetros cinéticos de absorção de cálcio | 4 |
| 2.5. Determinação da eficiência de translocação e de uso de cálcio, potencial hídrico foliar e crescimento das plantas | 5 |
| 2.6. Análises estatísticas..... | 5 |
| 3. RESULTADOS..... | 6 |
| 3.1. Parâmetros cinéticos da absorção de cálcio..... | 6 |
| 3.2. Conteúdo de cálcio nas plantas | 8 |
| 3.3. Eficiência de translocação e de uso de cálcio pelas plantas | 9 |
| 3.4. Potencial hídrico foliar e crescimento das plantas | 9 |
| 4. DISCUSSÃO | 11 |
| 4.1. Crescimento das plantas | 11 |
| 4.2. Cinética de absorção de Ca..... | 12 |
| 4.3. Conteúdo de Ca e eficiência de uso de Ca | 14 |
| 5. CONCLUSÕES | 15 |
| 6. REFERÊNCIAS..... | 16 |

1. INTRODUÇÃO

Os plantios de eucalipto ocupam cerca de 5,7 milhões de hectares no Brasil, o que representa 72,7 % da área coberta com florestas plantadas no país (IBÁ, 2019). Muitas dessas florestas estão localizadas em solos de baixa fertilidade e em regiões com acentuadas restrições hídricas. Os efeitos negativos da restrição hídrica têm se tornado preocupação central do setor de florestas plantadas nos últimos anos, em função das mudanças climáticas em curso no planeta (IPCC, 2014), as quais favorecem eventos extremos de seca em várias regiões do país (CCST; MOHC, 2011; IPCC, 2007).

O cultivo de genótipos mais adaptados à restrição hídrica é uma das estratégias para mitigação dos efeitos da seca em plantações de eucalipto. Por isso, um grande esforço tem sido feito para elucidar os mecanismos que conferem a alguns materiais genéticos maior adaptabilidade e estabilidade da produção em ambientes sujeitos à restrição hídrica (BASU et al., 2016; DU et al., 2010; WANG et al., 2017; ZANDALINAS et al., 2018). A compreensão desses mecanismos é necessária para acelerar a seleção de genótipos de eucalipto mais adaptados à seca, bem como para melhorar a performance desses materiais por meio de alterações em seu manejo.

Em condições de seca, como consequência a redução do potencial hídrico no solo a aquisição de nutrientes pelas plantas é comprometida (HE; DIJKSTRA, 2014; SCHLESINGER et al., 2016). Por sua vez, carências e excessos de nutrientes podem alterar a sensibilidade das plantas ao déficit hídrico (GESSLER; SCHAUB; MCDOWELL, 2017).

O adequado suprimento de Ca pode reduzir os efeitos do estresse hídrico em plantas de eucalipto (BARROS FILHO, 2014). O Ca desempenha papel estrutural crucial na parede celular e mantém a integridade da membrana plasmática (BOSE et al., 2011), além de atuar como mensageiro secundário em diversas respostas fisiológicas das plantas ao ambiente, sendo tal sinalização necessária para aquisição de tolerância à seca (COUSSON, 2009; DIXIT; JAYABASKARAN, 2013; DODD; KUDLA; SANDERS, 2010; HEPLER; WAYNE, 1985; MCAINSH; PITTMAN, 2009).

O aumento das concentrações de Ca nos tecidos auxilia no estímulo das vias de transporte de íons em plantas sob estresse osmótico (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997). Alguns autores observaram que ocorre efluxo de Ca no mesófilo como resposta inicial à seca e que isto auxilia na sinalização para

ativação de diversas respostas ao estresse hídrico. Embora este processo possa prejudicar a integridade da membrana plasmática, isso pode auxiliar na adaptação da planta à seca desencadeando a transdução de sinais (BOSE et al., 2011; FENG et al., 2016; MAK et al., 2014). A presença do Ca ao longo do perfil do solo também está associada ao melhor crescimento radicular e, conseqüentemente, maior absorção de água e dos demais nutrientes pelas plantas (CARVALHO; VAN RAIJ, 1997; SHAINBERG et al., 1989; SUMNER et al., 1986).

Embora haja evidência de diferenças genótípicas associadas à absorção de Ca em plantas superiores, bem como dos efeitos desse nutriente nas respostas de espécies florestais à restrição hídrica (BARROS FILHO, 2014; HODECKER, 2015), os efeitos da deficiência hídrica sobre a absorção de Ca em plantas de eucalipto ainda devem ser mais bem compreendidos.

Diante do exposto têm-se como hipóteses que i) a cinética de absorção de Ca é alterada pelo potencial hídrico da solução; ii) a absorção de Ca de genótipos tolerantes é menos influenciada pelo potencial hídrico da solução comparado a genótipos sensíveis; iii) que a eficiência de utilização de Ca deve reduzir sensivelmente em resposta à seca, tanto em genótipos tolerantes quando em genótipos sensíveis à falta de água.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar os efeitos da deficiência hídrica sobre a capacidade de absorção e utilização de cálcio por genótipos de eucalipto tolerantes e sensível à seca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Seleção de genótipos e condicionamento de plantas

Foram selecionados três genótipos de *Eucalyptus* spp. com diferentes níveis de tolerância à deficiência hídrica: VM01 híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis* (alta tolerância), I144 híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis* (moderada tolerância) e GG100 híbrido espontâneo de *E. urophylla* (baixa tolerância). A seleção dos genótipos foi realizada após avaliação em campo, em várias regiões do Brasil. Os genótipos também foram avaliados em ensaios em ambiente controlado, confirmando suas diferenças quanto à tolerância à seca.

Inicialmente, 25 plantas de cada genótipo foram aclimatadas por 50 dias ao cultivo em solução nutritiva. Nesse período, as plantas foram cultivadas em solução

de Clark (CLARK, 1975) adaptada por Locatelli et al., (1984), com pH monitorado diariamente e mantido à 6,0 ($\pm 0,2$). A solução de cultivo teve força iônica inicial equivalente a 25% da força iônica da solução original. Gradualmente, a força iônica da solução foi elevada até 100 %. As trocas de solução foram realizadas semanalmente (PINTO, 2009).

2.2. Definição dos tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi realizado em esquema fatorial, sendo os tratamentos compostos pelos três clones selecionados na etapa anterior e dois potenciais hídricos da solução de cultivo, sendo um controle (-0,15 MPa) e restrição hídrica (-1,00 MPa). A redução do potencial hídrico da solução nutritiva foi realizada indiretamente por meio da redução do potencial osmótico, com a adição de polietilenoglicol (PEG) com massa molecular de 6.000 g mol⁻¹. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso de 2 L contendo uma planta.

2.3 Condução do experimento de cinética de absorção de cálcio

Os procedimentos para determinação dos parâmetros cinéticos de absorção de Ca deste estudo foram realizados conforme metodologia previamente definida por Pinto, (2009), com algumas modificações.

As plantas com aproximadamente 150 dias de idade, e previamente aclimatadas ao cultivo em solução nutritiva, foram transferidas para câmara de crescimento, com temperatura de 25°C (± 2) e intensidade luminosa próxima a 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e permaneceram em solução de igual composição durante seis dias para aclimação. Em seguida foram submetidas à aplicação de PEG nas concentrações de 100,8 e 295,7 g kg⁻¹ de água para obter os potenciais de -0,15 e -1,00 MPa respectivamente (MICHEL; KAUFMANN, 1973). Inicialmente aplicou-se quantidade de PEG suficiente para atingir 25 % do potencial hídrico final de cada tratamento. Durante quatro dias esse valor foi gradualmente elevado até 100 %.

As plantas foram transferidas para solução contendo apenas água deionizada e as doses de PEG referentes a cada tratamento, onde permaneceram por 36 horas. A solução foi novamente substituída e a nova solução, a solução de pré-exaustão,

apresentava as seguintes concentrações de nutrientes: N ($150 \mu\text{mol L}^{-1}$), P ($20 \mu\text{mol L}^{-1}$), K ($70 \mu\text{mol L}^{-1}$), Ca ($60 \mu\text{mol L}^{-1}$), Mg ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$), S ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$) e B ($2 \mu\text{mol L}^{-1}$) com pH ajustado à $6 (\pm 0,02)$. Nesta solução foram novamente adicionadas as doses de PEG, em seus respectivos tratamentos. Após as plantas permanecerem aproximadamente quatro horas na solução de pré-exaustão, a solução foi renovada por outra de igual composição, a solução de depleção. A solução de depleção foi amostrada (10 mL de alíquota) a cada 30 minutos nas duas horas iniciais. Nas 10 horas seguintes, as amostragens foram realizadas a cada 60 minutos. Novas amostragens foram também realizadas às 24, 36, 48 e 50 horas após a coleta da primeira alíquota. Os teores de Ca presentes nas alíquotas coletadas foram determinados por espectroscopia de absorção atômica (Varian Spectra AA 220 FS).

2.4. Determinação dos parâmetros cinéticos de absorção de cálcio

Após o experimento, o sistema radicular das plantas foi acondicionado em potes contendo álcool etílico 25 %. Este material foi armazenado até a avaliação da área de superfície de raízes por meio do Software Safira acoplado a um *scanner*.

A partir da área de superfície de raízes, os teores de Ca em cada tempo de amostragem e os dados relativos ao volume inicial e final da solução de depleção nos vasos, com o uso da aproximação gráfico-matemática por meio do Software Cinética 2.0 (RUIZ; FERNANDES FILHO, 1992), foram obtidos os valores dos parâmetros $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima de absorção) e K_m (constante de Michaelis-Menten, que corresponde a concentração do íon em solução que garante metade da velocidade máxima de absorção) do modelo de Michaelis-Menten. Para determinação dos parâmetros cinéticos de absorção foi utilizado o método proposto por (CLAASSEN; BARBER, 1974), que consiste em quantificar a redução na concentração de nutrientes da solução em função da absorção pelas plantas. Para isso a concentração do íon em uma alíquota amostrada foi multiplicada pelo volume da solução no momento da coleta, resultando na quantidade de íons em solução (Q), que possibilitou obter uma função quantidade (Q) x tempo (t), e a curva de depleção. A partir de uma derivada dessa função, $\delta Q/\delta t$, foi possível calcular o influxo do íon e os parâmetros $V_{m\acute{a}x}$ e K_m . O valor de $C_{m\acute{i}n}$ (concentração mínima, que é a concentração externa em que o influxo se iguala a zero, a concentração mínima necessária para que a raiz comece a absorver o nutriente) foi a menor concentração observada na solução determinada, por análise

gráfica, após verificar-se que não havia redução da concentração do nutriente em solução. Os valores das taxas de influxo para cada nutriente foram calculados com base na quantidade de nutriente absorvida pelas plantas em relação a unidade de área de superfície de raiz fresca, mediante a utilização de aproximação gráfico-matemática.

2.5. Determinação da eficiência de translocação e de uso de cálcio, potencial hídrico foliar e crescimento das plantas

Foi determinado o teor total de Ca na parte aérea e raízes das plantas amostradas no final do experimento. As plantas foram secas em estufas de circulação forçada de ar a 65 °C até atingir peso constante. Em seguida foi obtida a massa de matéria seca de cada compartimento e o material foi moído (moinho do tipo *Wiley* com peneira de 1 mm). As amostras sofreram digestão nitroperclórica. Os teores totais de Ca foram determinados por espectrofotometria de emissão ótica em plasma induzido (PerkinElmer® Optima™ 7300 DV ICP-OES).

O acúmulo de Ca nas plantas e seus componentes (parte aérea e raízes) foi calculado. Também calculou-se a eficiência de translocação (ET) de Ca, pela fórmula: conteúdo do nutriente na parte aérea/conteúdo do nutriente na planta (LI; MCKEAND; ALLEN, 1991), e a eficiência de utilização (EU) de Ca, pela fórmula: massa de matéria seca total²/conteúdo total do nutriente (SIDDIQI; GLASS, 1981).

Ao final do experimento foi determinado potencial hídrico foliar das utilizando a bomba de pressão tipo Scholander.

2.6 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância. Para avaliação das premissas de normalidade dos resíduos e aditividade foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk e de Bartlett. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o software R (R CORE, 2019), e quando houve interação entre os fatores realizou-se o desdobramento.

3. RESULTADOS

3.1. Parâmetros cinéticos da absorção de cálcio

A deficiência hídrica alterou a capacidade de absorção de Ca dos três genótipos de eucalipto avaliados neste trabalho. Os genótipos VM01 (tolerante) e I144 (tolerância média) apresentaram maior capacidade absorção de Ca, comparativamente ao genótipo sensível (clone GG100), em ambos os potenciais hídricos avaliados, notadamente em condições de maior disponibilidade deste nutriente (Figura 1). Essa diferença foi mais marcante entre o clone tolerante à seca (VM01) e o clone sensível à seca (GG100). A maior capacidade de absorção de Ca dos genótipos tolerantes à seca pode ser analisada de forma mais detalhada por meio da comparação dos valores dos parâmetros do modelo cinético de Michaelis-Menten (Tabela 1).

No potencial de -0,15 MPa, maiores valores de $V_{máx}$ (velocidade máxima de absorção do nutriente) foram observados para o clone VM01, seguido pelo clone I144 e GG100. A diferença entre o clone VM01 e os demais aumentou substancialmente no tratamento com menor potencial hídrico (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de $V_{máx}$, K_m e C_{min} de Ca apresentados por três clones de eucalipto cultivados nos potenciais hídrico de -0,15 e -1,0 MPa

| Clone | (-0,15 MPa) | | | (-1,0 MPa) | | |
|-------|---------------------------------------|------------------------|-----------|---------------------------------------|------------------------|-----------|
| | $V_{máx}^{(1)}$ | K_m | C_{min} | $V_{máx}^{(1)}$ | K_m | C_{min} |
| | $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ | $\mu\text{mol L}^{-1}$ | | $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ | $\mu\text{mol L}^{-1}$ | |
| GG100 | 0,0061 | 49,53 | 49,91 | 0,0060 | 46,51 | 46,74 |
| I144 | 0,0091 | 42,17 | 38,84 | 0,0127 | 50,74 | 49,13 |
| VM01 | 0,0140 | 49,04 | 42,06 | 0,0505 | 54,21 | 47,86 |

(1) $V_{máx}$ obtida por meio da superfície específica de raiz

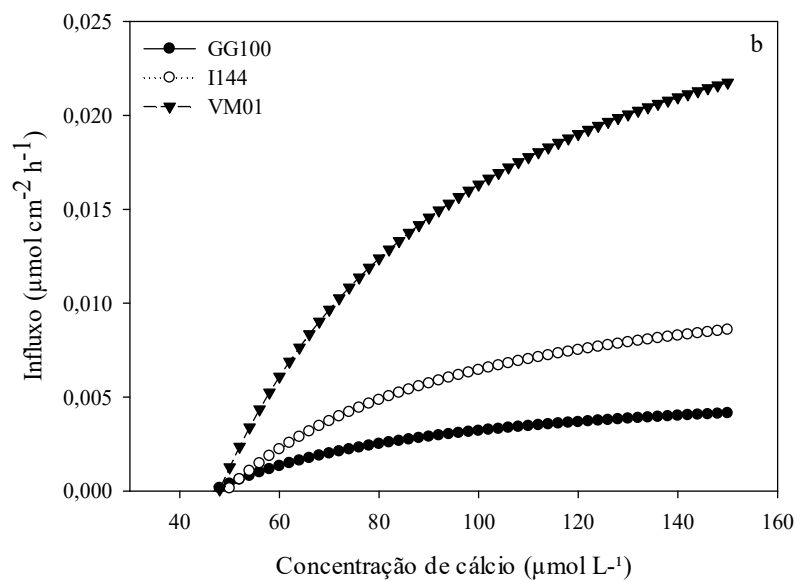
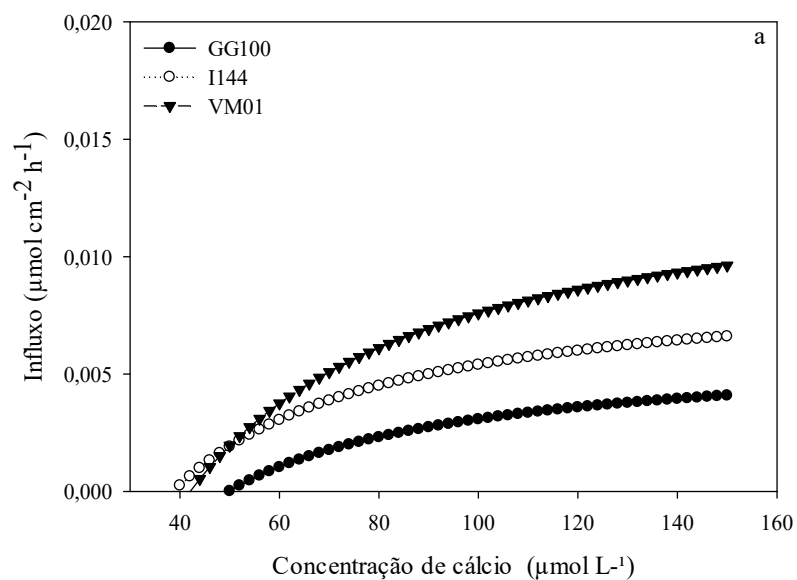


Figura 1. Valores estimados de influxo de Ca para três clones de eucalipto (GG100 [sensível à seca], I144 [tolerância moderada à seca] e VM01 [tolerante à seca]) em dois níveis de potencial de água [-0,15 MPa (a) e -1,0 MPa (b)]. Valores de $V_{máx}$ obtidos por meio da superfície específica de raiz.

3.2. Conteúdo de cálcio nas plantas

Houve diferenças entre os genótipos quanto ao conteúdo de Ca acumulado nas plantas nos dois potenciais hídricos ($p < 0,05$). Os clones VM01 e I144 apresentaram maior teor de Ca que o clone sensível à seca (GG100) quando submetidos a um potencial de -0,15 MPa. No potencial de -1,0 MPa houve maior acúmulo de Ca no clone VM01 em relação aos clones I144, e GG100 (Figura 2). A alteração do potencial hídrico da solução de -0,15 MPa para -1,00 MPa reduziu a capacidade do clone I144 acumular Ca (Figura 2).

Quando as plantas foram submetidas ao potencial de -0,15 MPa, os teores de cálcio nas raízes e na parte aérea apresentaram resultados semelhantes ao conteúdo total de cálcio nas plantas. Entretanto, a redução do potencial para -1,00 MPa resultou em aumento ($p < 0,05$) do conteúdo de Ca nas raízes do clone VM01 (Figura 2).

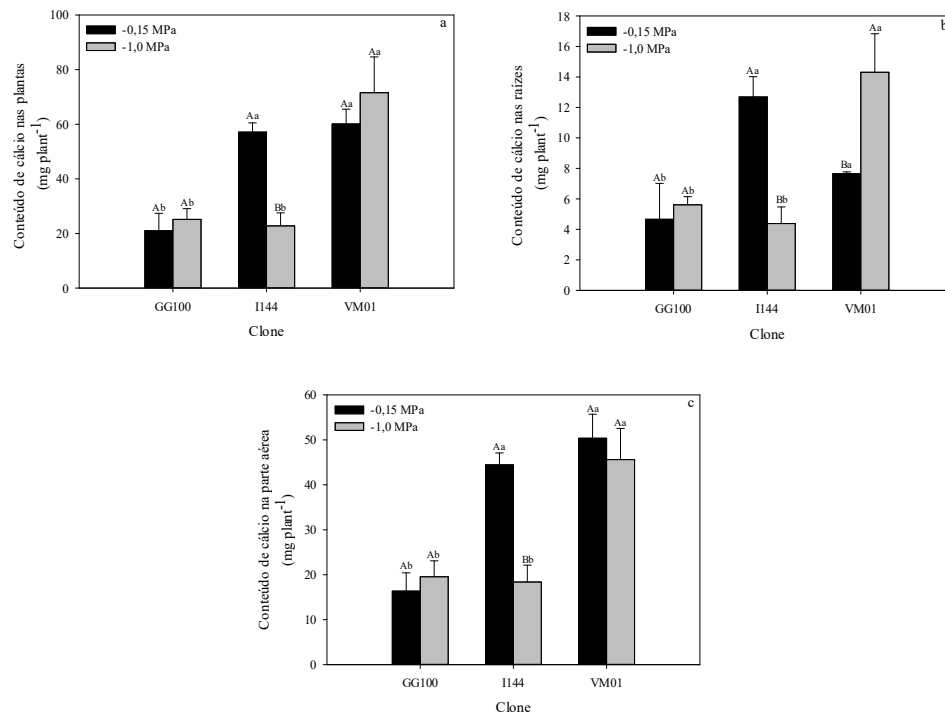


Figura 2. Conteúdo total de cálcio nas plantas (a) e conteúdo de cálcio nas raízes (b) e parte aérea (c) de três clones de eucalipto (GG100 [sensível à seca], I144 [tolerância moderada à seca] e VM01 [tolerante à seca]) cultivados em dois potenciais hídricos (-0,15 MPa e -1,0 MPa). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre os potenciais hídricos, e letras minúsculas indicam diferenças entre os clones ($P < 0,05$). Os dados são apresentados como média e desvio padrão.

3.3. Eficiência de translocação e de uso de cálcio pelas plantas

A redução do potencial hídrico da solução afetou diretamente o índice de eficiência de uso de Ca que foi maior no potencial de -0,15 MPa (Figura 3). A alteração do potencial hídrico e o uso de diferentes clones não resultaram em diferenças na eficiência de translocação de Ca nas plantas (Figura 3).

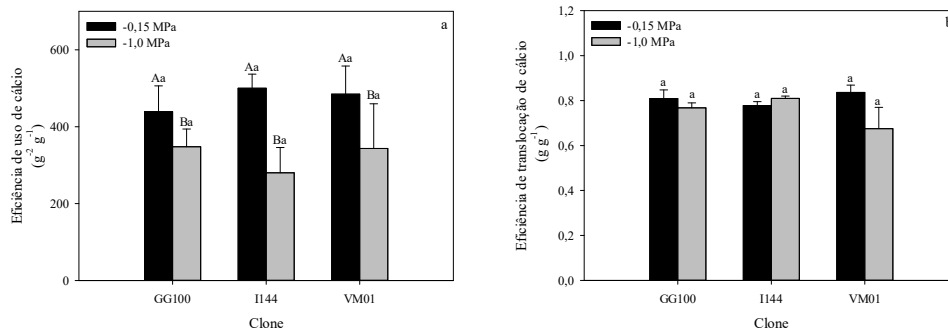


Figura 3. Eficiência de uso de cálcio (a) e eficiência de translocação de cálcio (b) de três clones de eucalipto (GG100 [sensível à seca], I144 tolerância moderada à seca] e VM01 [tolerante à seca]) cultivados em dois potenciais de água (-0,15 MPa e -1,0 MPa). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre os potenciais hídricos, e letras minúsculas indicam diferenças entre os clones ($P < 0,05$). Os dados são apresentados como média e desvio padrão.

3.4. Potencial hídrico foliar e crescimento das plantas

A deficiência hídrica, induzida pela adição de polietilenoglicol em solução afetou diretamente o potencial hídrico foliar das plantas ($p < 0,05$). As plantas apresentaram valores mais negativos de potencial hídrico foliar quando submetidas ao tratamento com -1,0 MPa. Entretanto, não foi possível detectar diferenças entre os clones quanto a essa variável (Figura 4). A relação raiz/parte aérea não foi afetada pela alteração do potencial hídrico e não apresentou diferença entre os clones.

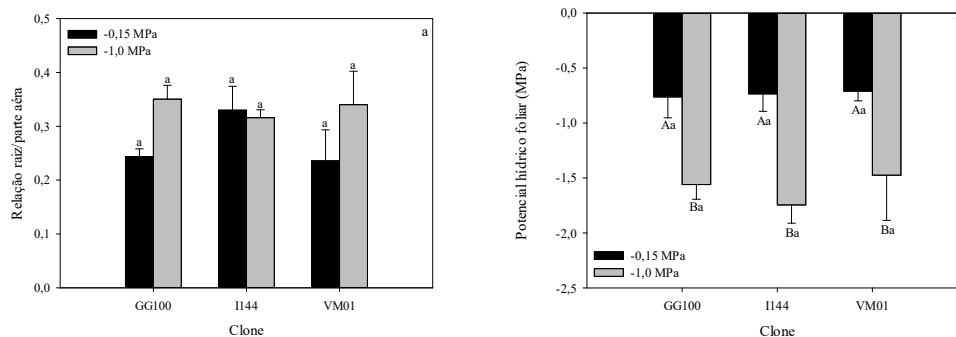


Figura 4. Relação raiz/parte aérea (a) e potencial hídrico da foliar (b) de três clones de eucalipto (GG100 [sensível à seca], I144 [tolerância moderada à seca] e VM01 [tolerante à seca]) cultivados em dois potenciais hídricos (-0,15 MPa e -1,0 MPa). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre os potenciais hídricos, e letras minúsculas indicam diferenças entre os clones ($P < 0,05$). Os dados são apresentados como média e desvio padrão.

O clone I144 teve sua massa seca reduzida no potencial de -1,0 MPa, comparativamente ao tratamento com potencial de -0,15 MPa (Figura 5). Em condições de menor restrição induzida pelo potencial de -0,15 MPa tanto o clone VM01 (tolerante) como o I144 (média tolerância) apresentaram maior massa de matéria seca que o clone sensível (GG100). No tratamento com menor potencial (-1,00 MPa) o clone mais tolerante (VM01) apresentou maior massa seca que os demais. Para massa seca de parte aérea e raiz, foi observado padrão similar. No entanto, no potencial de -1,00 MPa a massa seca de raiz entre os clones foram iguais. O tratamento com potencial de -1,00 MPa afetou a área superficial de raízes no clone VM01. Não houve diferença entre os demais clones, quanto a essa variável.

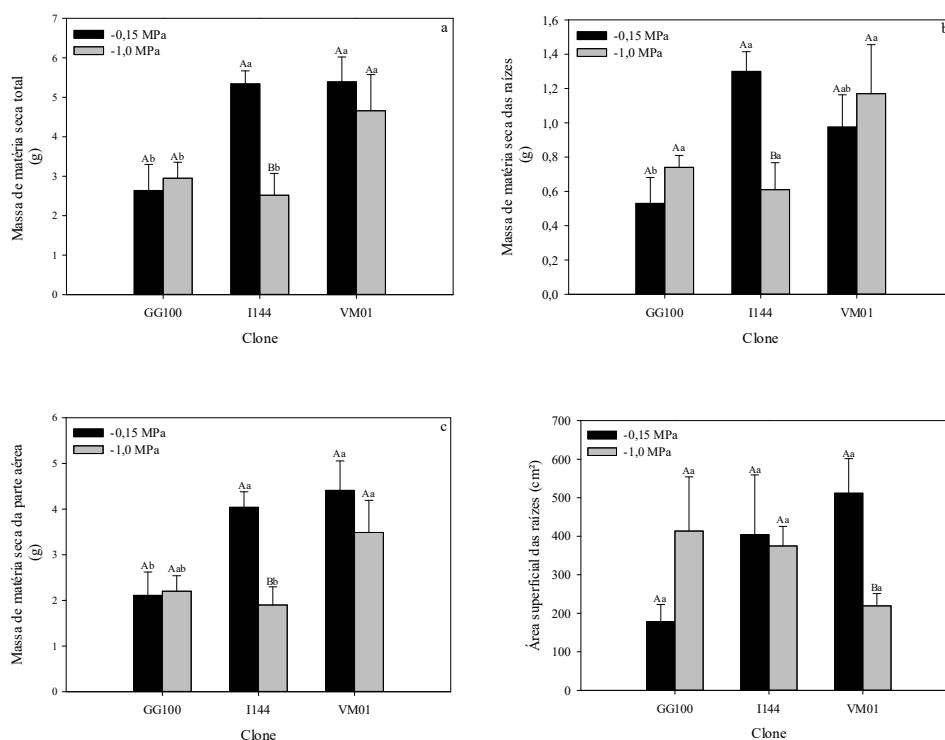


Figura 5. Massa de matéria seca total (a), massa de matéria seca da raiz (b), massa de matéria seca da parte aérea (c) e área superficial das raízes (d) de três clones de eucalipto (GG100 [sensível à seca], I144 [tolerância moderada à seca] e VM01 [tolerante à seca] em dois potenciais de água (-0,15 MPa e -1,0 MPa). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre os potenciais hídricos, e letras minúsculas indicam diferenças entre os clones ($P < 0,05$). Os dados são apresentados como média e desvio padrão.

4. DISCUSSÃO

4.1. Crescimento das plantas

A alteração do potencial hídrico da solução afetou o crescimento dos três genótipos estudados. O estresse afetou menos o clone VM01 confirmando a premissa inicial deste trabalho, de que este genótipo seria o mais tolerante entre os clones selecionados.

O clone I144 apresentou baixo crescimento no tratamento com maior restrição hídrica (Figura 6), o que demonstra que este clone não apresenta alta resistência à seca. Isto já era esperado e ratifica a classificação prévia desse material como um clone

de tolerância intermediária à seca. É importante ponderar, no entanto, que em estudos anteriores o clone I144 teve o crescimento menos afetado pela restrição hídrica em comparação a outros clones (BARROS FILHO, 2014; HODECKER, 2015) e que em condições menos severas de seca, em campo, esse material consegue manter um crescimento satisfatório, diferentemente do que ocorre com clones de maior sensibilidade à seca.

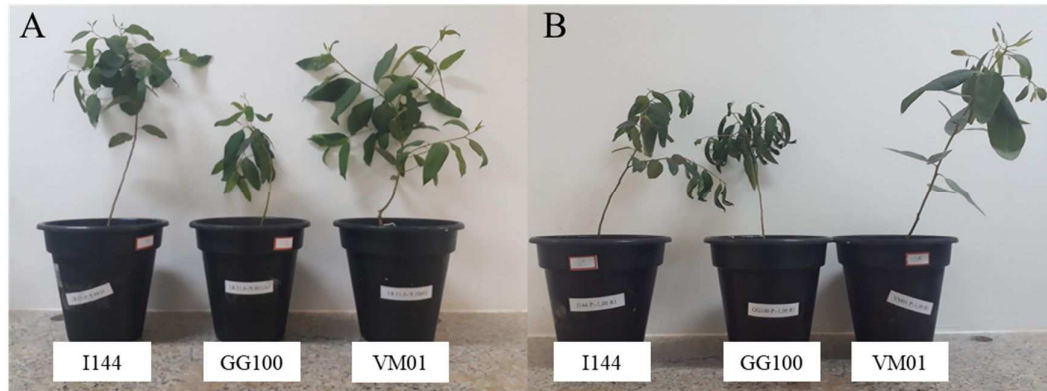


Figura 6. (a) Clones de eucalipto submetidos ao potencial de $-0,15$ MPa; (b) Clones de eucalipto submetidos ao potencial de $-1,0$ MPa.

4.2. Cinética de absorção de Ca

Períodos de restrição hídrica podem afetar a absorção de nutrientes e o estado nutricional das plantas (HE; DIJKSTRA, 2014; HU; SCHMIDHALTER, 2005; SCHLESINGER et al., 2016). No entanto, a maior parte dos estudos que tratam desse tema não permite distinguir os efeitos da restrição hídrica sobre os processos ocorridos no solo (ex. transporte de nutrientes até a superfície das raízes) das alterações na capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas (GESSLER et al., 2004; KREUZWIESER; GESSLER, 2010).

Entre outros aspectos, o estudo das modificações na capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas permite entender como alguns genótipos, mais adaptados à seca, conseguem absorver maiores quantidades de nutrientes quando comparados a genótipos menos adaptados. Este tipo de informação é de importância particular para nutrientes com papel fisiológico importante para mitigar os efeitos negativos da deficiência hídrica nas plantas, como o Ca (EDEL; KUDLA, 2016; GILROY et al., 2014; RANTY et al., 2016; ZHU, 2016), que é regulador de inúmeras respostas das

plantas a estresses abióticos, entre os quais, a deficiência hídrica (DIXIT; JAYABASKARAN, 2013; MCAINSH; PITTMAN, 2009; RANF et al., 2008).

Neste trabalho, a capacidade de absorção de Ca dos três genótipos de eucalipto foi substancialmente alterada pela deficiência hídrica, induzida por estresse osmótico com polietilenoglicol.

A análise das modificações nos parâmetros cinéticos do modelo de Michaelis-Menten, adaptado para avaliação da absorção de nutrientes (BARBER, 1995; EPSTEIN; HAGEN, 1952), permitiu inferir sobre alterações na absorção de Ca de genótipos de eucalipto tolerantes e sensíveis à seca em resposta à disponibilidade hídrica.

Os clones tolerantes à seca (VM01 e I144) apresentaram maiores valores de $V_{máx}$, e menores valores de $C_{mín}$, que o clone sensível (GG100), no tratamento com menor deficiência hídrica (-0,15 Mpa). O mesmo padrão foi observado por (PINTO, 2009), ao avaliar os parâmetros cinéticos de absorção de Ca nos clones GG100, I144 e VM01 sob condições adequadas de disponibilidade hídrica. Isso indica que os genótipos de eucalipto tolerantes à seca são capazes de absorver maiores quantidades de Ca durante os períodos de maior disponibilidade hídrica, tanto quando esse nutriente se encontra em menores quanto em maiores concentrações em solução. Portanto, esses materiais devem iniciar o período seco mais bem nutridos em Ca.

Os clones tolerantes à seca apresentaram diferentes capacidades de absorção de Ca. O clone VM01 (clone mais tolerante à seca) apresentou maior $V_{máx}$ que o clone I144 (tolerância intermediária à seca), em ambos os potenciais hídricos avaliados. Valores elevados de $V_{máx}$ indicam que o material deverá absorver mais Ca em solos naturalmente ricos nesse nutriente ou que receberam esse nutriente em maiores quantidades por meio de corretivos e ou fertilizantes (EPSTEIN; HAGEN, 1952). Por outro lado, o clone I144 apresentou menores valores de $C_{mín}$ em condições de maior disponibilidade hídrica. Menores valores de $C_{mín}$ indicam que, nessas condições, esse clone deve apresentar maior capacidade de adaptar-se ao baixo suprimento de Ca (BARBER, 1995).

Com o aumento da restrição hídrica a capacidade dos clones VM01 e I144 absorverem baixas concentrações de Ca em solução foi reduzida. Por outro lado, no tratamento com deficiência hídrica, esses materiais apresentaram maiores valores de $V_{máx}$. Isso sugere, que, sob restrição hídrica os materiais tolerantes à seca são capazes de absorver mais Ca, quando a concentração desse nutriente aumenta em solução. Ao

avaliar a cinética de absorção de nitrato em cafeeiros adultos Pinto, (2016), encontrou valores de $V_{máx}$ maiores quando as plantas não estavam sob restrição hídrica, o que foi observado para o clone sensível, no entanto, o oposto do observado para os clones tolerantes à seca. A propósito, o valor de $V_{máx}$ desses materiais aumentou aproximadamente 30 e 70 %, para I144 e VM01, respectivamente, enquanto para o GG100 o valor de $V_{máx}$ reduziu 20 % no tratamento com maior restrição hídrica, comparativamente ao tratamento menos restritivo.

Os resultados aqui observados, fortalecem os resultados encontrados por Barros Filho, (2014), que indica maior capacidade de absorção de Ca por plantas tolerantes à seca, comparativamente às sensíveis.

4.3. Conteúdo de Ca e eficiência de uso de Ca

O maior conteúdo de Ca na parte aérea e raízes dos clones tolerantes à seca, comparativamente ao clone sensível, em ambos os potenciais hídricos avaliados neste trabalho confirmou as respostas obtidas no estudo de cinética de absorção de Ca. É necessário, no entanto, ponderar que alterações no crescimento radicular dos diferentes materiais poderiam levar à redução da capacidade de absorção de Ca de genótipos que absorvem maiores quantidades desse nutriente por unidade de superfície de raízes.

Os resultados obtidos neste trabalho complementam observações anteriores de Barros Filho, (2014). No referido trabalho, o autor observou que a adição de Ca reduziu os efeitos da restrição hídrica no clone tolerante (I144), e que a tolerância ao estresse hídrico, comumente observada em campo para o clone I144, possa estar ligada à maior absorção e acúmulo de Ca.

A maior absorção e conteúdo de Ca nas plantas VM01 em relação aos demais materiais avaliados, notadamente em condições mais severas de limitação hídrica, fortalece as evidências apontadas por Barros Filho, (2014).

Apesar de absorver mais Ca (Figura 2), os clones tolerantes à seca apresentaram a mesma eficiência de utilização deste nutriente na condição de menor limitação hídrica (Figura 3). O padrão oposto de EU foi observado por Pinto et al., (2011), ao avaliar a eficiência de absorção de Ca nos clones GG100, I144 e VM01 sob condições adequadas de disponibilidade hídrica. Sob condições de maior restrição hídrica os clones tolerantes continuam a absorver mais Ca que o clone sensível, e apresentar a mesma EU do clone sensível.

Diversas características fisiológicas e morfológicas (como maior regulação da abertura e fechamento de estômatos e alteração da área foliar específica), conferem às plantas maior tolerância à seca (BATTIE-LACLAU et al., 2014; GRANDA et al., 2014). Muitas dessas características têm relacionamento direto ou indireto com a nutrição. Embora a nutrição não seja a única condição que garante às plantas maior tolerância à seca, mais estudos sobre as implicações de alterações nutricionais na tolerância de plantas à seca são necessários. Quanto aos efeitos do Ca na tolerância à seca por plantas de eucalipto, é ainda necessário avaliar se os padrões aqui observados são também obtidos em estudos com um maior número de genótipos. Outro ponto a ser investigado é se a superexpressão de transportadores desse nutriente tem fortes efeitos na tolerância de plantas à seca. Pesquisas nesta área permitirão compreender melhor as respostas do eucalipto e de outras plantas à seca, bem como deverão auxiliar os programas de melhoramento de plantas.

5. CONCLUSÕES

Genótipos de eucalipto tolerantes à seca podem absorver mais cálcio que aqueles mais sensíveis durante períodos de menor limitação hídrica. Isso permite que esses genótipos iniciem o período seco mais bem nutridos em Ca.

Genótipos de eucalipto tolerantes à seca podem absorver mais cálcio que aqueles mais sensíveis em condições de menor disponibilidade hídrica, notadamente quando a disponibilidade de Ca é mais elevada.

A eficiência de uso do Ca absorvido reduz na condição de menor disponibilidade hídrica, evidenciando o aumento da demanda por esse nutriente em condições de estresse.

6. REFERÊNCIAS

- BARBER, S. A. **Soil nutrient bioavailability: A mechanistic approach**. 2.ed ed. New York: [s.n.].
- BARROS FILHO, N. F. DE. **Discriminação isotópica do ¹³C e nutrição com cálcio e boro em clones de eucalipto submetidos ao déficit hídrico**. [s.l.] Federal University of viçosa, 2014.
- BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress [version 1; referees: 3 approved]. **F1000Research**, v. 5, n. 0, p. 1–10, 2016.
- BATTIE-LACLAU, P. et al. Effects of potassium and sodium supply on drought-adaptive mechanisms in *Eucalyptus grandis* plantations. **New Phytologist**, v. 203, n. 2, p. 401–413, 1 jul. 2014.
- BOSE, J. et al. Calcium efflux systems in stress signaling and adaptation in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 1–17, 2011.
- CARVALHO, M. C. S.; VAN RAIJ, B. Calcium sulphate, phosphogypsum and calcium carbonate in the amelioration of acid subsoils for root growth. **Plant and Soil**, v. 192, n. 1, p. 37–48, 1997.
- CCST; MOHC. **RISCOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NO BRASIL**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.ccst.inpe.br>. Acesso em: 11 nov. 2020.
- CLAASSEN, N.; BARBER, S. A. A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants. **Plant Physiology**, v. 54, n. 4, p. 564–568, 1 out. 1974.
- CLARK, R. B. Characterization of Phosphatase of Intact Maize Roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 458–460, 1975.
- COUSSON, A. Involvement of phospholipase C-independent calcium-mediated abscisic acid signalling during Arabidopsis response to drought. **Biologia Plantarum**, v. 53, n. 1, p. 53–62, 2009.
- DIXIT, A.; JAYABASKARAN, C. Calcium Signaling During Abiotic Stress in Plants: Roles of Calcium Dependent Protein Kinases. In: HEMANTARANJAN, A. (Ed.). . **Advances in Plant Physiology**. 14. ed. [s.l.] Scientific Publishers, 2013. p. 348–369.
- DODD, A. N.; KUDLA, J.; SANDERS, D. The Language of Calcium Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 593–620, 2 jun. 2010.
- DU, N. et al. Morphological and physiological responses of vitex negundo L. var. heterophylla (Franch.) Rehd. to drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, n. 5, p. 839–848, 2010.
- EDEL, K. H.; KUDLA, J. Integration of calcium and ABA signaling. **Current**

Opinion in Plant Biology, v. 33, p. 83–91, 1 out. 2016.

EPSTEIN, E.; HAGEN, C. E. A KINETIC STUDY OF THE ABSORPTION OF ALKALI CATIONS BY BARLEY ROOTS. **Plant Physiology**, v. 27, n. 3, p. 457–474, 1 jul. 1952.

FENG, X. et al. K⁺ Uptake, H⁺-ATPase pumping activity and Ca²⁺ efflux mechanism are involved in drought tolerance of barley. **Environmental and Experimental Botany**, v. 129, p. 57–66, 2016.

GESSLER, A. et al. Water Shortage Affects the Water and Nitrogen Balance in Central European Beech Forests. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 289–298, 14 maio 2004.

GESSLER, A.; SCHAUB, M.; MCDOWELL, N. G. The role of nutrients in drought-induced tree mortality and recovery. **New Phytologist**, v. 214, n. 2, p. 513–520, abr. 2017.

GILROY, S. et al. **A tidal wave of signals: Calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling** *Trends in Plant Science* Elsevier Ltd, , 1 out. 2014. Disponível em: <<http://www.cell.com/article/S1360138514001745/fulltext>>. Acesso em: 11 nov. 2020

GRANDA, V. et al. Physiological and biochemical responses to severe drought stress of nine Eucalyptus globulus clones: A multivariate approach. **Tree Physiology**, v. 34, n. 7, p. 778–786, 2014.

HE, M.; DIJKSTRA, F. A. Drought effect on plant nitrogen and phosphorus: A meta-analysis. **New Phytologist**, v. 204, n. 4, p. 924–931, 1 dez. 2014.

HEPLER, P. K.; WAYNE, R. O. Calcium and Plant Development. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 36, n. 1, p. 397–439, 28 jun. 1985.

HODECKER, B. E. R. **Comparison of drought stress responses of tolerant and sensitive Eucalypt genotypes**. [s.l.] Federal University of viçosa, 2015.

HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. **Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants** *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* John Wiley & Sons, Ltd, , 1 ago. 2005. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jpln.200420516>>. Acesso em: 11 nov. 2020

IBÁ - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório 2019 Report 2019 Relatório**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>>.

IPCC. **Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability**. Cambridge, UK, : [s.n.].

IPCC. **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability** *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Geneva, Switzerland: [s.n.].

KREUZWIESER, J.; GESSLER, A. Global climate change and tree nutrition:

- influence of water availability. **Tree Physiology**, v. 30, n. 9, p. 1221–1234, 1 set. 2010.
- LI, B.; MCKEAND, S. E.; ALLEN, H. L. Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings. **Society of American Foresters**, v. 37, n. 2, p. 613–626, 1991.
- LOCATELLI, M. et al. Efeito de formas de nitrogênio sobre o crescimento e composição mineral de mudas de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 8, p. 53–69, 1984.
- MAK, M. et al. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, p. 1–12, 2014.
- MCAINSH, M. R.; PITTMAN, J. K. Shaping the calcium signature. **New Phytologist**, v. 181, n. 2, p. 275–294, jan. 2009.
- MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. **Plant Physiology**, v. 51, n. 5, p. 914–916, 1 maio 1973.
- PINTO, S. I. C. **Cinética de absorção conjunta de fósforo, potássio, cálcio e magnésio e eficiência nutricional de macronutrientes de clones de eucalipto**. [s.l.] Federal University of Lavras, 2009.
- PINTO, S. I. DO C. et al. **EFICIÊNCIA NUTRICIONAL DE CLONES DE EUCALIPTO NA FASE DE MUDAS CULTIVADOS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA (1)**. [s.l.: s.n.].
- PINTO, W. S. **Parâmetros cinéticos da absorção de nitrato e fotossíntese em cafeeiros adultos sob estresse hídrico**. [s.l.] Federal University of viçosa, 2016.
- R CORE, T. R: **A Language and Environment for Statistical Computing**., 2019.
- RANF, S. et al. Loss of the vacuolar cation channel, AtTPC1, does not impair Ca^{2+} signals induced by abiotic and biotic stresses. **Plant Journal**, v. 53, n. 2, p. 287–299, 2008.
- RANTY, B. et al. Calcium Sensors as Key Hubs in Plant Responses to Biotic and Abiotic Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. MAR2016, p. 327, 16 mar. 2016.
- RUIZ, H. A.; FERNANDES FILHO, E. I. **Cinética: software para estimar as constantes $V_{máx}$ e K_m da equação de Michaelis-Menten**XX **Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**, 1992.
- SCHLESINGER, W. H. et al. Forest biogeochemistry in response to drought. **Global Change Biology**, v. 22, n. 7, p. 2318–2328, 1 jul. 2016.
- SHAINBERG, I. et al. Use of Gypsum on Soils: A Review. In: [s.l.] Springer, New York, NY, 1989. p. 1–111.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiology**, v. 115, n. 2, p. 327–334, 1997.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 289–302, 21 jan. 1981.

SUMNER, M. E. et al. Amelioration of an Acid Soil Profile through Deep Liming and Surface Application of Gypsum. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, n. 5, p. 1254–1258, 1 set. 1986.

WANG, S. et al. Experience of inundation or drought alters the responses of plants to subsequent water conditions. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 1, p. 176–187, 1 jan. 2017.

ZANDALINAS, S. I. et al. **Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures** *Physiologia Plantarum* Blackwell Publishing Ltd, , 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28042678/>>. Acesso em: 11 nov. 2020

ZHU, J.-K. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. **Cell**, v. 167, n. 2, p. 313–324, out. 2016.